

Metaloproteinazy – znaczenie w procesie nowotworzenia, diagnostyce i terapii

Metalloproteinases – importance in cancer development, diagnostics and therapy

JACEK PIETRZAK i MAREK MIROWSKI

Zakład Biochemii Farmaceutycznej i Diagnostyki Molekularnej z Pracownią Diagnostyki Molekularnej i Farmakogenomiki, Międzywydziałowa Katedra Diagnostyki Laboratoryjnej i Molekularnej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Streszczenie

Metaloproteinazy (ang. *matrix metalloproteinases* – MMP) są enzymami proteolitycznymi, których aktywność jest uwarunkowana obecnością jonu cynku w miejscu aktywnym, są szeroko rozpowszechnioną rodziną proteaz zapewniających zachowanie homeostazy w organizmach zwierzęcych. W organizmie człowieka pełnią wiele istotnych funkcji uczestnicząc w procesie embriogenezy, jak również w powstawaniu komórek krwi czy kościotworzeniu. Główną, jak się wydawało na początku badań nad tą grupą enzymów, rolę było trawienie macierzy zewnątrzkomórkowej. Jednak, z biegiem lat okazało się, że metaloproteinazy odgrywają ważną rolę w regulacji biologii komórki, w szczególności komórki nowotworowej. Badania potwierdziły udział metaloproteinaz we wszystkich etapach procesu kancerogenezy. Na obecną chwilę, dostępne są liczne doniesienia na temat częstego występowania różnych MMP w różnych nowotworach. Jednak, dwie z nich – MMP–2 i MMP–9, należące do grupy żelatynaz, wydają się być najbardziej rozpowszechnione. Potwierdzone zostało także, że wyższe ich stężenia świadczą zwykle o gorszej prognozie dla pacjenta. Dlatego też, mogą one okazać się cenną wskazówką prognostyczną dla klinicyстів. Zwrócono też uwagę na potencjalną możliwość wykorzystania metaloproteinaz w terapii celowanej. Przemysł farmaceutyczny próbuje od dawna wprowadzić na rynek inhibitory metaloproteinaz jako możliwe

Adres do korespondencji: prof. dr hab. n. farm. Marek Mirowski; Zakład Biochemii Farmaceutycznej i Diagnostyki Molekularnej z Pracownią Diagnostyki Molekularnej i Farmakogenomiki, Międzywydziałowa Katedra Diagnostyki Laboratoryjnej i Molekularnej; Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny w Łodzi; ul. Muszyńskiego 1; 90–151 Łódź; tel./fax: +48 42 677 91 26; e-mail: marek.mirowski@umed.lodz.pl

terapeutyki w chorobie nowotworowej, widząc w nich potencjał, który jednak ogranicza się do wczesnych stadiów zaawansowania. Po początkowych niepowodzeniach, związanych przede wszystkim z niską selektywnością, zaczyna się poszukiwać coraz bardziej nowoczesnych metod opartych o technologię przeciwciał monoklonalnych czy liposomalnego systemu dostarczania leków, dając, tym samym, możliwość leczenia nie powodującego tak drastycznych skutków ubocznych, jak konwencjonalna terapia.

Słowa kluczowe: metaloproteinazy, kancerogeneza, diagnostyka nowotworowa, terapia w chorobie nowotworowej.

Abstract

Metalloproteinases (MMP) are proteolytic enzymes whose activity is determined by the presence of zinc ion in the active site and are a widely distributed family of protease to ensure the preservation of homeostasis in animals. In human body they also play many important functions participating in the process of embryogenesis as well as in the formation of blood cells or bone formation. The main role, as it seemed at the beginning research on this group of enzymes, was to digest the extracellular matrix. However, over the years, it turned out that metalloproteinases are important part in the regulation of cell biology, in particular a tumor cell. Studies have confirmed the participation of metalloproteinases in all stages of the process of carcinogenesis. At the moment, there are numerous reports of available of various MMPs in different tumors. However, two of these MMP-2 and MMP-9 belonging to the gelatinases seem to be the most common. It has been confirmed also that higher levels usually indicate a worse prognosis for the patient. Therefore, they may prove to be a valuable prognostic indication for clinicians. Attention was paid to the potential use of matrix metalloproteinases in targeted therapy. The pharmaceutical industry has long been trying to launch metalloproteinase inhibitors as possible therapeutics in cancer, seeing in them a potential that, however, is limited to the early stages of development. After initial setbacks related primarily to the low selectivity is used at once more modern methods as monoclonal antibodies or liposomal drug delivery system. Thus, giving the possibility of treatment that does not cause so enormous side effects as

conventional therapy.

Key words: metalloproteinases, carcinogenesis, cancer diagnostics, cancer therapy.

Wstęp

Metaloproteinazy (ang. *matrix metalloproteinases* – MMP) należą do rodziny proteinaz, których aktywność jest uwarunkowana obecnością jonu cynku w miejscu katalitycznym. Do tej rodziny, oprócz metaloproteinaz, należą także takie enzymy, jak astacyny, bakteryjne serralizyny, białka ADAM (ang. *a disintegrin and metalloproteinase*) oraz białka ADAM wraz z motywem trombospondyny [1]. Główną, lecz nie jedyną, funkcją tej grupy enzymów jest trawienie macierzy zewnątrzkomórkowej ECM (ang. *extracellular matrix*) i błony podstawnej. Odnotowywany jest coraz większy udział metaloproteinaz w uwalnianiu różnych cytokin, czynników wzrostu, które mogą wpływać na biologię komórki nowotworowej [2]. W organizmie człowieka wykryto 23 różne metaloproteiny. Jako pierwszą odkryto metaloproteinazę 1 w ogonie kijanki. Gdy udowodniono istnienie identycznej substancji w ciele człowieka, rozpoczęły się intensywne badania nad tymi molekułami. Metaloproteiny wykazują podobny ogólny plan budowy, na który składają się trzy domeny: prodomena, domena katalityczna oraz domena hemopeksyny, która nie występuje w metaloproteinazach 7, 23, 26 [3]. Enzymy te wydzielane są w postaci nieaktywnych proenzymów. Brak aktywności uzależniony jest od połączenia prodomeny z domeną katalityczną, na której to znajduje się miejsce aktywne enzymu. To zespolenie następuje przez związanie jonu cynku w miejscu katalitycznym z resztą cysteinową prodomeny. Dopiero usunięcie prodomeny odsłania miejsce aktywne na enzymie i umożliwia degradację macierzy zewnątrzkomórkowej. Natomiast, domena hemopeksynowa bierze udział w rozpoznawaniu i trawieniu odpowiednich frakcji kolagenu, a także w wiązaniu tkankowego inhibitora metaloproteinaz [4]. MMP podzielono na sześć grup ze względu na ich budowę, a także rodzaj substratu, który trawią (Tabela 1).

Tabela 1. Podział metaloproteinaz [2, 5–7].

Table 1. The division of metalloproteinases [2, 5–7].

GRUPA	MMP	Nazwa zwyczajowa	Lokalizacja chromosomowa	Trawiony substrat
Kolagenazy	MMP-1	Kolagenaza-1	11q22-q23	Kolagen I, II, III, VII, VIII, X, żelatyna
	MMP-8	Kolagenaza-2	11q21-q22	Kolagen I, II, III, VII, VIII, X, żelatyna, agrekan
	MMP-13	Kolagenaza-3	11q22.3	Kolagen I, II, III, IV, IX, X, XIV, żelatyna
Żelatynazy	MMP-2	Żelatynaza A	16q13	Żelatyna, kolagen I, II, III, IV, VII, X
	MMP-9	Żelatynaza B	20q11.2-q13.1	Żelatyna, kolagen IV, V
Stromielizyny	MMP-3	Stromielizyna-1	11q23	Kolagen II, IV, IX, X, XI, żelatyna
	MMP-10	Stromielizyna-2	11q22.3-q23	Kolagen IV, laminina, fibronektyna, elastyna
	MMP-11	Stromielizyna-3	22q11.2	Kolagen IV, laminina, fibronektyna, agrekan
Matrelizyny	MMP-7	Matrylizyna-1	11q21-q22	Fibronektyna, laminina, kolagen IV, żelatyna
	MMP-26	Matrylizyna-2	11p15.4	Fibrynogen, fibronektyna, żelatyna

Tabela 1. (kontynuacja)

Table 1. (continuing)

GRUPA	MMP	Nazwa zwyczajowa	Lokalizacja chromosomowa	Trawiony substrat
Błonowe MMP	MMP-14	MT 1-MMP	14q11-q12	Żelatyna, fibronektyna, laminina
	MMP-15	MT 2-MMP	16q12.2-q21	Żelatyna, fibronektyna, laminina
	MMP-16	MT 3-MMP	8q21	Żelatyna, fibronektyna, laminina
	MMP-17	MT 4-MMP	12q24	Fibrynogem, fibryna
	MMP-24	MT 5-MMP	20q11.2	Żelatyna, fibronektyna, laminina
	MMP25	MT 6-MMP	16p3.3	Żelatyna
Inne	MMP-12	Metaloeleasta makrofagów	11q22.2-q22.3	Elastyna, fibronektyna, kolagen IV
	MMP-19	RASI	12q14	Agrekan, elastyna, fibrylina, kolagen IV,
	MMP-20	Enamelizyna	• 11q22.2	Agrekan
	MMP-21	XMMP	1p36.3	Agrekan
	MMP-23	Brak	• 1p36.33	Żelatyna, kazeina, fibronektyna
	MMP-27 MMP-28	CMMP Epilizyna	11q22.2 • 17q12	Substrat nieznan Substrat nieznan

Regulacja aktywności metaloproteinaz

Ze względu na wpływ metaloproteinaz na homeostazę tkanek, a także na funkcjonowanie układu immunologicznego, ich poziom jest bardzo ściśle kontrolowany. Regulacja ich aktywności prowadzona jest na wielu poziomach takich, jak ekspresja genów, ilość enzymów uwalnianych z komórki, stopień aktywacji proenzymów i w końcu, ilość wydzielonych specyficznych tkankowych inhibitorów metaloproteinaz lub niespecyficznych takich, jak $\alpha 2$ -makroglobulina [6, 8]. Większość metaloproteinaz w fizjologicznych warunkach ma bardzo niskie poziomy ekspresji swoich genów [2]. Uważa się, że niektóre cytokiny czy czynniki wzrostu mogą powodować wzrost stężenia wielu MMP, a glikokortykosteroidy i retinoidy mogą hamować ich wytwarzanie. Wydzielanie proenzymów do środowiska jest uwarunkowane aktywacją receptorów na powierzchni komórki, z której są uwalniane. Receptory te rozpoznają typ substancji otaczającej komórkę, powodując wydzielanie specyficznych proenzymów, które to wiążą się na powierzchni komórki umożliwiając miejscowe niszczenie macierzy zewnątrzkomórkowej. Uaktywnienie proenzymów może zachodzić na trzy sposoby. Pierwszym jest usunięcie prodomeny przez inną endoproteinazę. Drugim – allosteryczna zmiana konformacji prodomeny, trzecim, wykorzystywanym również w badaniach naukowych, jest chemiczna zmiana wiązania między prodomeną a jodem cynku. W organizmie człowieka taka aktywacja może zachodzić pod wpływem reaktywnych form tlenu, natomiast w testach stosowanych *in vitro* pod wpływem jonów rtęci czy siarczany dodecylu sodu (ang. *sodium dodecyl sulfate* – SDS) [9]. Rozregulowanie kontroli aktywności metaloproteinaz wywołuje różne zaburzenia w obróbie macierzy zewnątrzkomórkowej, co może skutkować niekontrolowanym wzrostem komórek, nadmierną migracją czy wywołaniem stanu zapalnego. Dlatego też, aktywne formy enzymów podlegają również kontroli na drodze inhibicji. Do tej pory poznano szereg inhibitorów metaloproteinaz, do których należą m.in. $\alpha 2$ -makroglobulina i odpowiednie tkankowe inhibitory metaloproteinaz (ang. *tissue inhibitor of metalloproteinases* – TIMP). Występują cztery rodzaje TIMP-ów. Nie jest do końca poznana ich specyficzność, ale uważa się, że inhibitory nr 2, 3, 4 oddziałują na metaloproteinazę 2, a inhibitory nr 1 i 3 na metaloproteinazę 9, ale każdy z nich

wykazuje szerokie spektrum działania. Często wspomina się również, iż rolę TIMP nie jest jedynie inhibicja MMP, ale także wpływanie na funkcjonowanie komórek [10].

Metaloproteinazy – rola w nowotworzeniu

Jako, że funkcją metaloproteinaz jest trawienie ECM, od samego początku badań nad nimi, próbowano udowodnić ich rolę w patogenezie powstawania nowotworów, a szczególnie w inwazji komórek nowotworowych i w procesie tworzenia przerzutów. W badaniach na modelach zwierzęcych zaobserwowano, że inhibicja tych enzymów powoduje zahamowanie potencjału inwazyjnego nowotworu. Szybko zaczęto przeprowadzać badania na pacjentach. Okazało się jednak, że próby te nie przynoszą oczekiwanych rezultatów, które mogłyby prowadzić do wydłużenia czasu przeżycia chorych. Sugerowano, że degradacja ECM nie jest jedyną, ani nawet główną, funkcją metaloproteinaz. Rola tych enzymów polega w znaczącej części na regulowaniu różnych szlaków biochemicznych odpowiedzialnych za proliferację, apoptozę czy angiogenezę [1].

Źródłem nadmiaru tych enzymów w przebiegu zmian rozrostowych są nie tylko komórki nowotworowe [11], lecz także fibroblasty [12], komórki tuczne, makrofagi, wielojądrzaste neutrofile [13, 14], adipocyty czy komórki śródbłonna. Nadmierne wydzielanie metaloproteinaz w procesie kancerogenezy związane jest z wydzielaniem do środowiska przez patologiczne komórki różnych czynników wzrostu, interleukin i interferonów, które nasilają biosyntezę tych enzymów przez prawidłowe komórki gospodarza. Również znaczące jest miejscowe zwiększone stężenie tych substancji w wyniku ich uwalniania ze zdegradowanego ECM [15].

O udziale MMP w procesie nowotworzenia świadczy wiele opisanych doniesień. MMP-9, pomimo braku klasycznego sygnału lokalizacji jądrowej, jest w stanie przechodzić do jądra komórkowego. Niszczy w jego obrębie białko macierzy jądrowej, jakim jest polimeraza poli-ADP-rybozy, utrudniając tym samym naprawę DNA. Ponadto, może wiązać się z białkiem Ku70/80, które jest odpowiedzialne za scalanie pękniętych dwuniciowych fragmentów DNA w odpowiednich miejscach, umożliwiając translokacje odcinków materiału

genetycznego. Żelatynaza B indukuje ekspresję białka Rac1b, które to wywołuje zwiększoną niestabilność chromosomową poprzez oksydacyjne uszkodzenie DNA [15].

Kolejnym etapem rozwoju nowotworu, w który zaangażowane są metaloproteinazy jest zniszczenie ECM, w celu wytworzenia miejsca dla rozwijającej się patologicznej struktury. Komórki, których zadaniem jest strawienie macierzy zewnątrzkomórkowej wytwarzają wypustki nazywane inwadopodiami. Enzymy trawiące są wydzielane na wierzchołku tych struktur za pomocą mikrotubul [16]. Następnie, na zewnętrznej części inwadopodiów łączą się z receptorem CD44 lub integrynami [17]. Pierwszym, z bardzo ważnych substratów wchodzących w skład ECM rozkładanych przez metaloproteinazy, jest fibronektyna. Degradacja tej substancji prowadzi do uwolnienia aktywnego czynnika martwicy nowotworów typu β (ang. *tumor necrosis factor* – TNF β). W prawidłowych komórkach czynnik ten hamuje ich proliferację regulując w ten sposób ekspansję w głąb macierzy zewnątrzkomórkowej. Natomiast, oddziaływanie TNF β z nowotworem może być wyrażane w dwojaki sposób. Po pierwsze, gdy stadium jego rozwoju nie jest zbyt zaawansowane TNF β zatrzymuje cykl podziałowy komórki. Kiedy rozwój patologicznej struktury jest zbyt daleko posunięty, następuje swego rodzaju wytworzenie oporności na ten czynnik. Jego długotrwały nadmiar doprowadza do aktywacji kolejnych podziałów. Innym substratem trawionym przez MMP jest laminina [16]. Jej produkty degradacji tworzą czynniki chemotaktyczne dla leukocytów, które są znaczącym źródłem metaloproteinaz [14, 18]. Proteolityczna degradacja lamininy może powodować inne konsekwencje takie, jak: ułatwienie komórkom nowotworowym odłączenia się od pierwotnej struktury guza, a następnie ich migrację. Kolejnym składnikiem ECM trawionym przez MMP-9 jest E kadheryna – białko, które uczestniczy w oddziaływaniach między komórkami. Rozluźnienie tego połączenia może decydować o zdolności nowotworu do przerzutowania [1]. Następnym substratem białkowym degradowanym przez metaloproteinazy jest kolagen IV typu. Niektóre z powstałych fragmentów degradacji proteolitycznej kolagenu IV mają działanie anty-angiogenne. Metaloproteinazy uwalniają i aktywują wiele czynników związanych z powierzchnią komórki. W tym aspekcie szczególną rolę pełni nabłonkowy czynnik wzrostu (ang. *epidermal growth factor* – EGF). Jest on

w stanie pobudzać szlak ERK – kinazę regulowaną zewnątrzkomórkowo (ang. *extracellular-signal regulated kinases*), transkrypcję genów rodziny Bcl-2, a także inhibitory apoptozy. Uwalniany z powierzchni limfocytów T i makrofagów czynnik martwicy nowotworów typu α (TNF α) umożliwia niekontrolowane przeżycie komórek [16], w mechanizmie zależnym od czynnika transkrypcyjnego NF- κ B [1]. W organizmie człowieka występują liczne czynniki wzrostu inaktywowane na skutek tworzenia kompleksów poprzez proces wiązania z białkami. W takiej to postaci funkcjonuje kompleks insulinopodobny czynnik wzrostu – białko wiążące (ang. *insulin growth factor – binding protein* – IGF-BP), który ulega degradacji proteolitycznej na skutek działania MMP, co skutkuje powstaniem aktywnego IGF, który stymuluje komórki do namnażania. W procesie przerzutowania niezbędna jest obecność aktywnej MMP-9, która umożliwia przejście komórek nowotworowych do krwioobiegu. Już w naczyniu następuje oddziaływanie metaloproteinaz związanych z komórką nowotworową i płytkami krwi. Trombocyty opłaszczają komórki nowotworowe, czyniąc je niewidocznymi dla układu odpornościowego, a ponadto sprzyjają powstawaniu mikrozakrzepów pozwalając na ich stabilizację w miejscu i przenikanie w głąb tkanki [16].

Niektóre metaloproteinazy uczestniczą w hamowaniu szlaku apoptozy. Proces ten zachodzi przez uwolnienie liganda Fas od receptora, co wydatnie zmniejsza podatność na sygnały proapoptotyczne. Istnieją również doniesienia świadczące o wpływie metaloproteinaz na prawidłową funkcję komórek NK. W tym przypadku wykazano, że MMP-9 degradowuje ich receptor powierzchniowy ICAM-1 (ang. *intercellular adhesion molecule-1*) osłabiając cytotoksyczne możliwości komórek NK [1].

Niezwykle istotnym czynnikiem dla rozwoju nowotworu, w który zaangażowane są metaloproteinazy jest proces angiogenezy, umożliwiający zaopatrywanie w składniki odżywcze transformowanych komórek. Pobudzone przez niedotlenienie rozwijającego się nowotworu komórki śródbłonna, wokół zmiany nowotworowej wydzielają czynnik indukowany niedotlenieniem HIF (ang. *hypoxia inducing factor*). Cząsteczka ta jest czynnikiem stymulującym transkrypcję genu odpowiedzialnego za syntezę cytokiny VEGF – czynnika wzrostu śródbłonna naczyniowego (ang. *vascular endothelial growth factor*), która jest bardzo silnym czynnikiem stymulującym proces angiogenezy

w warunkach patologicznych, jak i fizjologicznych. VEGF zwiększa ekspresję metaloproteinaz, w szczególności MMP-9, która trawi ECM uwalniając z niej kolejne porcje VEGF, czyniąc proces angiogenezy jeszcze bardziej sprawnym. Następnym czynnikiem proangiogennym jest bFGF – podstawowy czynnik wzrostu fibroblastów (ang. *basic fibroblast growth factor*), powstający również podczas degradacji ECM, a właściwie siarczanu heparanu oraz proteoglikanu. W procesie tym, poza MMP-9, równie ważną rolę pełni MMP-2. Pamiętaj należy także o tym, że metaloproteiny powodują rozluźnienie połączeń pomiędzy komórkami dając możliwość przemieszczania komórek śródbłona do miejsc powstawania nowych naczyń krwionośnych. Co więcej, na modelach zwierzęcych wykazano, iż wyłączenie genu MMP-9 powoduje całkowite wyciszenie fizjologicznej angiogenezy. Rola MMP-2 w tym procesie nie jest do końca wyjaśniona, ale sugeruje się, że może ona inicjować rozwój naczyń krwionośnych. Ponadto, MMP-9 uwalnia ligand dla receptora Kit, który jest czynnikiem wzrostu komórek macierzystych (ang. *stem cell factor* – SCF). Ligand ten silnie oddziałuje na wzrost komórek, w szczególności szpiku, a także jest czynnikiem proangiogennym. Metaloproteiny uczestniczą także w procesach hamujących angiogenezę, np. MMP-9 i MMP-2, poprzez degradację proteolityczną plazminogenu, powodują powstanie angiostatyny posiadającej właściwości antyangiogenne [16, 19].

Metaloproteiny – możliwe zastosowanie diagnostyczne

Metaloproteiny mają szczególny udział w powstaniu i rozwoju choroby nowotworowej. Rozrostom nowotworowym towarzyszy wydzielanie metaloproteinaz. Niemal w każdym z badanych rozrostów zdołano udowodnić, iż same patologiczne komórki wydzielają różne ilości specyficznych dla siebie metaloproteinaz, które czasem wykazują zwiększone stężenia w surowicy, moczu lub płynie mózgowo-rdzeniowym. Pojedyncza MMP nie może stać się markerem choroby nowotworowej, jak również czynnikiem prognostycznym określającym stadium zaawansowania choroby z powodu jej niskiej specyficzności narządowej (Tabela 2). Jednak, analiza kilku metaloproteinaz jednocześnie (tzw. konstelacji), w połączeniu z innymi markerami nowotworowymi i diagnostyką obrazową mogłaby stać się użytecznym

narzędziem w diagnostyce oraz prognozowaniu dalszego rozwoju choroby. Szereg publikacji wskazuje na zwiększone poziomy/aktywności MMP-9 w różnych typach nowotworów np. przewlekłej białaczce limfatycznej czy nowotworze jajnika, co – jak się wydaje – oznacza gorszą prognozę dla pacjentów [17, 20, 21].

Tabela 2. Występowanie metaloproteinaz w przebiegu chorób nowotworowych.

Table 2. The presence of metalloproteinases in the course of malignancy.

Lokalizacja narządowa nowotworu	Metaloproteinazy, których stężenie wzrasta	Materiał diagnostyczny
pęcherz	2, 7, 9	tkanka, mocz
pierś	1, 9, 13	tkanka, osocze, materiał z biopsji cienkoigłowej
jajnik	2, 9, 14	tkanka
trzustka	2, 7, 9	tkanka, sok trzustkowy
płuco	1, 7, 9	tkanka, popłuczyny oskrzelowo-pęcherzykowe
jelito grube	1, 2, 7, 9, 13	tkanka, osocze
mózg	2, 9	tkanka, płyn mózgowo-rdzeniowy
gruczoł krokowy	2, 9	tkanka, mocz
przewlekła białaczka limfocytowa	2, 9	limfocyty, surowica, osocze

Inhibitory metaloproteinaz jako leki o potencjalnym zastosowaniu w terapii celowanej nowotworów

Metaloproteiny próbuje się wykorzystać jako tarcze w terapiach celowanych dla różnych leków hamujących rozwój guza. Podejmowano próby opracowania leków strukturalnie przypominających kolagen, substrat trawiony przez metaloproteiny. Współzawodnicząc o miejsce aktywne w enzymie, chelatowały jon cynku niezbędny do prawidłowej aktywności enzymatycznej metaloproteiny. Pierwszym opracowanym tego typu lekiem był batimastat, który jednak nie mógł być stosowany doustnie z powodu małej biodostępności. Kolejne leki – prinomastat i marimastat, posiadały podobne właściwości i mogły być stosowane doustnie. Jak wykazano, ich mechanizm działania polega na hamowaniu MMP 2, 3, 8, 9, 13. Jednak, leki te były skuteczne jedynie we wczesnych stadiach rozwoju nowotworu. W stadiach zaawansowanych leki okazywały się nieefektywne, prawdopodobnie z powodu silnie rozwiniętej sieci naczyń krwionośnych w strukturze guza, a także rozprzestrzenienia komórek nowotworowych w naczyniach krwionośnych lub układzie chłonnym. Natomiast, we wczesnym stadium choroby inhibitory metaloproteinaz są w stanie zapobiec patologicznej angiogenezie i rozluźnieniu guza, uniemożliwiając przerzutowanie. Do tej pory przebadano skuteczność działania wielu różnych inhibitorów metaloproteinaz w terapii choroby nowotworowej, lecz żaden z nich nie znalazł możliwości praktycznego zastosowania. Wśród groźnych działań ubocznych wyróżnia się m.in. zespół mięśniowo-szkieletowy wywołujący silne bóle [7, 23–25]. Jednak, zastosowanie tego typu związków na modelach zwierzęcych we wczesnym stadium choroby nowotworowej zwiększało czas przeżycia. Mimo trudności, w celu poznania prawdopodobnych przyczyn zróżnicowanego wytwarzania i aktywności metaloproteinaz w różnych typach nowotworów, należy, jak się wydaje, kontynuować badania nad rolą metaloproteinaz i ich inhibitorów tkankowych w procesie nowotworzenia, szczególnie na poziomie materiału genetycznego (DNA), jak również na poziomie jego ekspresji (mRNA). Lepsze poznanie roli MMP w procesie nowotworzenia może otworzyć nowe możliwości zastosowania ich inhibitorów w terapiach celowanych. Niemniej jednak, na tę chwilę testowane są co najmniej dwa rodzaje monoklonalnych przeciwciał przeciwko MMP. DX-2400 jest

specyficznym inhibitorem metaloproteinazy 14. Ten błonowy enzym ulega ekspresji w przebiegu wielu nowotworów i jest odpowiedzialny za degradację kolagenu, a także za uaktywnianie MMP-2, co w pośredni sposób wpływa na takie procesy, jak angiogeneza, naciekanie czy w końcu przerzutowanie. Drugie przeciwciało – REGA-3G12 jest skierowane przeciwko domenie katalitycznej MMP-9. Rola tego enzymu jest szeroko udokumentowana w przebiegu wielu nowotworów, czego przykłady zostały zamieszczone we wcześniejszej części artykułu. Próbuje się przezwyciężyć efekty uboczne stosowania inhibitorów metaloproteinaz poprzez ograniczenie ich dostępu jedynie do komórek nowotworowych. W tym celu stosuje się nowoczesne metody takie, jak liposomalny system dostarczania leków. Są to jednak próby podejmowane w projektach naukowych, które mogą w niedalekiej przyszłości stworzyć alternatywę dla chemio- czy radioterapii niwelując ich niepożądane skutki uboczne [26–28].

Wnioski końcowe

Prowadzone w ostatnich latach badania wykazały, że metaloproteinazy, oprócz dobrze poznanej wcześniej roli trawienia macierzy zewnątrzkomórkowej, mogą oddziaływać na istotne procesy związane z regulacją biologii komórki (w tym komórki nowotworowej), wpływając m.in. na uwalnianie różnych cytokin czy czynników wzrostu.

W organizmie człowieka wykryto 23 różne metaloproteinazy. Ich poziom/aktywność ulega znaczącemu podwyższeniu w procesie nowotworzenia, co wiąże się z gorszą prognozą dla pacjentów. Metaloproteinazy są obecne we wszystkich etapach procesu kancerogenezy. Z tego względu, podejmowane są próby wykorzystania analiz kilku metaloproteinaz jednocześnie (tzw. konstelacji) w diagnostyce oraz prognozowaniu dalszego rozwoju choroby nowotworowej.

Obecnie, coraz więcej uwagi poświęca się wykorzystaniu metaloproteinaz jako tarcz działania potencjalnych leków przeciwnowotworowych. Wśród nich wyróżnić można leki pierwszej generacji (batimastat, prinomastat i marimastat), jak również farmaceutyki opracowane w oparciu o technologię przeciwciał

monoklonalnych (DX-2400 – specyficzny inhibitor metaloproteiny 14 i REGA-3G12 skierowane przeciwko domenie katalitycznej MMP-9).

Praca zrealizowana w ramach działań statutowych Zakładu Biochemii Farmaceutycznej i Diagnostyki Molekularnej 503/3-015-02/503-31-001.

Piśmiennictwo

1. Kessenbrock K, Plaks V, Werb Z. Matrix metalloproteinases regulators of the tumor microenvironment. *Cell*. 2010; 141: 52–67.
2. Westermarck J, Veli-Matti K. Regulation of matrix metalloproteinase expression in tumor invasion. *FASEB J*. 1999; 13: 781–792.
3. Klein T, Bischoff R. Physiology and pathophysiology of matrix metalloproteinases. *Amino Acids*. 2011; 41: 271–290.
4. Murphy G, Nagase H. Localising matrix metalloproteinase activities in the pericellular environment, *FEBS J*. 2011; 2–15.
5. Kwiatkowski P, Godlewski J, Śliwińska-Jewsiewicka A, Kmiec Z. Rola metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej w procesie inwazji nowotworu. *Pol. Ann. Med.* 2008; 15: 43–50.
6. Lipka D, Boratyński J. Metaloproteiny MMP. Struktura i funkcja, *Post Hig Med Dośw.* 2008; 62: 328–336.
7. Yadav L, Puri N, Rastogi V, Satpute P, Ahmad R, Kaur G. Matrix Metalloproteinases and Cancer – Roles in Threat and Therapy. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014; 15: 1085–1091.
8. Decock J, Thirkettle S, Wagstaff L, Edwards DR. Matrix metalloproteinases: protective roles in cancer. *J Cell Mol Med.*, 2011; 15: 1254–1265.
9. Löffek S, Schilling O, Franzke CW. Biological role of matrix metalloproteinases: a critical balance, *Eur Respir J*. 2011; 38: 191–208.
10. Visse R, Nagase H. Matrix Metalloproteinases and Tissue Inhibitors of Metalloproteinases Structure, Function, and Biochemistry. *Circ Res*. 2003; 92: 827–839.
11. Shuman Moss LA, Jensen-Taubman S, Stetler-Stevenson WG. Changing Roles in Tumor Progression and Metastasis. *Am J Pathol*. 2012; 181: 1895–1899.
12. Li DQ, Meller D, Liu Y, Tseng SGC. Overexpression of MMP-1 and MMP-3 by Cultured Conjunctivochalasis Fibroblasts. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2000; 41: 404–410.

13. Di Girolamo N, Tedla N, Lloyd A, Wakefield D. Expression of matrix metalloproteinases by human plasma cells and B lymphocytes. *Eur J Immunol.* 1998; 28: 1773–1784.
14. Melamed D, Messika O, Glass-Marmor L, Miller A. Modulation of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) secretion in B lymphopoiesis. *Int Immunol.* 2006; 18: 1355–1362.
15. Farina AR, Mackay AR. Gelatinase B/MMP-9 in Tumour Pathogenesis and Progression. *Cancers.* 2014; 6: 240–296.
16. Fink K, Boratyński J. Rola metaloproteinaz w modyfikacji macierzy zewnątrz-komórkowej w nowotworowym wzroście inwazyjnym, w przerzutowaniu i w angiogenezie *Post Hig Med Dośw.* 2012; 66: 609–628.
17. Redondo-Muñoz J, Escobar-Díaz E, Samaniego R, Terol MJ, García-Marco JA, García-Pardo Á. MMP-9 in B-cell chronic lymphocytic leukemia is up-regulated by $\alpha 4\beta 1$ integrin or CXCR4 engagement via distinct signaling pathways, localizes to podosomes, and is involved in cell invasion and migration. *Blood.* 2006; 108: 3143–3151.
18. Kamiguti AS, Lee ES, Till KJ, Harris RJ, Glenn MA, Lin K i wsp. The role of matrix metalloproteinase 9 in the pathogenesis of chronic lymphocytic leukemia. *Br J Haematol.* 2004; 125: 128–140.
19. Deryugina E I, Quigley J P. Pleiotropic roles of matrix metalloproteinases in tumor angiogenesis: Contrasting, overlapping and compensatory functions. *Biochim Biophys Acta.* 2012; 1803: 103–120.
20. Czekierdowski A, Czekierdowska S, Daniłóś J, Rogala E, Nowicka A. Mimikra waskulogenna i ekspresja metaloproteinazy MMP-9 w guzach nowotworowych jajnika u kobiet. *Przegląd menopauzalny.* 2012; 2: 108–114.
21. Molica S, Vitelli G, Levato D, Giannarelli D, Vacca A, Cuneo A i wsp. Increased serum levels of matrix metalloproteinase-9 predict clinical outcome of patients with early B-cell chronic lymphocytic leukaemia. *Eur J Haematol.* 2003; 70: 373–378.
22. Nelson AM, Fingleton B, Rothenberg ML, Matrisian LM. Matrix Metalloproteinases: Biologic Activity and Clinical Implications. *J Clin Oncol.* 2000; 18: 1135–1149.
23. Hidalgo M, Eckhardt SG. Development of Matrix Metalloproteinase Inhibitors in Cancer Therapy. *J Natl Cancer Inst.* 2001; 93: 178–193.
24. Roopali R, Jiang Y, Moses MA. Matrix Metalloproteinases As Novel Biomarkers and Potential Therapeutic Targets in Human Cancer. *J Clin Oncol.* 2009; 27: 5287–5297.

25. Zucker S, Cao J, Wen-Tien C. Critical appraisal of the use of matrix metalloproteinase inhibitors in cancer treatment. *Oncogene*. 2000; 19: 6642–6650.
26. Cathart J, Pulkoski-Gross A, Cao J. Targeting Matrix Metalloproteinases in Cancer: Bringing New Life to Old Ideas. *Genes Dis*. 2015; 1: 26–34.
27. Fields GB. New strategies for targeting matrix metalloproteinases. *Matrix Biol*. 2015; 44–46: 239–246.
28. Kalva S, Azhagiya Singam ER2, Rajapandian V2, Saleena LM3, Subramanian V. Discovery of potent inhibitor for matrix metalloproteinase-9 by pharmacophore based modeling and dynamics simulation studies. *J Mol Graph Model*. 2014; 49: 25–37.