

Katarzyna Zygmunt ^{1(B,D,E,F)}, Lucyna Zygmunt ^{2(B,D,E,F)}

Znaczenie metaloproteinaz i ich inhibitorów tkankowych w procesie nowotworowym

The importance of metalloproteinases and their tissue inhibitors in the neoplastic process

¹ Uniwersytet Rzeszowski, Pozawydziałowy Zamiejscowy Instytut Biotechnologii Stosowanej
i Nauk Podstawowych

² Uniwersytet Przyrodniczy, Wydział Medycyny Weterynaryjnej

STRESZCZENIE

Metaloproteinazy (MMPs) są enzymami proteolitycznymi mającymi zdolność degradacji macierzy zewnątrzkomórkowej. Uczestniczą w licznych procesach fizjologicznych, jednak najważniejsze ich funkcje związane są z patogenezą nowotworów. W badaniach potwierdzono, że na rozwój komórek nowotworowych znaczący wpływ ma zachwianie równowagi między MMPs i TIMPs (tkankowe inhibitory metaloproteinaz). MMPs i TIMPs wpływają na wzrost, migrację i inwazję komórek nowotworowych. Odpowiadają również za powstawanie odległych przerzutów. Informacje te potwierdzono, dokonując oceny analizy stężenia MMPs i TIMPs w osoczu chorych na glezaki mózgu, nowotwory płuc, piersi, raka szyjki macicy i nowotwory przewodu pokarmowego (żołądka, trzustki i jelita grubego). Poznanie mechanizmów działania metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej i ich inhibitorów może mieć istotne znaczenie w opracowaniu nowych metod leczenia. Badania nad MMPs i TIMPs stwarzają szansę poznania skutecznej drogi walki z nowotworem. W pracy omówiono funkcję i podstawowe właściwości MMPs i TIMPs w rozwoju nowotworów raka jelita grubego, żołądka, trzustki, płuc oraz glezaka.

ABSTRACT

Matrix metalloproteinases (MMPs) are proteolytic enzymes. They have the ability to degrade the extracellular matrix. They also participate in many physiological processes however, but the most important functions of enzymes are related to the pathogenesis of cancer. Research have confirmed that imbalance between the MMPs and TIMPs has significant influence on tumor growth. Matrix metalloproteinases and their inhibitors have influence on growth, migration and invasion tumor cells. They are also responsible for the formation of distant metastases. This has been demonstrated on the basis of the analysis concentration of MMPs and TIMPs in the plasma of patients with gliomas, lung cancer, breast cancer, cervical cancer and gastrointestinal cancers. Understanding the mechanisms of action matrix metalloproteinases and their inhibitors may have a significant impact on new treatments. Research of MMPs and TIMPs are extremely important because they create opportunity to find effective way to battle with cancer. The present study aimed at discussing basic properties of MMPs and TIMPs in cancers progression: colorectal cancer, gastric cancer, pancreatic cancer, lung cancer and gliomas.

Udział współautorów / Participation of co-authors: A – przygotowanie projektu badawczego/ preparation of a research project; B – zbieranie danych / collection of data; C – analiza statystyczna / statistical analysis; D – interpretacja danych / interpretation of data; E – przygotowanie manuskryptu / preparation of a manuscript; F – opracowanie piśmiennictwa / working out the literature; G – pozyskanie funduszy / obtaining funds

Słowa kluczowe: metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej, tkankowe inhibitory macierzy zewnątrzkomórkowej, nowotwór raka jelita grubego, żołądka, trzustki płuc, glejaki

Wstęp

Metaloproteinazy – MMP (ang. *metalloproteinases*) zwane również matryksynami lub kolagenozami to wielodomenowe enzymy proteolityczne, zawierające jony cynku w centrum aktywnym [1, 2]. Wydzielane są w postaci proenzymu (pro-MMPs) i ulegają aktywacji pozakomórkowo lub wiążą się z błonami komórkowymi [2, 3]. Pierwszą poznaną MMP była kolagenoza 1, odkryta w ogonie kijanki. Jak do tej pory, u kręgowców poznano 25 MMPs, z czego 23 występują u człowieka [12]. Wydzielane są przez większość prawidłowo rozwijających się komórek, m.in.: fibroblasty, mastocyty, osteoblasty, komórki dendrytyczne, karetynocyty, jak również komórki nacieku zapalnego, makrofagi, limfocyty, czy monocyty [3, 4, 5, 6]. W zależności od swoistości substratowej i różnic w strukturze czwartorzędowej łańcucha białkowego metaloproteinazy możemy podzielić na sześć grup: kolagenazy, żelatynazy, stromielizyny, matrylizyny, błonowe MMP oraz MMP niesklasyfikowane [4, 8]. MMPs biorą udział w wielu procesach fizjologicznych, z czego najważniejsze, to: przebudowa endometrium macicy w czasie cyklu miesięczkowego, ciąży i porodu [10], rozwój kości i zębów [11], rekonstrukcja ścian komórkowych i mięśnia sercowego [9], regulacja procesów immunologicznych [8]. Najistotniejszą rolę przypisuje się im w procesach patologicznych. Wykorzystując swą zdolność do degradacji błony podstawowej naczynia i macierzy zewnątrzkomórkowej ułatwiają wzrost, migrację i inwazję komórkom nowotworowym, powstawanie przerzutów oraz angiogenezę w obrębie guza [10].

Kluczową funkcję w utrzymaniu równowagi pomiędzy produkcją i degradacją białek macierzy zewnątrzkomórkowej wraz z metaloproteinazami odgrywają ich tkankowe inhibitory (TIMP). Zachwianie równowagi obu tych procesów prowadzi do nieprawidłowej przebudowy tkanki, a w konsekwencji powstania nowotworu [1].

Tkankowe inhibitory metaloproteinaz – TIMP (ang. *tissue inhibitor of metalloproteinases*) – są to endogenne białka o masie cząsteczkowej 21–34 kDa [3, 10]. U kręgowców dotychczas zidentyfikowano 4 inhibitory tkankowe, oznaczone jako TIMP-1 do TIMP-4. U człowieka szczególnie istotny jest TIMP-1, który jest rozpuszczalną glikoproteiną i TIMP-2 – rozpuszczalne białko [1, 3]. Za wytwarzanie endogennych inhibitorów tkankowych odpowiedzialne są te same komórki co w przypadku metaloproteinaz. TIMP obecne są w przestrzeniach międzykomórkowych, w osoczu krwi i w innych płynach ustrojowych [10, 15]. Pełnią wiele ważnych funkcji biologicznych, do których należą m.in.: redukcja wzrostu guza oraz regulacja procesu apoptozy z udziałem TIMP-1, TIMP-2 i TIMP-3. Tkankowy inhibi-

Key words: matrix metalloproteinases, tissue inhibitor of metalloproteinases, colorectal cancer, gastric cancer, pancreatic cancer, lung cancer, gliomas

Introduction

Matrix metalloproteinases – MMP also called matrixins or collagenase are multidomain proteolytic enzymes which contain zinc ions in the active center [1, 2]. They are secreted as proenzymes (pro-MMPs) and require extracellular activation or to bind to cell membranes [2, 3]. Collagenase 1 was the first known MMP which was discovered in the tail of tadpoles. To date, 25 different MMPs have been identified in vertebrates, of which 23 are found in humans [12]. They are secreted by most of properly developing cells including fibroblasts, mast cells, osteoblasts, dendritic cells, keratinocytes as well as inflammatory cells, macrophages, lymphocytes, or monocytes [3, 4, 5, 6]. On the basis of substrate specificity and differences in quaternary structure protein chain, metalloproteinases can be divided into six groups: collagenases, gelatinases, stromelysins, matrilysins, membrane MMPs and MMPs unclassified [4, 8]. MMPs are involved in many physiological processes including: reconstruction of the uterine endometrium during the menstrual cycle, pregnancy and childbirth [10], bones and teeth development [11], cell wall and myocardium reconstruction [9], the regulation of immunological processes [8]. MMPs also play an important role in pathological processes. Taking advantage of their ability to degrade the basement membrane of vessel and extracellular matrix, they facilitate cancer cells growth, migration and invasion, creation of metastasis and angiogenesis in the tumor [10].

Metalloproteinases and their tissue inhibitors (TIMP) play the key role in maintaining the balance between production and degradation extracellular matrix proteins. An imbalance of both processes leads to abnormal tissue remodeling and consequently a cancer [1].

Tissue inhibitor of metalloproteinases are the endogenous proteins of 21–34 kDa molecular mass. To date, 4 different tissue inhibitors (TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3 and TIMP-4) have been identified in vertebrates. Particularly significant in human body are: TIMP-1 a soluble glycoprotein and TIMP-2 a soluble protein [1, 3]. The same cells are responsible for the production of metalloproteinases and their endogenous tissue inhibitors. TIMPs are present in intercellular spaces, in blood plasma and in other body fluids [10, 15]. They have many important biological functions, including: reducing the growth of a tumor and the regulation of apoptosis involving TIMP-1, TIMP-2 and TIMP-3. Tissue inhibitor of metalloproteinase-3 has a pro-apoptotic activity, while TIMP-1 and TIMP-2 have anti-apoptotic activity [4]. Reduced expression of TIMPs leads to tumor cell growth and invasiveness of tumor growth, whereas

tor mataloproteinaz - 3 ma aktywność proapoptotyczną, natomiast TIMP-1 i TIMP-2 działają antyapoptycznie [4]. Obniżona ekspresja TIMPs prowadzi do wzrostu inwazyjności komórek nowotworowych i wzrostu guza, podczas gdy nadekspresja redukuje tę zdolność oraz minimalizuje niebezpieczeństwo przerzutów. Działanie antyangiogenne TIMP-1 i TIMP-2 polega na agregacji białek zewnątrzkomórkowych, hamowaniu migracji i proliferacji komórek śródbłonna oraz regulacji procesów wzrostu, różnicowania i apoptozy.

Celem pracy było wykazanie znaczenia metaloproteinaz zewnątrzkomórkowych (MMP) oraz ich inhibitorów tkankowych (TIMP) w rozwoju nowotworów: raka jelita grubego, żołądka, trzustki, płuc oraz glejaków.

1. Udział MMPs i TIMPs w rozwoju nowotworu jelita grubego

Rak jelita grubego, mimo ciągłego postępu w medycynie, jest jedną z głównych przyczyn zgonów [2]. Z danych epidemiologicznych wynika, że Polska należy do krajów o średniej zachorowalności na ten nowotwór, jednak wzrasta ona każdego roku o ok. 2,5%, a wyniki leczenia choroby w kraju należą do najgorszych w Europie [2, 16]. Przyczynami powstawania nowotworu są: predyspozycje genetyczne, czynniki środowiskowe, brak wysiłku fizycznego, dieta bogata w krwiste mięso i tłuszcze zwierzęce, a uboga w witaminy zawarte w surowych warzywach i owocach [17]. Rozwój nowotworu jelita grubego jest procesem wieloetapowym. Obejmuje on powstanie małego ogniska dysplastycznego w nabłonku, stopniowy wzrost tej zmiany do gruczolaka, który z czasem nabiera cech inwazyjnych raka *in situ* [2]. Znaczną rolę w procesie karcynogenezy nowotworu odgrywają mataloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej (MMP) i ich tkankowe inhibitory (TIMP). Szczególną rolę przypisuje się enzymowi MMP-9, który poprzez degradację kolagenu IV błony podstawowej naczyń i macierzy zewnątrzkomórkowej, ułatwia wzrost, migrację i inwazję komórek nowotworowych oraz naciekanie i tworzenie przerzutów do wątroby. Wykazano powiązanie między nadekspresją MMP-9 a stopniem zaawansowania i agresją choroby. Aktywność proteolityczna MMP-9 może być regulowana przez TIMP-1, który wiąże się z enzymem w stosunku 1:1 [2]. Zaburzenie równowagi pomiędzy aktywnością MMP-9 a ekspresją TIMP-1 jest czynnikiem rozwoju złośliwych nowotworów przewodu pokarmowego [18]. Wykazano, że w komórkach nowotworowych poziom MMP-9 i TIMP-1 jest znacznie większy niż w komórkach prawidłowych. Dowiedziono również zależność pomiędzy stężeniem MMP-9 a naciekaniami nerwów oraz między stężeniem TIMP-1 a zróżnicowaniem histologicznym guza, jak również między wartością współczynnika MMP-9/TIMP-1 a rozpoznaniem histologicznym raka. W badaniach klinicznych potwierdzono przydatność

overexpression of this capability reduces and minimizes the risk of metastasis. Antiangiogenic activity TIMP-1 and TIMP-2 rely on the aggregation of extracellular protein, the inhibition of migration and proliferation of endothelial cells and regulation of growth, differentiation and apoptosis. The aim of the study was to demonstrate the importance of extracellular matrix metalloproteinases (MMPs) and their tissue inhibitors (TIMP) in cancers development: carcinoma of the colon, stomach, pancreas, lung and glioblastomas.

1. The role of MMPs and TIMPs in colorectal cancer development

Despite the medical advances made during this period, colorectal cancer is one of the leading causes of cancer-related deaths [2]. The epidemiological data suggest that Poland belong to countries of average morbidity on this type of cancer. Unfortunately the morbidity increases each year by 2.5% and results of treatment of a the disease in our country are the worst in Europe [2, 16]. Causes of cancer are: genetic predisposition, environmental factors, lack of exercise, a diet rich in bloody meat and animal fat and low in vitamins in raw vegetables and fruits [17]. The development of colorectal cancer is a multistep process which includes: formation of small focus dysplastic epithelium, a gradual increase in the change to the adenoma, which later takes on the characteristics of invasive carcinoma *in situ* [2]. A significant role in tumor carcinogenesis play matrix metalloproteinases (MMPs) and their tissue inhibitors (TIMP). A special role is assigned to the enzyme MMP-9 which facilitates the growth, migration and invasion of tumor cells and invasion and metastasis to the liver by degradation of the collagen-IV basement vessels membrane and extracellular matrix. Demonstrated a connection between overexpression of MMP-9 and aggression and disease severity. The proteolytic activity of MMP-9 may be controlled by TIMP-1, which binds to the enzyme in a 1:1 ratio [2]. The imbalance between the activity of MMP-9 and expression of TIMP-1, is a factor in gastrointestinal malignancies development [18]. It has been shown that in cancer cells, the level of MMP-9 and TIMP-1 is significantly higher than in normal cells. Also demonstrated association between concentration of MMP-9 and infiltration of nerves and between the concentration of TIMP-1 and tumor histological differentiation, as well as between ratio of MMP-9/TIMP-1 and histological cancer diagnosis. Usefulness of both proteins, as markers to evaluate invasiveness of colorectal cancer and the risk of metastasis formation, has been confirmed In clinical studies [2].

2. The role of MMPs and TIMPs in stomach cancer development

Stomach cancer accounts for 95% of malignant cancers. In 2000. in Poland, it was the second leading cause of death in men [19]. Most often it is a glandular cancer, rarely

wykorzystania obu białek jako markerów do oceny inwazyjności nowotworu jelita grubego oraz ryzyka powstawania przerzutów [2].

2. Udział MMPs i TIMPs w rozwoju nowotworu żołądka

Rak żołądka stanowi 95% nowotworów złośliwych. W 2000 r. w Polsce był drugą u mężczyzn przyczyną zgonów [19]. Najczęściej jest to nowotwór gruczołowy, rzadziej lity, a najrzadziej spotykany jest nowotwór włóknisty. Jego wieloczynnikowa etiologia nie jest do końca poznana. Wiadomo że wiąże się ona ze sposobem żywienia, stosowanymi używkami i pracą zawodową. Rozwojowi choroby sprzyja saletra, aflatoksyny, dieta uboga w świeże owoce i warzywa, a bogata w produkty zawierające znaczne ilości nitrozamin i soli kuchennej [21, 22]. Objawy są mało charakterystyczne i nieswoiste, dlatego często przypominają objawy choroby wrzodowej. Aktualnie nie ma markerów biochemicznych, służących do wykrywania raka żołądka [21], jednak coraz częściej potwierdza się znaczenie metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej i ich inhibitorów w rozwoju tego nowotworu [19]. W licznych badaniach wykazano wzmożoną ekspresję MMPs. Udowodniono również, że ekspresja metaloproteinaz wzrasta wraz ze stopniem zaawansowania guza. Nadekspresja MMP-2, MMP-3 (stromielinaza 1), MMP-7 (matrylizyna 1), MMP-9, MMP-13 (kolagenaza 3), M1-MMP oraz proenzymów MMP-2 i MMP-9, powoduje krótszą przeżywalność chorych. Ekspresja MMP-2, MMP-9 i M1-MMP wpływa na występowanie przerzutów lub ich brak w węzłach chłonnych, natomiast nadekspresja MMP-7, MMP-9, MMP-13 powiązana jest z bardziej złośliwym przebiegiem procesu nowotworowego. Stężenie MMP-9 w osoczu osób chorych jest o wiele wyższe niż w osoczu osób zdrowych, przez co wpływa na typ nowotworu [32]. U pacjentów z przerzutami odległymi i słabo zróżnicowanym guzem ekspresja MMP-9 jest intensywniejsza niż u chorych bez przerzutów i z dobrze rozwiniętym guzem. Poza metaloproteinazami istotną rolę w rozwoju raka żołądka wykazują inhibitory MMPs, m.in. TIMP-1. Zwiększona ekspresja TIMP-1 owocuje obecnością przerzutów w węzłach chłonnych i wzrostem śmiertelności chorych [31]. Zachowanie równowagi między MMPs a TIMPs ma znaczący wpływ na prawidłowe funkcjonowanie organizmu. We wczesnym stadium nowotworu komórki nie wykazują ekspresji TIMP-1, ale w momencie kiedy nowotwór rozwinię się, MMP-9 ulega nadekspresji i aktywuje TIMP-1. W zaawansowanym stadium choroby TIMP-1 blokuje ekspresję MMP-9 [19]. Z całą pewnością konieczne są dalsze badania dotyczące roli metaloproteinaz i ich inhibitorów w progresji i inwazji raka żołądka, gdyż mogą mieć kluczowe znaczenie w diagnostyce i prognozowaniu przeżycia chorych.

solid tumor, and the least common is a fibrous tumor. The multifactorial etiology is not fully known. We know that it is related to the method of feeding, used stimulants and professional life. Nitrate, aflatoxin, a diet low in fresh fruits and vegetables, and rich in foods that contain significant amounts of nitrosamines and salt, favor the development of the disease [21, 22]. The symptoms are not very typical and non-specific, they often resemble symptoms of peptic ulcer disease. Currently there is no biochemical markers for the detection of gastric cancer [21], but importance of matrix metalloproteinases and their inhibitors is increasingly being emphasized [19]. Numerous studies have demonstrated increased expression of MMPs. It was also found that the expression of metalloproteinases is increased with the severity of the tumor advancement. Overexpression of MMP-2, MMP-3 (stromelysin 1), MMP-7 (matrilysin 1), MMP-9, MMP-13 (collagen 3), M1-MMP and proenzymes: MMP-2 and MMP-9 results in a shorter survival of patients. Expression of MMP-2, MMP-9 and MMP-M1 have influence on the occurrence of metastasis or lack of them in the lymph nodes, while overexpression of MMP-7, MMP-9, MMP-13 is associated with the more malignant development of the cancer. The concentration of MMP-9 in blood plasma of sick people is much higher than in the plasma of healthy individuals, which affects the type of cancer [32]. In patients with distant metastases and poorly differentiated tumors, expression of MMP-9 is more intense than in patients without metastases and a well-developed tumors. Besides metalloproteinases in the development of stomach cancer, an important role play inhibitors of MMPs - including TIMP-1. Increased expression of TIMP-1 results in the presence of metastases in the lymph nodes and increased mortality of patients [31]. The balance between MMPs and TIMPs has a significant impact on the proper functioning of the body. In the early stage of the tumor, cells do not express TIMP-1, but at a time when cancer develops, MMP-9 is overexpressed and activated TIMP-1. In the advanced stage of the disease TIMP-1 blocks the expression of MMP-9 [19]. Certainly, further researches on the role of matrix metalloproteinases and their inhibitors in the progression and invasion of gastric cancer are needed, cause they can have crucial importance in the diagnosis and prognosis of patients survival.

3. The role of MMPs and TIMPs in pancreatic cancer development

Pancreatic cancer is a disease with a high mortality rate and an aggressive course, it is characteristic of women, especially in old age. Global analysis of the mortality of people with this cancer shows upward trend [23]. The main factor responsible for the development of pancreatic cancer is an imbalance between metalloproteinases and their inhibitors. The study showed a higher expression of MMP-2, MT1-MMP and MT2-MMP in patients

3. Udział MMPs i TIMPs w rozwoju nowotworu trzustki

Rak trzustki to choroba o wysokim wskaźniku śmiertelności i agresywnym przebiegu, charakterystyczna dla kobiet, szczególnie w starszym wieku. Światowa analiza umieralności ludzi na ten nowotwór wykazuje tendencję wzrostową [23]. Głównym czynnikiem odpowiedzialnym za rozwój raka trzustki jest zaburzenie równowagi pomiędzy metaloproteinazami i ich inhibitorami. Badania wykazały wyższą ekspresję MMP-2, MT1-MMP i MT2-MMP u chorych na ten nowotwór [24]. Ponadto zaobserwowano współzależności pomiędzy aktywnością MT-MMP i MMP-2 a wzmożonym włóknieniem wokół guza. Ponadto wykazano zależność między podwyższoną ekspresją MMP-1 oraz MMP-7 w komórkach nowotworowych a czasem przeżycia pacjenta. U chorych wykazano również większą ekspresję MMP-7, MMP-8, MMP-9, MMP-11, TIMP-1, TIMP-3 niż u zdrowych ludzi [24, 25]. Wzrastająca aktywność MMP-2 i MMP-9 w surowicy jest ważnym markerem w monitorowaniu chorych [33]. Metaloproteinazy mają również znaczenie w samej diagnostyce nowotworu, dlatego bardzo ważne jest prowadzenie badań w tym kierunku [34]. Konieczność ta wynika przede wszystkim z faktu, że mimo dużego postępu w rozwoju onkologii, na przestrzeni ostatnich lat wciąż nie ma możliwości wykrycia raka trzustki w jego wczesnych stadiach [38].

4. Udział MMPs i TIMPs w rozwoju nowotworu płuc

Rak płuc jest często występującym złośliwym nowotworem w Polsce, który u 80% pacjentów przyjmuje postać niedrobnokomórkową (NDRP) [35]. Zachorowalność obserwuje się między 55 a 70 rokiem życia [36]. Wśród czynników prowadzących do powstawania nowotworu wymienia się: palenie tytoniu, zapalne zmiany włókniste płuc, praca w powietrzu zawierającym azbest, uran [38]. Choroba często przebiega w sposób bezobjawowy, a aż 30–40% chorych, z powodu przerzutów, nie kwalifikuje się do operacyjnego usunięcia guza [36, 37, 38]. Angiogeneza nowotworowa rozpoczyna się w momencie, gdy komórki raka zaczynają uwalniać czynniki inicjujące ten proces, prowadząc do zwiększenia ekspresji MMPs i degradacji składników macierzy zewnątrzkomórkowej. Wykazano, że podwyższone stężenie MMP-9 w surowicy chorych na NRDP nie ma wpływu na wielkość guza, ani występowanie przerzutów w węzłach chłonnych, natomiast odpowiada za przerzuty odległe. U chorych na raka nieresekcyjnego zaobserwowano wyższe stężenie MMPs niż u pacjentów kwalifikujących się do leczenia operacyjnego [37]. Stężenie MMP-2 w surowicy chorych na NRDP ma mniejszą wartość diagnostyczną niż stężenie MMP-9. Nie wykazuje ono wpływu na wielkość guza, tworzenie przerzutów, czy stopień zaawansowania choroby [37].

with this cancer [24]. In addition, the correlation was observed between the activity of MT-MMP and MMP-2, and increased fibrosis around the tumor. Furthermore, the relationship was shown between increased expression of MMP-1 and MMP-7 in cancer cells, and the survival of the patient. The higher expression of MMP-7, MMP-8, MMP-9, MMP-11, TIMP-1, TIMP-3 was shown in the patients, than in healthy people [24, 25]. Increasing activity of MMP-2 and MMP-9 in the blood serum is an important marker in the patients monitoring [33]. Metalloproteinases are also relevant in the diagnosis of cancer, so it is important to conduct research in this direction [34]. The need for this is mainly due to the fact that, despite much progress in the development of oncology, in recent years there is still no ability to detect pancreatic cancer in its early stages [38].

4. The role of MMPs and TIMPs in lung cancer development

Lung cancer is a malignant tumor which often occurs in Poland and takes the form non-small-cell lung carcinoma (NSCLC) of 80% of patients [35]. Morbidity is observed between 55 and 70 years of age [36]. Among the factors which lead to tumor formation are mentioned: smoking, inflammatory lung fibrotic changes, work in air containing asbestos, uranium [38]. The disorder often runs in an asymptomatic or more than 30-40% patients do not qualify for surgical removal of the tumor because of metastases [36, 37, 38]. Tumor angiogenesis begins when cancer cells begin to release factors that initiate the process leading to increased expression of MMPs and degradation of extracellular matrix components. Has been shown that elevated levels of MMP-9 in sera of patients with NSCLC has no effect on tumor size, and does not metastases in lymph nodes but is responsible for distant metastases. In patients with unresectable cancer was observed higher levels of MMPs compared to patients eligible for surgical treatment [37]. The concentration of MMP-2 in sera of patients with NSCLC has a lower diagnostic value than the concentration of MMP-9. It has no effect on tumor size, metastasis, and disease severity [37].

5. The role of MMPs and TIMPs in glioma development

Malignant gliomas belongs to the tumors of central nervous system with the worst prognosis and represent 60% of all malignant brain [26, 27]. In Poland, is observed each year about 600 new cases [26, 27]. The brain tumor progression is gradual. The process depends on the appearance of tumor cells with genetic disorders within gene TP53. Mutation within gene TP53 leads to proliferation and detection of cells and their adaptation to the adverse conditions of the tumor microenvironment such as induction of apoptosis and inhibition of angiogenesis [27]. In view of the fact that the gliomas are well

5. Udział MMPs i TIMPs w rozwoju glejaka

Glejaki mózgu zaliczane są do najgorzej rokujących złośliwych nowotworów centralnego układu nerwowego i stanowią 60% wszystkich nowotworów mózgowych [26, 27]. W Polsce obserwuje się rocznie ok. 600 nowych przypadków zachorowań [27, 28]. Proces progresji nowotworów mózgu jest stopniowy i zależy od pojawienia się komórek nowotworowych z zaburzeniami genetycznymi w obrębie genu TP53. Mutacja w obrębie genu TP53 prowadzi do proliferacji i detekcji komórek oraz ich przystosowania się do niekorzystnych warunków mikrośrodowiska guza, tj. hamowanie apoptozy i indukcja angiogenezy [27]. W związku z tym, że glejaki są bardzo dobrze unaczynione, pierwszym etapem angiogenezy jest zwiększenie przepuszczalności naczyń krwionośnych. Następnie dochodzi do proteolizy błon podstawnych naczyń i macierzy międzykomórkowej (ECM, *extracellular matrix*), proliferacji i migracji ECMs. W końcowym etapie nowo powstałe naczynia krwionośne stabilizowane są pod wpływem endogennych inhibitorów proteolizy [28]. Istotną rolę w angiogenezie glejaków przypisuje się macierzy zewnątrzkomórkowej, otaczającej guz. Metaloproteinazy ośrodkowego układu nerwowego różnią się składem chemicznym od pozostałych form MMP, zlokalizowanych w innych tkankach. Wykazano, że guzy zdolne są do wzmożonej ekspresji MMPs w czasie trwania procesu nowotworowego [26]. W rozwoju glejaków stwierdzono udział MMP-2, MMP-9 i MMP-14. Nadekspresja wymienionych enzymów proteolitycznych powiązana jest ze stopniem złośliwości nowotworów. Prowadzi ona do degradacji składników ECM, co skutkuje przenikaniem komórek śródbłonna naczyniowego w głąb zrębu nowotworu i tworzeniem nowych naczyń krwionośnych. Ponadto metaloproteinazy, zwiększając dostępność proangiogennych czynników wzrostu, stymulują proliferację komórek śródbłonna naczyniowego [29].

Podsumowanie

Powyższa analiza wskazuje na istotne znaczenie MMP w procesach fizjologicznych organizmu. Powiązanie funkcji enzymów z procesami apoptozy, migracji komórek, czy angiogenezą, prowadzących często do powstania procesów patologicznych, pozwala na wykorzystanie metaloproteinaz jako markerów nowotworowych. Znaleźnienie odpowiednich inhibitorów dla MMPs oraz poznanie mechanizmu ich działania pozwoli na wykorzystanie tych markerów do poszukiwania nowych strategii terapeutycznego leczenia.

vascularized, the first step of angiogenesis is to increase vascular permeability. This is followed by proteolysis of vascular basement membrane and extracellular matrix (ECM, extracellular matrix), proliferation and migration of ECMs. In the final step the newly formed blood vessels are stabilized under the influence of endogenous inhibitors of proteolysis [28]. Important role in glioma angiogenesis attributed to the extracellular matrix surrounding the tumor. Metalloproteinases central nervous system differ in chemical composition from other forms of MMPs, which are located in other tissues. It has been shown that tumors are capable of enhanced expression of MMPs during tumor process [26]. In the development of gliomas were involved MMP-2, MMP-9 and MMP-14. Overexpression of these proteolytic enzymes is associated with the degree of malignancy. It leads to the degradation of ECM components, resulting in infiltration of vascular endothelial cells into the tumor stroma and the formation of new blood vessels. Furthermore metalloproteinases, increasing the availability of angiogenic growth factors stimulate the proliferation of vascular endothelial cells [29].

Summary

The above analysis shows the importance of MMPs in the physiological processes of the body. Linking enzyme function with processes of apoptosis, cell migration or angiogenesis, which often lead to the formation of pathological processes, allows the use of matrix metalloproteinases as a tumor marker. Finding a suitable inhibitors of MMPs and understanding of mechanisms of action will use these markers to identify new therapeutic strategy for treatment.

Piśmiennictwo / References

1. Wasielewska A, Taranta-Janusz K, Zoch-Zwierz W. i WSP. Rola metaloproteinaz (MMP) i ich tkankowych inhibitorów (TIMP) w nefrologii. *Prz. Lekarski*. 2009;66;9:485.
2. Groblewska M, Mroczko B, Szmitkowski M. Rola wybranych metaloproteinaz i ich inhibitorów w rozwoju raka jelita grubego. *Post. Hig. Med. Dosw.* 2010;64;22–30.
3. Lipka D, Boratyński J. Metaloproteinazy MMP. *Struktura i funkcja*. *Chir. Pol.* 2005;7;2:75–79.
4. Kwiatkowski P, Godlewski J, Śliwińska-Jewsiewicka A. i WSP. Rola metaloproteina macierzy zewnątrz komórkowej w procesie inwazji nowotworu. *Pol. Ann. Med.* 2008;15;1:43–50.
5. Ardi V. C, Kupriyanova T, Deryugina E. I. i WSP. Human neutrophils uniquely release TIMP-free MMP-9 to provide a potent catalytic stimulator of angiogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2007;104:20262–20267.
6. Chandler S, Coates R, Gearing A. Matrix metalloproteinases degrade myelin basic protein. *Neurosci. Lett.* 1995;201:223–226.
7. Kołomecki K. Hamowanie funkcji metaloproteinaz – możliwości zastosowania klinicznego. *Onkol. Pol.* 2000;3,3:163–167.
8. Kołaczowska E. Metaloproteinaza 9 (MMP-9) jako szczególny przedstawiciel metaloproteinaz macierzy zewnątrz komórkowej: rola w napływie i apoptozie neutrofilów w trakcie reakcji zapalnej. *Post. Biol. Kom.* 2010;37;2:472.
9. Musiał K, Makulska I, Zwolińska D. Metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej i ich tkankowe inhibitory u dzieci i młodych dorosłych przewlekle hemodializowanych – doniesienie wstępne. *Pol. Merk. Lek.* 2009;26,290:154.
10. Łukaszewicz M, Mroczko B, Szmitkowski M. Rola metaloproteinaz i ich inhibitorów w raku trzustki. *Post. Hig. Med. Dosw.* 2008;62:143.
11. Holmbeck K, Bianco P, Pidoux I. i WSP. The metalloproteinase MT1-MMP is required for normal development and maintenance of osteocyte processes in bone. *J. Cell Sci.* 2005;118:147.
12. Kowalski M, Walczak A, Majsterek I. Metaloproteinazy macierzowe (MMPs) – nowoczesne markery molekularne do prognozowania i terapii jaskry otwartego kąta. *Post. Hig. Med. Dosw.* 2008;62:584–585.
13. Murray G. I, Duncan M. E, O’Neil P. i WSP. Matrix metalloproteinase-1 is associated with poor prognosis in oesophageal cancer. *J. Pathol.* 1998;185:256.
14. Nagase H. Activation mechanisms of matrix metalloproteinases. *Biol. Chem.* 1997;378,151.
15. Żebrowska A, Bogdańska M, Waszczykowska E. Metaloproteinazy i adamalizyny w patomechanizmie pemfigoidu. *Post. Dermat i Alerg.* 2005;22;6:285.
16. Wojtuś S, Gil J, Koktyś R. i WSP. Endoskopowa polipektomia w profilaktyce raka jelita grubego. *Pol. Merk. Lek.* 2007;22;131:449–452.
17. Nowacki M. P, Nowakowska D, Rutkowski A. Rak jelita grubego. 197.
18. Vihinen P, Kahari V. M. Matrix metalloproteinases in cancer: prognostic markers and therapeutic targets. *Int. J. Cancer*, 2002;99:157–166.
19. Łukaszewicz-Zajac M, Mroczko B, Szmitkowski M. Znaczenie metaloproteinaz oraz ich inhibitorów w raku żołądka. *Post. Hig. Med. Dosw.* 2009;63:258–265.
20. Murray G, Duncan M, Arbuckle E. i WSP. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in gastric cancer. *PubMed Central* 1998;6:791–797.
21. Kokot F, Chwalińska-Sadowska H, Droszcz W. i WSP. *Choroby wewnętrzne*. W: Kokot F. (red.). *Choroby wewnętrzne, podręcznik akademicki* T.1, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2006;331–336.
22. Swora E, Stankowiak-Kulpa H, Marcinkowska E. i WSP. Kliniczne aspekty diagnostyki zakażenia *Helicobacter pylori*. *Nowiny Lekarskie* 2009, 78;3–4,228–230.
23. Lowenfels A.B, Maisonneuve P. *Epidemiology and risk factors for pancreatic cancer*. *Best. Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* 2006;20:197–209.
24. Łukaszewicz-Zajac M, Mroczko B, Szmitkowski M. Rola metaloproteinaz i ich inhibitorów w raku trzustki. *Post. Hig. Med. Dosw.* 2008;62:141–147.
25. Zucker S, Hymowitz M, Conner C. i WSP. Measurement of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in blood and tissues. *Clinical and experimental applications*. *Ann. NYAcad. Sci.* 1999;878:212–227.
26. Zadka Ł. Czynniki wpływające na stopień proliferacji złośliwych glejaków mózgu. *Neuroskop.* 2008;10:106–109.
27. Biernat W. Molekularne podłoże procesu progresji złośliwości glejaków rozlanych ośrodkowego układu nerwowego. *Onkol. Pol.* 1999;2;2:113–119.
28. Wojtukiewicz M. Z, Sierko E, Rybałtowski M. Leczenia antyangiogenne chorych na pierwotne nowotwory ośrodkowego układu nerwowego. *Onkol. Prak. Klin.* 2009;5:48–55.
29. Egeblad M, Werb Z. New functions for matrix metalloproteinases in cancer progression. *Nat Rev.* 2002;2;3:161–173.
30. Łapka A, Drąg J, Goździalska A. i WSP. Metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej w glejakach. *Postępy Psych. i Neuro.* 2008;17;3:207–211.
31. Joo Y. E., Seo K. S, Kim H. S. i WSP. Expression of tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs) in gastric cancer. *Dig. Dis. Sci.* 2000; 45:114–121.
32. Sier C. F. M, Kubben F. J. G. M, Ganesh S. i WSP. Tissue levels of matrix metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 are related to the overall survival of patients with gastric carcinoma. *British Journal of Cancer* 1996;74:413–417.
33. Iki K, Takeo T, Kubozoe T. i WSP. Detection of serum MMPs in tumor-bearing hamsters. *J. Hepatobiliary Pancreat. Surg.* 2002;9:478–484.
34. Yokoyama M, Ochi K, Ichimura M. i WSP. Matrix metalloproteinase-2 in pancreatic juice for diagnosis of pancreatic cancer. *Pancreas*, 2002;24:344–347.
35. Jassem J, Drosik K, Dziadziuszko R. i WSP. Systemowe leczenie niedrobnokomórkowego raka płuca i złośliwego

- międzybłoniaka opłucnej: uaktualnione zalecenia oparte na wynikach wiarygodnych badań klinicznych. Nowotwory. Journal of Oncology 2007;57;6:71–78.*
36. Rzyman W. *Rak płuca*. Via Medica 2008;2;6:407–417.
37. Koczyńska E, Dancewicz M, Kowalewski J. i WSP. *Stężenie Metaloproteinazy 9 i 2 w surowicy chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca*. Pol. Merk. Lek. 2007;132:539.
38. Kokot F, Chwalińska-Sadowska H, Droszcz W. i WSP. *Choroby wewnętrzne*. W: Kokot F. (red.). *Choroby wewnętrzne, podręcznik akademicki T.1*, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2006;253–258.
39. Jackson Ch. *Matrix metalloproteinases and angiogenesis*. Curr. Opin Nephrol. Hypertens., 2002;11:295–299.

Adres do korespondencji / Mailing address:

Katarzyna Zygmunt
Uniwersytet Rzeszowski,
Pozawydziałowy Zamiejscowy Instytut
Biotechnologii Stosowanej i Nauk Podstawowych