



Metaloproteiny macierzy pozakomórkowej w glejakach

Matrix metalloproteinases in gliomas

ANNA ŁAPKA, JAGODA DRĄG, ANNA GOŹDZIAŁSKA, JERZY JAŚKIEWICZ

Z: Zakładu Analityki Biochemicznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

STRESZCZENIE

Cel. Glejaki, nowotwory wywodzące się z komórek gleju, stanowią ok. 50% wszystkich nowotworów mózgu. Celem niniejszego opracowania jest poglądowe przedstawienie roli metaloproteinaz w patomechanizmie rozwoju glejaków.

Poglądy. Metaloproteiny macierzy pozakomórkowej to enzymy modyfikujące strukturę i funkcję tkanek w warunkach prawidłowych i patologicznych. W tkance nerwowej zwiększenie aktywności tych enzymów stwierdzono w procesie kancerogenezy. W obrębie tkanki nerwowej macierz pozakomórkowa (ECM) jest tworzona głównie aktywnością sekrecyjną komórek gleju. Najczęściej patologiczne zmiany ECM są następstwem zaburzonej procesem kancerogenezy funkcji komórek gleju, prowadzącej ostatecznie do rozwoju glejaków. Wykazano specyficzność substratową MMPs występujących w ośrodkowym układzie nerwowym. Dowiedziono, że w ECM tkanki mózgu, w stanie choroby nowotworowej, występują przede wszystkim MMP-2, MMP-9 oraz MMP-14. Substratem dla tych enzymów są głównie białka kolagenowe typu I, II, III, IV, V, oraz laminina, fibronektyna, agrekan, perlekan i tenascyna.

Wnioski. Poznanie funkcji MMPs w rozwoju glejaków pozwoli na poszerzenie obecnego stanu wiedzy na temat tej grupy nowotworów. W przyszłości stanowić może także potencjalny czynnik prognostyczny.

SUMMARY

Objectives. Gliomas, tumors derived from glial cells, represent about 50% of all cerebral tumors. The aim of this review is to outline the role of matrix metalloproteinases in the pathological mechanism underlying the development of gliomas.

Review. Matrix metalloproteinases (MMPs) are a group of proteolytic enzymes that modify the tissue structure and function under various physiological and pathological conditions. MMPs activity in the nervous tissue was observed to increase in the process of cancerogenesis. In this type of tissue extracellular matrix (ECM) is produced mainly by glial cell secretion. Pathological ECM changes usually result from glial cells' function impairment due to the carcinogenic process, leading eventually to glioma development. Substrate specificity of MMPs in the CNS was demonstrated, as well as a positive correlation between MMPs activity and cancer progression. MMP-2, MMP-9 and MMP-14 were evidenced to be the main proteolytic enzymes in the brain tissue ECM under pathological conditions. Moreover, collagen proteins type I, II, III, IV, V, laminin, fibronectin, aggrecan, perlecan and tenascin were found to be the main substrates for those enzymes.

Conclusions. Understanding the MMPs function in glioma progression will allow to enlarge the present body of knowledge about this cancer group. In the future MMPs may also serve as a potential prognostic marker.

Słowa kluczowe: metaloproteiny macierzy pozakomórkowej (MMPs) / macierz pozakomórkowa (ECM) / glejaki

Key words: matrix metalloproteinases (MMPs) / extracellular matrix (ECM) / gliomas

W obrębie tkanki nerwowej obok specyficznych komórek układu nerwowego występuje również macierz pozakomórkowa, tworzona głównie przez aktywność sekrecyjną komórek gleju [1–4]. Struktura i funkcja macierzy pozakomórkowej (ECM, *extracellular matrix*) ulega fizjologicznym przemianom w warunkach fizjologicznych, a także w stanie patologicznym, w procesie kancerogenezy. W przypadku zmian nowotworowych wynika z zaburzonej funkcji komórek gleju [3]. Degradacja ECM prowadzi do naruszenia struktury tkanki łącznej oraz do patologicznej angiogenezy. Zdolność do takiej przebudowy tkanki łącznej związana jest z proteolitycznym działaniem enzymów, głównie metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej (MMPs – *matrix metalloproteinases*) [3, 5, 6, 7].

Celem obecnego opracowania jest poglądowe przedstawienie funkcji metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej w CNS w warunkach kancerogenezy.

METALOPROTEINAZY MACIERZY POZAKOMÓRKOWEJ

Metaloproteiny macierzy pozakomórkowej stanowią grupę enzymów, których aktywność zależy od obecności jonów wapnia oraz jonów cynku. Obecnie znanych jest 25 metaloproteinaz, z których 23 występują w organizmie człowieka. MMPs, należące do enzymów z grupy endopeptydaz, degradują składniki macierzy zewnątrzkomórkowej [8, 9, 10]. Ta funkcja enzymów jest jednym z uwarunkowań stałego procesu przebudowy struktury ECM [9, 11, 12]. Inną funkcją MMPs jest udział w przekazywaniu sygnałów między komórkami poprzez selektywną ekspozycję ukrytych epitopów macierzy pozakomórkowej [10, 13, 14].

W warunkach patologicznych metaloproteiny degradują strukturę ECM i pobudzają proces angiogenezy. Takie zmiany w obrębie struktury macierzy warunkują migrację komórek nowotworowych [8, 15].

Budowa metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej

Metaloproteiny to białka o masie cząsteczkowej pomiędzy 28 a 92 kDa, zawierające w swej cząsteczce atomy wapnia oraz atomy cynku. Enzymy te zostały podzielone na grupy ze względu na specyfikę substratową oraz budowę. Wśród MMPs wyróżnia się kolagenazy, żelatynazy, stromielizyny, matrylizyny, enamelizynę, metaloelastazę, metaloproteiny błonowe, oraz pozostałe enzymy, nie zaklasyfikowane do żadnej z wymienionych grup [8, 9, 11, 12]. Wszystkie MMPs posiadają w swej budowie charakterystyczne dla całej rodziny domeny, oraz domeny specyficzne dla poszczególnej grupy enzymów. Klasyfikacja MMPs oraz ich nazwy zwyczajowe zostały przedstawione w tabeli 1 [8, 9, 12].

Tablica 1. Metaloproteiny macierzy pozakomórkowej [6, 12, 50].
Table 1. Matrix metalloproteinase [6, 12, 50].

Nazwa enzymu Enzyme's name	MMP	Lokalizacja genu na chromosomie Gen localization on chromosome
Żelatynazy <i>Gelatinases</i>		
kolagenaza A <i>collagenase A</i>	MMP-2	16q 13
kolagenaza B <i>collagenase B</i>	MMP-9	20q 11.2-13.1
Kolagenazy <i>Collagenases</i>		
kolagenaza 1 <i>collagenase 1</i>	MMP-1	11q11-q23
kolagenaza 2 <i>collagenase 2</i>	MMP-8	11q 21-q22
kolagenaza 3 <i>collagenase 3</i>	MMP-13	11q 22.3
Stromielizyny <i>Stromelysines</i>		
stromielizyna 1 <i>stromelysine 1</i>	MMP-3	11q 23
stromielizyna 2 <i>stromelysine 2</i>	MMP-10	11q 22.3
stromielizyna 3 <i>stromelysine 3</i>	MMP-11	22q11.2
Matrylizyny <i>Matrilisines</i>		
matrylizyna 1 <i>matrilisine 1</i>	MMP-7	11q 21-q 22
matrylizyna 2 <i>matrilisine 2</i>	MMP-26	11p15
metaloelastaza <i>metalloelastase</i>	MMP-12	11q 22.2-q 23.2
enamelizyna <i>enamylisine</i>	MMP-20	11q 22.3-q 23
Metaloproteiny błonowe <i>Membrane metalloproteinases</i>		
MT1-MMP	MMP-14	14q11-q12
MT2-MMP	MMP-15	16q 13-q 21
MT3-MMP	MMP-16	8q 21
MT4-MMP	MMP-17	12q 24.33
MT5-MMP	MMP-24	20q 11.2
MT6-MMP	MMP-25	16q 13.3
Inne <i>Other</i>		
brak potocznej nazwy <i>no common name</i>	MMP-19	12q 14
CA-MMP	MMP-23	1p 36.1
epilizyna <i>epilisine</i>	MMP-28	17q21.1

MMPs posiadają sekwencję sygnałową znajdującą się na N-końcu cząsteczki enzymu. Sekwencja ta jest wycinana z cząsteczki po skierowaniu nowo zsyntetyzowanego białka do retikulum endoplazmatycznego [9, 12]. Za sekwencją sygnałową znajduje się sekwencja aminokwasowa propeptydu, która zapewnia utrzymanie cząsteczki enzymu w formie latentnej. Ten stan zależy od wiązania atomu cynku w centrum katalitycznym, przez resztę cysteinową propeptydu [9, 10, 11, 12].

Domene katalityczną MMPs tworzy sekwencja ok. 170 aminokwasów, w obrębie której znajduje się miejsce

aktywne. Centrum aktywne domeny katalitycznej zbudowane jest z częściowo poznanej sekwencji aminokwasów (HEXXHXXGXXH). Obecne trzy reszty histydyny (H) wiążą katalityczny atom cynku [9, 12, 16].

Sekwencja katalityczna jest identyczna dla wszystkich enzymów z grupy metaloproteinaz ECM z wyjątkiem dwóch, a mianowicie żelatynazy A (MMP-2) oraz żelatynazy B (MMP-9). W obu tych enzymach, w obrębie domeny katalitycznej, występują dodatkowo trzy powtórzone sekwencje aminokwasowe charakterystyczne dla białka fibronektyny II. Ta specyfika w budowie MMP-2 oraz MMP-9 umożliwia wiązanie z żelatyną, białkami kolagenowymi, elastyną oraz lamininą [9, 12, 17, 18, 19].

Wszystkie MMPs, oprócz matrylizyny-1 (MMP-7) oraz matrylizyny-2 (MMP-26), zawierają C-końcową domenę hemopeksynopodobną, połączoną z domeną katalityczną za pomocą regionu zawiasowego [8]. Fragment C-końcowy cząsteczki enzymu odpowiedzialny jest za wiązanie MMPs z substratami oraz tkankowymi inhibitorami metaloproteinaz (TIMP – *tissue inhibitors of metalloproteinases*) [2, 9, 12].

W budowie cząsteczek MMPs wyróżnia się grupę enzymów zwanych metaloproteinazami błonowymi (MT-MMPs – *membrane type matrix metalloproteinases*), które pomiędzy sekwencją propeptydu, a sekwencją sygnałową posiadają dodatkową domenę transbłonową. Obecność tej struktury warunkuje zakotwiczenie enzymu w błonie komórkowej [9, 12].

Biosynteza i regulacja aktywności MMPs

Metaloproteiny syntetyzowane są w postaci nieczynnych preproenzymów przez komórki danej tkanki [9, 12]. W warunkach fizjologicznych w ośrodkowym układzie nerwowym MMPs produkowane są przez komórki gleju. Zdolność syntezy MMPs posiadają także komórki nowotworowe [16, 21, 22]. Ponadto komórki nowotworowe mogą indukować zwiększoną syntezę MMPs w komórkach prawidłowych. W tym działaniu szczególną rolę przypisuje się zlokalizowanemu na powierzchni białku EMMPRIN (*extracellular matrix metalloproteinase inducer*), które stymuluje okołokomórkową proteolizę ECM [16, 20, 21, 22, 23].

Metaloproteiny wydzielane są do środowiska pozakomórkowego w postaci pro-MMPs. Do pełnej aktywacji większości enzymów z grupy metaloproteinaz dochodzi dopiero w przestrzeni pozakomórkowej. Te zmiany regulowane są poprzez specyficzne inhibitory i aktywatory działające na poziomie ekspresji genów, aktywacji zymogenów oraz poprzez specyficzne i niespecyficzne inhibitory aktywnych form MMPs [8, 24].

Czynnikami stymulującymi ekspresję genów MMPs są komponenty macierzy zewnątrzkomórkowej, a także stres komórkowy [8, 9]. Ponadto istotną rolę w regulacji ekspresji genów pełnią cytokiny, czynniki wzrostu, w tym EGF, FGF, VEGF, PDGF, TNF- α , TGF- β oraz interleukiny i interferon [19, 25].

Aktywacja latentnej formy enzymu dokonuje się poprzez odcięcie N-terminalnego propeptydu, zawierającego reszty cysteiny. Proces ten prowadzi do odsłonięcia centrum aktywnego z trzema resztami histydyny wiążącymi jon cynku i aktywacji enzymu [8, 17]. Uwolnienie sekwencji propeptydowej jest katalizowane przez swoiste proteiny, wśród których wyróżnia się proteiny systemu aktywacji

plazminogenu do plazminy, elastazę leukocytarną, trypsynę oraz katepsynę G [11]. Dodatkowo aktywne formy enzymów z grupy metaloproteinaz wykazują zdolność do aktywacji zymogenów MMPs [9].

W warunkach patologicznych przekształcenie nieaktywnej formy zymogenu do aktywnej postaci enzymu może nastąpić również pod wpływem mocznika, oraz związków nieorganicznych takich jak cyjanek, jodek potasu, tlenek azotu, oraz siarczan dodecyłu sodu [12, 24, 26]. Zmiany konformacyjne na skutek działania związków organicznych i nieorganicznych prowadzą do odłączenia peptydu sygnałowego i aktywacji enzymu [11, 12, 24].

Do endogennych inhibitorów metaloproteinaz należą tkankowe inhibitory metaloproteinaz (TIMPs – *tissue inhibitors of metalloproteinases*) [9, 12, 24]. Dotychczas poznano cztery endogenne inhibitory MMPs, a mianowicie TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3, TIMP-4 [9, 24]. TIMPs łączą się z sekwencją C-końcową MMPs w stosunku stechiometrycznym 1:1, wiązaniami niekowalencyjnymi. Inaktywacja MMPs przez TIMPs jest procesem odwracalnym, bowiem dysocjacja kompleksu umożliwia odzyskanie pełnej aktywności MMPs oraz TIMPs [9, 19, 27, 28]. Powinowactwo poszczególnych TIMPs do MMPs jest zróżnicowane, i tak na przykład TIMP-1 posiada większe powinowactwo do MMP-9 niż do MMP-2, natomiast TIMP-2 ma znacznie większe zdolności inhibicyjne w stosunku do MMP-2 niż innych enzymów tej rodziny [18, 24, 29].

Paradoksalnie, możliwa jest także aktywacja MMPs przez TIMPs. Przykładem aktywacji enzymów przez ich inhibitory jest aktywacja pro-MMP-2 przez TIMP-2 przy współdziałaniu metaloproteiny transbłonowej MMP-14 (MT1-MMP) [9, 24].

Inhibicja MMPs niespecyficznie zachodzi także poprzez endogenne inhibitory do których należą trombospondyna-1 i trombospondyna-2, $\alpha 2$ makroglobulina, RECK (*reversion-inducing cysteine – rich protein with kazal motifs*) – inhibitor związany z błoną komórkową, oraz niewielkie cząsteczki białkowe z fragmentami homologicznymi do TIMPs [8, 30].

EKSPRESJA WYBRANYCH MMPs W GLEJAKACH

Wykazana została zwiększona ekspresja MMP-2 oraz MMP-9 w glejakach, korelująca ze stopniem złośliwości nowotworu. Także zwiększoną ekspresję tych enzymów wykazano w badaniach prowadzonych *in vitro* oraz w badaniach z wykorzystaniem heteroprzeszczepów [3, 34]. Zwiększenie ekspresji MMP-9 potwierdzono specyficznie z pierwotnymi glejakami.

Stwierdzono udział genu FoxM1 w regulacji ekspresji MMP-2. Potwierdzono, iż nadekspresja genu FoxM1 w glejakach skutkuje zwiększeniem ekspresji genu MMP-2 (lokalizacja genu podana w tabl. 1) poprzez aktywację sekwencji promotorowej genu [35].

Nadekspresja genu MMP-9 (lokalizacja genu podana w tabl. 1) może być wynikiem aktywacji kaskady MAPK/ERK przez receptor epidermalnego czynnika wzrostu (EGFR – *epidermal growth factor receptor*) [34]. Transdukcja sygnału mediowana EGFR prowadzi do zwiększenia ekspresji genu MMP-9 poprzez mechanizm zależny od kinazy 3-fosfatydilinozytolu (PI3K – *phosphatidylinositol 3-kinase*).

W pierwotnych glejakach szlak transdukcji sygnału zależny od PI3K jest aktywowany przez nadekspresję EGFR lub spadek poziomu białka PTEN (PTEN – *phosphatase and tensin homologue*) [3, 36].

W badaniach doświadczalnych wykazano również wzrost ekspresji niektórych metaloproteinaz transbłonowych [37, 38]. Nadekspresja MT1-MMP obserwowana była w wielu typach nowotworów złośliwych, w tym również w glejakach. Do zwiększenia ekspresji genu MT1-MMP dochodzi na skutek rozregulowania szlaku transdukcji sygnału mediowanego czynnikiem EGFR [38].

ROLA METALOPROTEINAZ MACIERZY POZAKOMÓRKOWEJ W GLEJAKACH

Istnieje zależność pomiędzy zwiększonym poziomem MMPs a potencjałem inwazyjnym komórek nowotworowych. Badania immunohistochemiczne potwierdziły, że glejaki o wysokim stopniu złośliwości wykazują znacznie większą ekspresję MMPs w porównaniu tkanką prawidłową [5, 34]. Do zwiększenia inwazyjności komórek transformowanych prowadzi między innymi proces degradacji poszczególnych składników ECM. Ponadto, potencjał inwazyjny komórek wzrasta pod wpływem aktywacji kaskad transdukcji sygnałów pobudzających ruch komórek oraz uwolnienia związanych z ECM czynników wzrostu przez MMPs [3, 34]. Enzymy te biorą również udział w procesie angiogenezy, prowadząc do wytworzenia nowej sieci naczyń krwionośnych, umożliwiających wzrost i dalszy rozwój guza [34].

MMPs a cykliny i czynniki wzrostu

MMPs stanowią jeden z mechanizmów regulacji wzrostu komórkowego, modyfikowanego przez cykliny i zależne od tych białek kinazy, a także przez czynniki wzrostu i receptory czynników wzrostu. Cykliny oraz kinazy zależne od cyklin (CDK – *cyclin dependent kinase*) są bezpośrednio włączone w regulację cyklu komórkowego. MMPs mogą brać udział w regulacji progresji guza zależnej od cyklin. Dotychczasowe badania wykazały, że zwiększona ekspresja cykliny D1 prowadzi do wzrostu aktywności MMPs. Nadekspresja genów dla enzymów proteolitycznych powoduje nasilenie degradacji składników ECM i pobudza ruchliwość komórek nowotworowych [5].

Kinaza białkowa C (PKC – *proteine kinase C*) bierze udział w transdukcji sygnału pomiędzy powierzchnią komórki a jądrem [5]. PKC, aktywująca transdukcję sygnałów kaskady kinaz ERK1/ERK2 (ERK – *extracellular signal-related kinase*), bierze również udział w regulacji ekspresji MMPs. W badaniach doświadczalnych wykazano, że PKC reguluje ekspresję MMP-9 w złośliwych nowotworach gleju. Nadekspresja izoform PKC δ , PKC ϵ oraz PKC ζ prowadzi do aktywacji miejsca promotorowego genu MMP-1 (lokalizacja genu podana w Tab. 1), a w rezultacie do zwiększenia poziomu ekspresji genu MMP-1 [3, 39]. Produkcja MMP-9 jest pobudzana przez zmiany w cytoszkieletcie komórkowym, które generowane są za pośrednictwem jądrowego czynnika κ B (NF- κ B – *nuclear factor- κ B*) oraz kinazy białkowej C [3]. PKC zwiększa również aktywność MMP-2 poprzez aktywację procesu transkrypcji dla MT1-MMP będącej aktywatorem MMP-2 [5].

Rola MMPs w procesie angiogenezy

Proces przebudowy istniejących naczyń krwionośnych oraz powstawania nowych naczyń jest kluczowym etapem inwazji komórek do otaczającej tkanki, umożliwiającym wzrost guza [5, 31, 32]. Wykazano, że MMPs regulują angiogenezę w obrębie tkanki nowotworowej glejaków [40]. Enzymami biorącymi bezpośredni udział w procesie angiogenezy są MMP-2, MMP-9 oraz MMP-14 [8, 15]. Wzrost aktywności MMP-2 oraz MMP-9 i MMP-14 skutkuje zwiększoną degradacją składników ECM, dzięki czemu komórki śródbłonna naczyniowego przenikają w głąb zrębu nowotworu, tworząc nowe naczynia krwionośne [8, 9, 41, 42]. Metaloproteinazy ponadto zwiększają dostępność proangiogennych czynników wzrostu, które stymulują proliferację komórek śródbłonna naczyniowego [8, 32, 42].

W badaniach eksperymentalnych wykazano, że ekspresja MMP-2 jest znacznie wyższa w komórkach nowotworowych. Zwiększona ekspresja enzymu korelowała z podwyższoną ekspresją angiopoetyny-2 (*Ang-2 – angiopoietin-2*). Nadekspresja genów dla *Ang-2* oraz MMP-2 obserwowana była w komórkach znajdujących się w miejscu bezpośredniego kontaktu guza z tkanką niezmienną nowotworowo [7]. Natomiast w centralnej części guza ekspresja *Ang-2* oraz MMP-2 była prawidłowa [7, 43]. Angiopoetyna-2 prowadzi do aktywacji pro-MMP-2 a dodatkowo aktywuje również pro-MT1-MMP. Aktywna MT1-MMP bierze udział w aktywacji pro-MMP-2. Procesy te prowadzą do wzrostu aktywności MMP-2 a w konsekwencji do zwiększonej proteolizy [7, 16, 43–45].

Obecność MMP-9 została potwierdzona w komórkach bezpośrednio zaangażowanych w procesy powstawania nowych naczyń w obrębie tkanki guza [40]. MMP-9 bierze udział w procesie uwalniania związanego z komponentami ECM czynnika wzrostu śródbłonna naczyniowego (*VEGF – Vascular endothelial growth factor*), prowadząc do pobudzenia procesu angiogenezy, szczególnie powiązanego ze stopniem zaawansowania zmian nowotworowych [5, 40].

PODSUMOWANIE

Metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej to duża i zróżnicowana grupa enzymów uczestniczących w procesie zarówno fizjologicznej, jak i patologicznej przebudowy struktury tkanki łącznej. Potwierdzono rolę MMPs w takich procesach chorobowych jak niedokrwienie mózgu, choroby degeneracyjne ośrodkowego układu nerwowego, w tym stwardnienie rozsiane i choroba Alzheimera [46, 47]. Zwiększona ekspresja genów MMPs koreluje pozytywnie również ze stopniem złośliwości glejaków [3, 5, 32, 33].

W ostatnich latach wykazano, że funkcja MMPs nie ogranicza się jedynie do degradacji składników ECM [8]. Enzymy tej grupy uczestniczą w procesach zarówno wzrostu, jak i apoptozy komórek nowotworowych [8, 39]. MMPs biorą udział w patologicznej angiogenezie oraz modulują odpowiedź immunologiczną organizmu w stanie choroby nowotworowej [8, 48, 49, 50].

Rola MMPs w procesach nowotworowych CNS nie jest do końca poznana i stanowi nadal przedmiot badań. Wyjaśnienie mechanizmu działania MMPs w nowotworzeniu i migracji komórek transformowanych umożliwi dokładniej-

sze poznanie zmian zachodzących podczas rozwoju glejaków. Określenie korelacji pomiędzy ekspresją wybranych MMPs, a stopniem zaawansowania zmian nowotworowych w glejakach w przyszłości stanowić może także potencjalny czynnik prognostyczny. Opierając się na potwierdzonych już danych dotyczących zależności pomiędzy aktywnością MMP-2 i MMP-9, a stopniem rozwoju raka piersi, można przypuszczać wystąpienie podobnych korelacji w innych typach nowotworów, w tym również w glejakach [26].

PIŚMIENNICTWO

1. Novak U, Kaye AH. Extracellular matrix and the brain: components and function. *J Clin Neurosci*. 2000; 7 (4): 280–90.
2. Dityatev A, Schachner M. The extracellular matrix and synapses *Cell Tissue Res*. 2006; 326 (2): 647–654.
3. Rao JS. Molecular mechanisms of glioma invasiveness: the role of proteases. *Nat Rev Cancer*. 2003, 3 (7): 489–501.
4. Gołąb BK. Anatomia czynnościowa ośrodkowego układu nerwowego. Wyd. 5. Warszawa: PZWL; 2004.
5. Binder DK, Berger MS. Proteases and the biology of glioma invasion. *J Neurooncol*. 2002; 56 (2): 149–58.
6. VanMeter TE, Rooprai HK, Kibble MM, Fillmore HL, Broadus WC, Pilkington GJ. The role of metalloproteinase genes in glioma invasion: co-dependent and interactive proteolysis. *J Neurooncol*. 2001; 53 (2): 213–235.
7. Hu B, Guo P, Fang Q, Tao H-Q, Wang D, Nagane M, Su Huang H-J, Gunji Y, Nishikawa R, Alitalo K, Cavenee WK, Cheng S-Y. Angiopoietin-2 induces human glioma invasion through the activation of matrix metalloproteinase-2. *Proc Nat Acad Sci USA*, 2003; 100 (15): 8904–8909.
8. Egeblad M, Werb Z. New functions for matrix metalloproteinases in cancer progression. *Nat Rev*. 2002; 2 (3): 161–173.
9. Sternlicht MD, Werb Z. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2001; 17: 463–516.
10. Page-McCaw A, Ewald AJ, Werb Z. Matrix metalloproteinases and the regulation of tissue remodeling. *Nat Rev Molecular Cell Biology*. 2007; 8 (3): 221–233.
11. Sawicki G, Radomski M. W. Nowe aspekty biologii metaloproteinaz przestrzeni międzykomórkowej (MMPs). *Diagn Lab*. 1999; 35: 373–380.
12. Visse R, Nagase H. Matrix Metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases structure, function and biochemistry. *Circ Res*. 2003; 92: 827–839.
13. Szklarczyk A, Lapinska J, Rylski M, McKay RDG, Kaczmarek L. Matrix Metalloproteinase-9 undergoes expression and activation during remodeling in adult hippocampus. *J Neurosci*. 2002; 22 (3): 920–930.
14. Nagase H, Woessner Jr. Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem*. 1999; 274 (31): 21491–21494.
15. Oh J, Takahashi R, Kondo S, Mizoguchi A, Adachi E, Sasahara RM, Nishimura S, Imamura Y, Kitayama H, Alexander DB, Ide C, Horan TP, Arakawa T, Yoshida H, Nishikawa S, Itoh Y, Seiki M, Itoharu S, Takahashi C, Noda M. The membrane-anchored MMP inhibitor RECK is a key regulator of extracellular matrix integrity and angiogenesis. *Cell*. 2001; 107 (6): 789–800.
16. Nabeshima K, Inoue T, Shimano Y, Sameshima T. Matrix metalloproteinases in tumor invasion: role for cell migration. *Pathol Int*. 2002; 52 (4): 255–264.
17. Borkakoti N. Structural studies of matrix metalloproteinases. *J Mol Med*. 2000; 78 (5): 261–268.
18. Emar M, Woźniak M. Role of metalloproteinases in cancer cell invasiveness. *Diagn Lab*. 1999; 35 (2): 381–397.
19. Singh S, Barrett J, Sakata K, Tozer RG, Singh G. ETS proteins and MMPs: partners in invasion and metastasis. *Curr Drug Targets*. 2002; 3 (5): 359–67.

20. Caudroyl S, Polette M, Nawrocki-Raby B, Cao J, Toole BP, Zucker S, Birembaut P. EMMPRIN – mediated MMP regulation in tumor and endothelial cells. *Clin Exp Metastasis*. 2002; 19 (8): 697–702.
21. Sameshima T, Nabeshima K, Toole BP, Yokogami K, Okada Y, Goya T, Koono M, Wakisaka S. Expression of EMMPRIN (CD147), a cell surface inducer of matrix metalloproteinases, in normal human brain and gliomas. *Int J Cancer*. 2000; 88 (1): 21–27.
22. Sameshima T, Nabeshima K, Toole BP, Yokogami K, Okada Y, Goya T, Koono M, Wakisaka S. Glioma cell extracellular matrix metalloproteinase inducer (EMMPRIN) (CD147) stimulates production of membrane-type matrix metalloproteinases and activated gelatinase A in co-cultures with brain-derived fibroblasts. *Cancer Lett*. 2000; 157 (2): 177–184.
23. Liang Q, Xiong H, Gao G, Xiong K, Wang X, Zhao Z, Zhang H, Li Y. Inhibition of basigin expression in glioblastoma cell line via antisense RNA reduces tumor cell invasion and angiogenesis. *Cancer Biol Ther*. 2005; 4 (7): 759–762.
24. Gacko M. Mechanizmy aktywacji, znaczenie biologiczne i inhibitory metaloproteaz macierzy międzykomórkowej. *Postępy Hig Med Dośw*. 2001; 55 (2): 303–318.
25. Parks WC, Mecham RP. *Matrix Metalloproteinases*. San Diego: Calif Academic Press; 1998.
26. Śliwowska I, Koczyński Z. Metaloproteiny macierzy zewnątrzkomórkowej – charakterystyka biochemiczna i kliniczna wartość oznaczania u chorych na raka piersi. *Współ Onkol*. 2005; 9 (8): 327–335.
27. Clendeninn NJ, Appelt K. *Matrix Metalloproteinase Inhibitors in Cancer Therapy*. Totowa NJ: Humana Press; 2000.
28. Wang Z, Juttermann R, Solway PD. TIMP-2 is required for efficient activation of proMMP-2 in vivo. *J Biol Chem*. 2000; 275 (35): 26411–26415.
29. Nakopoulou L, Tsimpa I, Alexandrou P, Louvrou A, Ampela C, Markaki S, Davaris PS. MMP-2 protein in invasive breast cancer and the impact of MMP-2/TIMP-2 phenotype on overall survival. *Breast Cancer Res Treat*. 2003; 77 (2): 145–155.
30. Palosaari H, Pennington CJ, Larmas M, Edwards DR, Tjäderhane L, Salo T. Matrix metalloproteinases (MMPs) and their specific tissue inhibitors (TIMPs) in mature human odontoblasts and pulp tissue. *Eur J Oral Sci*. 2003; 111 (2): 117–27.
31. Xu J, Rodriguez D, Petitclerc E, Kim JJ, Hangai M, Yuen SM, Davis GE, Brookes PC. Proteolytic exposure of a cryptic site within collagen type IV is required for angiogenesis and tumor growth in vivo. *J Cell Biol*. 2001; 154 (5): 1069–1079.
32. Zaman K, Driscoll R, Hahn D, Werffeli P, Goodman SL, Bauer J, Leyvraz S, Lejeune F, Stupp R, Rüegg C. Monitoring multiple angiogenesis-related molecules in the blood of cancer patients shows a correlation between VEGF-A and MMP-9 levels before treatment and divergent changes after surgical vs. conservative therapy. *Int J Cancer*. 2005; 118 (3): 775–764.
33. Kim SY, Jung SH, Kim HS. Curcumin is a potent broad spectrum inhibitor of matrix metalloproteinase gene expression in human astrogloma cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005; 337 (2): 510–516.
34. Choe G, Park JK, Jouben-Steele L, Kremem TJ, Liao LM, Vinters HV, Cloughesy TF, Michel PS. Active matrix metalloproteinase 9 expression is associated with primary glioblastoma subtype. *Clin Cancer Res*. 2002; 8 (9): 2894–2901.
35. Dai B, Kang SH, Gong W, Liu M, Aldape KD, Sawaya R, Huang S. Aberrant FoxM1B expression increases matrix metalloproteinase-2 transcription and enhances the invasion of glioma cells. *Oncogene*. 2007; 26 (42): 6212–6219.
36. Ellerbroek SM, Halbleib JM, Benavidez M, Warmka JK, Wittenberg EV, Stack MS, Hudson LG. Phosphatidylinositol 3-kinase activity in epidermal growth factor-stimulated matrix metalloproteinase-9 production and cell surface association. *Cancer Res*. 2001; 61 (5): 1855–1861.
37. Fillmore HL, VanMeter TE, Broaddus WC. Membrane-type matrix metalloproteinases (MT-MMPs): expression and function during glioma invasion. *J Neurooncol*. 2001; 53 (2): 187–202.
38. VanMeter TE, Broaddus WC, Rooprai HK, Pilkington GJ, Fillmore HL. Induction of membrane-type-1 matrix metalloproteinase by epidermal growth factor-mediated signaling in gliomas. *Neuro Oncol*. 2004; 6 (3): 188–199.
39. Yabkowitz R, Meyer S, Black T, Elliott G, Merewether LA, Yamane HK. Inflammatory cytokines and vascular endothelial growth factor stimulate the release of soluble tie receptor from human endothelial cells via metalloproteinase activation. *Blood*. 1999; 93 (6): 1969–1979.
40. Bergers G, Brekken R, McMahon G, Vu TH, Itoh T, Tamaki K, Tanzawa K, Thorpe P, Itohara S, Werb Z, Hanahan D. Matrix metalloproteinase-9 triggers the angiogenic switch during carcinogenesis. *Nat Cell Biol*. 2000; 2 (10): 737–744.
41. Kleiner DE, Stetler-Stevenson WG. Matrix metalloproteinases and metastasis. *Cancer Chemother Pharmacol*. 1999; 43 (supplement): 42–51.
42. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. *Patologia Wrocław: Wydawnictwo Medyczne Urban & Partner*; 2005.
43. Guo P, Imanishi Y, Cackowski FC, Jarzynka MJ, Tao H-Q, Nishikawa R, Hirose T, Hu B, Cheng S-Y. Up-regulation of angiopoietin-2, matrix metalloproteinase-2, membrane type 1 metalloproteinase, and laminin 5 γ 2 correlates with the invasiveness of human glioma. *Am J Pathol*. 2005; 166 (3): 877–890.
44. Tao Y, Maegawa H, Ugi S, Kieda K, Nagai Y, Egawa K, Nakamura T, Tsukada S, Nishio Y, Maeda S, Kashiwagi A. The transcription factor AP-2 β causes cell enlargement and insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes. *Endocrinology*. 2006; 147 (4): 1685–1696.
45. Deryugina EJ, Ratnikov B, Monosov E, Postnova TI, DiScipio R, Smith JW, Strongin AY. MT1-MMP initiates activation of pro-MMP-2 and integrin α v β 3 promotes maturation of MMP-2 in breast carcinoma cells. *Exp Cell Res*. 2001; 263 (2): 209–223.
46. Lorenzl S, Albers DS, Relkin N, Ngyuen T, Hilgenberg SL, Chirichigno J, Cudkovic ME, Beal EF. Increased plasma levels of matrix metalloproteinase-9 in patients with Alzheimer disease. *Neurochem Int*. 2003; 43 (3): 191–196.
47. Kurzepa J, Bartosik-Psujek H, Suchożębska-Jesionek D, Rejdak K, Stryjecka-Zimmer M, Stelmasiak Z. Rola metaloproteiny macierzy zewnątrzkomórkowej w patogenezie stwardnienia rozsianego. *Neurol Neurochir Pol*. 2005; 39 (1): 63–67.
48. John A, Tuszynski G. The role of matrix metalloproteinases in tumor angiogenesis and tumor metastasis. *Pathol Oncol Res*. 2001; 7 (1): 14–23.
49. Gorelik L, Flavell RA. Immune-mediated eradication of tumors through the blockade of transforming growth factor- β signaling in T cells. *Nat Med*. 2001; 7 (10): 1118–1122.
50. Sheu BC, Hsu SM, Ho HN, Lien H-Ch, Huang S-Ch, Lin R-H. A novel role of metalloproteinases in cancer-mediated immunosuppression. *Cancer Res*. 2001; 61 (1): 237–242.

Wpłynęło: 12.03.2008 Zrecenzowano: 10.06.2008 Przyjęto: 07.07.2008

Adres: Anna Łapka, Zakład Analityki Biochemicznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków, e-mail: alapka@cm-uj.krakow.pl, tel: 012 657 39 64