

ROLA METALOPROTEINAZ MACIERZY ZEWNĄTRZKOMÓRKOWEJ W PROCESIE INWAZJI NOWOTWORU

THE ROLE OF MATRIX METALLOPROTEINASES IN TUMOUR INVASION

**Przemysław Kwiatkowski¹, Janusz Godlewski¹,
Agnieszka Śliwińska-Jewsiewicka¹, Zbigniew Kmieć^{1,2}**

¹ *Katedra Histologii i Embriologii Człowieka, Wydział Nauk Medycznych,
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie*

² *Zakład Histologii, Gdański Uniwersytet Medyczny*

STRESZCZENIE

Wstęp. Metaloproteinazy macierzy międzykomórkowej (MMP) wraz z trzema innymi rodzinami białek – astacynami, adamalizinami i serralizinami, należą do nadrodziny endoproteinaz zwanych metzincynami, które w miejscu katalitycznym enzymu posiadają wbudowany jon cynku.

Funkcją MMP jest trawienie enzymatyczne składników macierzy międzykomórkowej takich jak składniki błon podstawnych, laminina i kolagen typu IV, a także innych podstawowych składników macierzy międzykomórkowej jak fibronektyna, kolagen, elastyna i proteoglikany.

Według obecnego stanu wiedzy zidentyfikowano u kręgowców 23 określone typy metaloproteinaz macierzy międzykomórkowej, z czego 22 typy występują u człowieka.

W warunkach fizjologicznych aktywność MMP jest regulowana na poziomie stymulacji transkrypcji genów, aktywacji proenzymów pod wpływem enzymów proteolitycznych, a także przez endogenne inhibitory z rodziny tkankowych inhibitorów metaloproteinaz (TIMP).

Cel pracy. Celem pracy było przedstawienie roli enzymów proteolitycznych, metaloproteinaz macierzy międzykomórkowej, w przebiegu nowotworów złośliwych, ich znaczenia w tworzeniu się nacieku nowotworowego i powstawaniu przerzutów odległych.

Omówienie. Aktywność MMP występuje w warunkach prawidłowych w procesach fizjologicznych związanych z przebudową istoty pozakomórkowej, takich jak implantacja trofoblastu, embriogeneza, wzrost i przebudowa narządów, a także mechanizmy naprawcze i gojenie ran.

Wzmożona ekspresja MMP w rakach trzustki, żołądka, płuca, jelita grubego, piersi, prostaty oraz raku przełyku, powiązana jest z gorszym przebiegiem choroby, większą inwazyjnością i szybszym powstawaniem przerzutów odległych, co ma bezpośrednie przełożenie na złe rokowanie. Nasilona miejscowa ekspresja MMP jest uważana za nowy i ważny czynnik prognostyczny, mogący zdecydować o wdrożeniu leczenia uzupełniającego.

Obecne dane literaturowe wskazują na skuteczność związków chelatowych – batimastatu, marimastatu oraz antybiotyków tetracyklinowych w wiązaniu atomów cynku i blokowaniu miejsca aktywnego metaloproteinaz macierzy międzykomórkowej.

Wnioski. Oznaczanie aktywności MMP i ich wzmożona ekspresja w nacieku nowotworowym są uważane za czynnik prognostyczny oraz monitorujący skuteczność terapii w przebiegu choroby nowotworowej.

ABSTRACT

Introduction. Matrix metalloproteinases (MMPs), together with three other protein families, belong to the superfamily of endoproteins called metzincins, which have zinc ion built in the catalytic place. MMPs function in the enzymatic cleavage of extracellular matrix elements (ECM), such as basement membrane proteins, laminin and type IV collagen, and other primary ECM components, like fibronectin, collagen, elastin, and proteoglycans.

According to the present knowledge, 23 MMP types have been identified so far, out of which 22 types are found in humans. Physiological activity of MMP is controlled by the stimulation of gene transcription, tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs) and activation of proenzymes by proteolytic enzymes.

Aim. The aim of this paper is to present the role of proteolytic enzymes, MMPs, in the course of malignant tumours, as well as their role in malignant infiltration and distant metastases.

Discussion. The activity of MMPs is important for many physiological processes, which are closely related to the remodeling of ECM components, such as trophoblast implantation, embryogenesis, organ growth, reconstructive processes and wound healing.

It was found that an increased expression of these enzymes in several human malignancies (pancreatic, gastric, pulmonary, colorectal, breast, prostatic and esophageal cancer), correlated with rapid tumour progression, its local invasiveness and tendency to metastases. It has been recently proposed that an elevated activity of MMPs may be regarded as a new prognostic factor which may affect a decision concerning further adjuvant treatment.

It has been shown that zinc-chelating agents, such as batimastat, marimastat and some antibiotics of the tetracycline family, effectively bond zinc ions and thus inhibit the activity of MMPs.

Conclusions. Technical progress in measuring MMPs activity make it possible to regard an increased MMPs expression in tumour infiltration as a new prognostic and monitoring factor in cancer therapy.

Słowa kluczowe: MMP, metaloproteinazy, TIMP, inhibitory metaloproteinaz, macierz zewnątrzkomórkowa, nacieki nowotworowe.

Key words: MMP, matrix metalloproteinases, TIMP, extracellular matrix, invasiveness, metastases.

WSTĘP

W rozwoju nowotworu złośliwego można wyróżnić okres wzrostu guza pierwotnego i okres tworzenia się przerzutów odległych. Oba te etapy prowadzą do uszkodzenia funkcji narządów, a następnie całego organizmu, doprowadzając do śmierci. Istotnym wydarzeniem w trakcie naturalnego rozwoju guza pierwotnego jest przekraczanie przez nowotwór barier, jakie stanowią błony podstawne, co prowadzi do naciekania podścieliska tkankowego narządu. Dzięki zdolności do inwazji podścieliska możliwy jest wzrost guza, rozległe naciekanie mięszu i ścian narządów, a także innych przyległych struktur organizmu. W tym okresie nowotwór przekraczając błonę podstawną naczyń krwionośnych, zyskuje możliwość tworzenia przerzutów odległych [10, 13, 31, 34].

Ustalono, że ważną rolę zarówno we wzroście guza pierwotnego, jak i szerzeniu się przerzutów odgrywają wydzielane przez komórki nowotworowe enzymy proteolityczne, które dezintegrują strukturę błon podstawnych i podścieliska narządów, co umożliwia naciekanie przez nowotwór prawidłowej struktury tkankowej [6, 13, 31, 39]. Główną klasę wspomnianych proteaz stanowią tzw. metaloproteinazy macierzy międzykomórkowej (MMP). Razem z trzema innymi rodzinami białek – astacynami, adamalizinami i serralizinami, MMP należą do nadrodziny endoproteinaz, mających w strukturze wbudowany jon cynku. Z tego względu grupa tych enzymów nazywana jest metzincynami [37].

CEL PRACY

Celem pracy było przedstawienie roli enzymów proteolitycznych, metaloproteinaz macierzy międzykomórkowej w przebiegu nowotworów złośliwych, ich znaczenia w tworzeniu się nacieku nowotworowego i powstawaniu przerzutów odległych.

OMÓWIENIE

Aktywność MMP występuje także w warunkach prawidłowych w wielu procesach fizjologicznych, związanych z przebudową istoty pozakomórkowej, takich jak implan-

tacja trofoblastu, embriogeneza, wzrost i przebudowa narządów, a także mechanizmy naprawcze i gojenie ran [21]. Metaloproteiny są wytwarzane przez większość prawidłowych komórek, m.in. przez fibroblasty, mastocyty, osteoblasty, odontoblasty, komórki dendrytyczne, komórki mikrogleju, miocyty mięśniówki gładkiej, keratynocyty a także komórki śródbłonna. Enzymy te wydzielane są także przez komórki nacieku zapalnego, makrofagi, limfocyty T, monocyty oraz neutrofile i eozynofile [2, 7, 15].

Odkrycia pierwszego enzymu z grupy MMP, kolagenazy 1, w roku 1962 dokonali dwaj amerykańscy badacze – Charles Lapiere i Jerome Gross. Obserwując północnoamerykański gatunek żaby *Rana Catesbiana*, wykazali wówczas, że dzięki kolagenazie duże ilości kolagenu w ogonie kijanki ulegają szybkiemu rozpadowi w trakcie przekształcania się jej w dorosłą postać [14].

Według obecnego stanu wiedzy zidentyfikowano u kręgowców 23 określone typy MMP, z czego 22 występują u człowieka. Numeracja MMP rozpoczyna się od 1, a kończy na 28, nie obejmuje jednak numerów 4, 5, 6, 18, 22. Spowodowane jest to duplikacją odkryć tych enzymów dokonanych przez różne zespoły badawcze w tym samym czasie.

Podział MMP na podgrupy dokonywany jest głównie w oparciu o swoistość substratową, a także różnice w strukturze czwartorzędowej łańcucha białkowego. Istnieje pewna dowolność w nazewnictwie tej grupy enzymów. Wyróżnić można sześć głównych klas matryksyn. Należą do nich: kolagenazy, żelatynazy, stromielizyny, matrylizyny, błonowe MMP oraz MMP niesklasyfikowane (Tab. 1).

Tab. 1. Metaloproteiny wykryte w organizmach kręgowców [21, 35].

Tab. 1. Metalloproteinases find in vertebrates [21, 35].

Grupa	MMP	Nazwa zwyczajowa	Substraty
1. Kolagenazy	MMP – 1	Kolagenaza – 1	Kolagen I, II, III, VII, VIII, X, żelatyna
	MMP – 8	Kolagenaza – 2	Kolagen I, II, III, VII, VIII, X, żelatyna, agrekan
	MMP – 13	Kolagenaza – 3	Kolagen I, II, III, IV, IX, X, XIV, żelatyna
2. Żelatynazy	MMP – 2	Żelatynaza A	Żelatyna, kolagen I, II, III, IV, VII, X
	MMP – 9	Żelatynaza B	Żelatyna, kolagen IV, V
3. Stromielizyny	MMP – 3	Stromielizyna – 1	Kolagen II, IV, IX, X, XI, żelatyna
	MMP – 10	Stromielizyna – 2	Kolagen IV, laminina, fibronektyna, elastyna
	MMP – 11	Stromielizyna – 3	Kolagen IV, laminina, fibronektyna, agrekan

4. Matrylizyny	MMP – 7	Matrylizyna – 1	Fibronektyna, laminina, kolagen IV, żelatyna
	MMP – 26	Matrylizyna – 2	Fibrynogem fibronektyna, żelatyna
5. Błonowe MMP	MMP – 14	MT1 – MMP	Żelatyna, fibronektyna, laminina
	MMP – 15	MT2 – MMP	Żelatyna, fibronektyna, laminina
	MMP – 16	MT3 – MMP	Żelatyna, fibronektyna, laminina
	MMP – 17	MT4 – MMP	Fibrynogem, fibryna
	MMP – 24	MT5 – MMP	Żelatyna, fibronektyna, laminina
	MMP – 25	MT6 – MMP	Żelatyna
6. Inne	MMP – 12	Metaloelastaza makrofagów	Elastyna, fibronektyna, kolagen IV
	MMP – 19	RASI	Agrekan, elastyna, fibrylina, kolagen IV, żelatyna
	MMP – 20	Enamelizyna	Agrekan
	MMP – 21	XMMP	Agrekan
	MMP – 23	Brak nazwy	Żelatyna, kazeina, fibronektyna
	MMP – 27	CMMP	Substrat nieznan
	MMP – 28	Epilizyna	Substrat nieznan

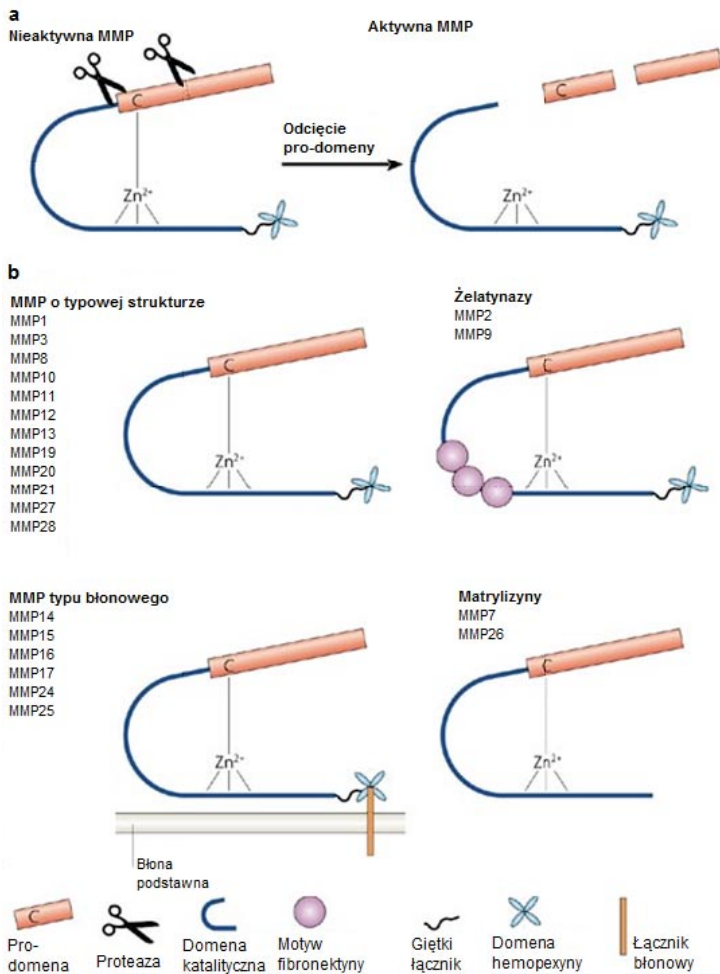
MMP, podobnie jak pozostałe trzy grupy endopeptydaz zależnych od metali, wchodzących w skład metzincyn, wykazują dwie podstawowe cechy strukturalne: konserwatywny motyw sekwencyjny aminokwasów (HEXXHXXGXXH), który zawiera trzy reszty histydylowe wiążące jon cynku w centrum aktywnym oraz motyw „Met-turn”, umiejscowiony poniżej miejsca wiązania katalitycznego cynku i odpowiedzialny za właściwą strukturę wokół tego jonu.

Metaloproteinazy są enzymami o budowie wielodomenowej, zbudowanymi co najmniej z jednej prodomeny i domeny katalitycznej. Dodatkowo występować może domena hemopokesyny (globulina wiążąca hem i jego pochodne) oraz domena łącząca domenę katalityczną z domeną hemopeksyny, tzw. elastyczny łącznik (Ryc. 1).

Z wyjątkiem metaloproteinaz typu błonowego (MT – MMP), MMP syntetyzowane są w komórkach w postaci preproenzymów i uwalniane do przestrzeni zewnątrzkomórkowej jako proenzymy.

W warunkach fizjologicznych aktywność MMP jest regulowana na kilku poziomach:

- 1) stymulacji transkrypcji genów poprzez cytokiny, czynniki wzrostu,
- 2) aktywacji proenzymów pod wpływem enzymów proteolitycznych, jonów metali, plazminy, oksydantów, detergentów,
- 3) poprzez endogenne inhibitory z rodziny tkankowych inhibitorów metaloprotein (TIMP) oraz inhibitory proteaz serynowych.



Ryc. 1. Schemat budowy klas MMP. Zmodyfikowano na podstawie A. Page-McCaw, A.J. Ewald and Z. Werb, Nat. Rev. Mol. Cell Biol., 2007, 8: 221–233.

Fig. 1. The schematic structure of MMP class. According by A. Page-McCaw, A.J. Ewald and Z. Werb, Nat. Rev. Mol. Cell Biol., 2007, 8: 221–233, with modification.

Aktywacja metaloproteinaz macierzy zachodzi wskutek odcięcia prodomeny i odsłonięcia miejsca aktywnego. Proces, w czasie którego dochodzi do rozerwania wiązania między grupą tiolową cysteiny i atomem cynku, co prowadzi do zmiany konformacji cząsteczki MMP, określany jest mianem przełącznika cysteinowego. Wykazano, że do pełnej aktywacji enzymu konieczna jest obecność jonów wapnia [26, 38]. Zarówno w osoczu, jak i w tkankach istnieją mechanizmy ściśle regulujące aktywność MMP.

Proces syntezy MMP podlega ścisłej kontroli i wymaga współdziałania różnorodnych czynników. Wydzielanie MMP jest pobudzane przez naskórkowy czynnik

wzrostu (EGF – *epidermal growth factor*), śródbłonkowy czynnik wzrostu (VEGF – *vascular-endothelial growth factor*) czynnik martwicy nowotworu (TNF – *tumor necrosis factor*), interleukinę 1, (IL-1), a hamowany przede wszystkim przez hormony steroidowe oraz transformujący czynnik wzrostu beta (TGF- β – *transforming growth factor-beta*) [27, 28].

Obecnie poznano również specyficzne tkankowe i niespecyficzne osoczowe inhibitory MMP. W tkankach aktywność MMP kontrolowana jest przez cztery tkankowe inhibitory metaloproteinaz (TIMP-1 do TIMP-4), które hamują aktywność wszystkich rodzajów metaloproteinaz. Mechanizm ich działania polega na hamowaniu aktywacji proenzymu lub też inaktywacji aktywnego enzymu poprzez tworzenie kompleksu TIMP-MMP [1]. Główne osoczowe, niespecyficzne inhibitory MMP to alfa2-makroglobulina oraz alfa1-antyproteaza [3, 4, 21, 32].

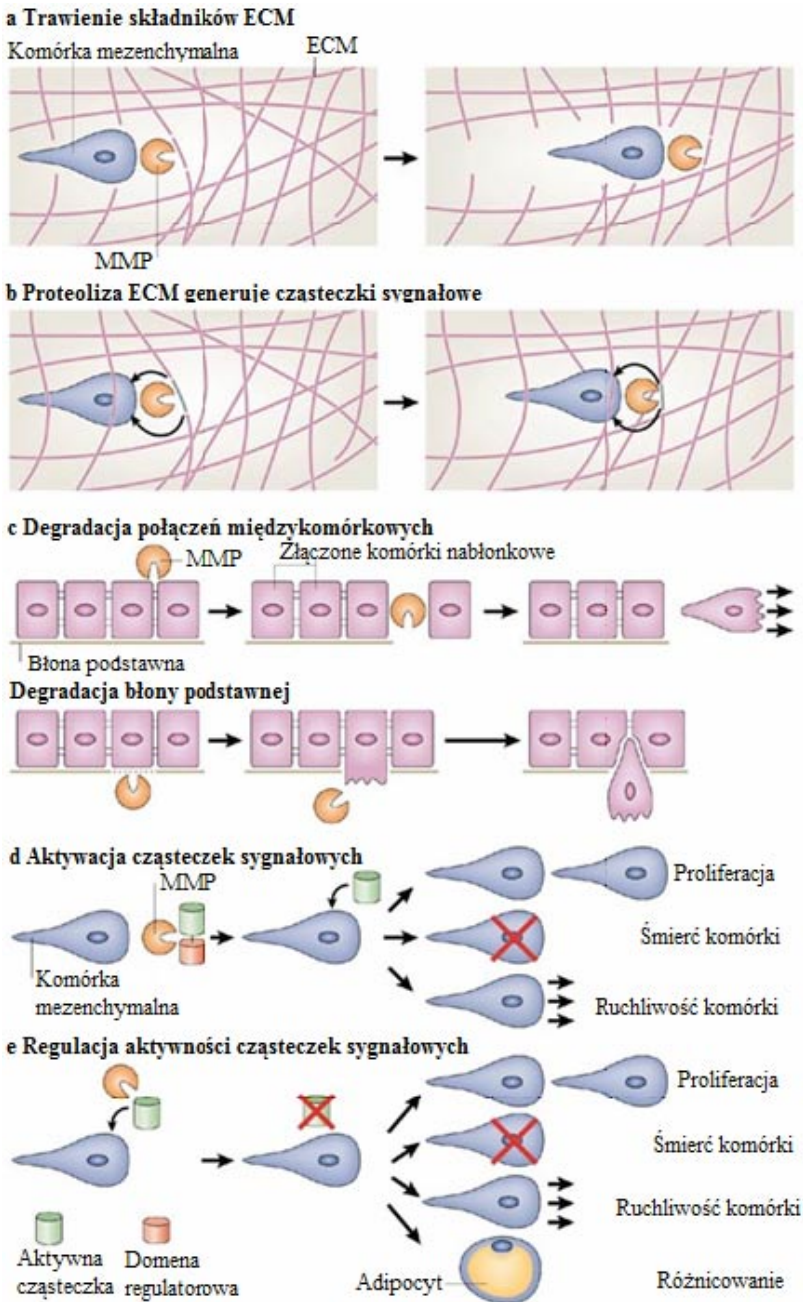
Wykazano również, że poza hamowaniem aktywności MMP, tkankowe inhibitory metaloproteinaz posiadają także inne właściwości biologiczne, np. TIMP-1 i TIMP-2 są promotorami wzrostu komórek oraz hamują apoptozę, natomiast TIMP-3 indukuje apoptozę [5].

Zasadniczą funkcją MMP jest trawienie enzymatyczne składników macierzy międzykomórkowej, takich jak składniki błon podstawnych, laminina i kolagen typu IV, a także podstawowe składniki macierzy: fibronektyna, kolagen, elastyna i proteoglikany [21, 33].

Wskutek degradacji komponentów macierzy międzykomórkowej, metaloproteiny zwiększają objętość „wolnej przestrzeni” dla komórek podścieliska. Poprzez niszczenie połączeń międzykomórkowych i struktury błon podstawnych MMP mogą bezpośrednio zmieniać mikroarchitekturę tkanek, a także funkcjonowanie komórek. Związane jest to z tym, że białka macierzy nie stanowią jedynie elementów strukturalnych, ponieważ za ich pośrednictwem komórki mogą odbierać sygnały ze środowiska. Białka macierzy międzykomórkowej pełnią również funkcję ligandów integrzyn, komórkowych receptorów adhezyjnych, a ponadto wiążą wiele cząsteczek sygnałowych obecnych w macierzy w postaci nieaktywnej (latentnej), takich np. jak czynniki wzrostu. Wykazano, że metaloproteiny mogą unieczynniać lub modyfikować działanie aktywnych cząsteczek sygnałowych, wpływając na ruchliwość komórek, ich zdolność do proliferacji i różnicowania, czy też skierowanie ich na szlak apoptozy. Dzięki zdolności do zmiany składu i strukturalnej organizacji macierzy międzykomórkowej MMP są zaangażowane we wszystkie z wymienionych procesów (Ryc. 2) [11, 16, 20].

Komórki nowotworowe wykorzystują proteazy tkankowe do tworzenia nacieku nowotworowego oraz do migracji podczas etapu tworzenia przerzutów. Komórki nowotworów złośliwych mogą same wytwarzać MMP lub pobudzać do ich wydzielania prawidłowe komórki organizmu takie jak fibroblasty, leukocyty lub makrofagi [13, 22, 40, 41].

Możliwość produkcji wielu MMP przez różne typy nowotworów złośliwych została dość dobrze udokumentowana. Stwierdzono wzmożoną ekspresję MMP1, MMP2,



Ryc. 2. Rola metaloproteinaz w procesach biologicznych organizmu. Zmodyfikowano na podstawie A. Page-McCaw, A.J. Ewald and Z. Werb, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2007; 8: 221–233.

Fig. 2. The role of metalloproteinases in biological processes. According by A. Page-McCaw, A.J. Ewald and Z. Werb, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2007; 8: 221–233, with modification.

MMP7, MMP9 w szeregu nowotworów złośliwych, takich jak rak trzustki, żołądka, płuca i jelita grubego [18, 19, 36]. W raku piersi i prostaty wykazano wzmożoną aktywację MMP2, MMP7, MMP9, a w raku przełyku MMP1, MMP2, MMP9 [9, 22, 23, 24, 29].

Na podstawie wielu badań potwierdzono rolę MMP w cięższym przebiegu choroby nowotworowej, który wynikał z szybszej progresji choroby, większym miejscowym zaawansowaniu i obecności przerzutów zarówno do węzłów chłonnych, jak i do innych narządów. W przypadku nowotworów złośliwych stwierdzenie zwiększonej aktywności MMP przekłada się na gorsze rokowanie, ale jednocześnie, paradoksalnie, może wskazywać na możliwość bardziej intensywnego leczenia chorych. Dzięki rozpowszechnieniu stosunkowo łatwych metod oznaczania aktywności MMP, ich wzmożona ekspresja w nacieku nowotworowym zaczyna być uważana z jednej strony za nowy czynnik prognostyczny, a z drugiej strony za czynnik monitorujący skuteczność terapii w przebiegu choroby. Wzrost aktywności MMP przemawia za wdrożeniem leczenia uzupełniającego w pośrednich stadiach zaawansowania choroby, np. podanie chemioterapii adjuwantowej w II stopniu zaawansowania raka jelita grubego [8, 17, 22, 25, 40]. Inne nowe możliwości terapeutyczne związane są z wykorzystaniem substancji, które zmniejszają poziom aktywnych MMP w tkankach nowotworowych. Dużą uwagę obecnie poświęca się związkom chelatowym, mającym zdolność wiązania atomów cynku i blokowania miejsca aktywnego MMP. Trwają zaawansowane badania nad związkami hydroksamatowymi, takimi jak batimastat (BB-94) i marimastat (BB2516) w terapii raka jelita grubego, płuc, prostaty i trzustki [30]. Inną grupą związków chelatowych są antybiotyki. W badaniach *in vitro* oraz *in vivo* wykazano, że doksycyklina i minocyklina dezaktywują MMP-1, MMP-2, MMP-12, a antybiotyki antracyklinowe hamują MMP-2 i MMP-9, degradujące kolagen typu IV, działając ochronnie na błonę podstawną naczyń krwionośnych [27]. Opisywano także zmniejszenie aktywności MMP w tkankach nowotworowych po zastosowaniu niesteroidowych leków przeciwpalnych, takich jak piroksydam, meloksydam, kwas acetylosalicylowy [12].

WNIOSKI

Przytoczone wstępne dane dotyczące wykorzystania właściwości biologicznych metaloproteinaz oraz związków hamujących ich aktywność w uzupełniającym leczeniu niektórych rodzajów nowotworów złośliwych wskazują na nowe, obiecujące drogi zwiększenia efektywności terapii przeciwnowotworowej, być może już w stosunkowo nieodległej przyszłości.

PIŚMIENNICTWO

1. Albini A., Melchiori A., Santi L., Liotta L.A., Brown P.D., Stetler-Stevenson W.G.: *Tumor cell invasion inhibited by TIMP-2*. J. Natl. Cancer Inst., 1991; 83: 775–779.
2. Ardi V.C., Kupriyanova T.A., Deryugina E.I., Quigley J.P.: *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.

3. Bogaczewicz J., Sysa-Jędrzejowska A., Woźniacka A.: *Rola metaloproteinaz macierzy w pierwotnych układowych zapaleniach naczyń*. Pol. Merk. Lek., 2008; 24: 140–146.
4. Brew K., Dinakarandian D., Nagase H.: *Tissue inhibitors of metalloproteinases: evolution, structure and function*. Biochem. Biophys., 2000; 1477: 267–283.
5. Cawston T.E., Mercer E.: *Preferential binding of collagenase to α 2-macroglobulin in the presence of the tissue inhibitor of metalloproteinases*. FEBS Lett., 1986; 209: 9–12.
6. Chambers A.F., Matrisian L.M.: *Changing views of the role of matrix metalloproteinases in metastasis*. J. Natl. Cancer Inst., 1997; 89: 1260–1270.
7. Chandler S., Coates R., Gearing A.: *Matrix metalloproteinases degrade myelin basic protein*. Neurosci. Lett., 1995; 201: 223–226.
8. Fang Y.J., Lu Z.H., Wang G.Q., Pan Z.Z., Zhou Z.W., Yun J.P., Zhang M.F., Wan D.S.: *Elevated expressions of MMP7, TROP2, and survivin are associated with survival, disease recurrence, and liver metastasis of colon cancer*. Int. J. Colorectal Dis., 2009; 24: 875–884.
9. Fingleton B.M., Heppner Goss K.J., Crawford H.C., Matrisian L.M.: *Matrilysin in early stage intestinal tumorigenesis*. APMIS, 1999; 107: 102–110.
10. Frączek M.: *Chirurgia nowotworów*. Alfa Medica Press, 2003: 287–313.
11. French-Constant C., Colognato H.: *Integrins: versatile integrators of extracellular signals*. Trends Cell Biol., 2004; 14: 678–686.
12. Greenwald R.A.: *Thirty-six years in the clinic without an MMP inhibitor*. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1999; 878: 413–419.
13. Grębecka L.: *Migracja komórek nowotworowych w organizmie*. Kosmos, 1995; 44: 405–436.
14. Gross J., Lapierre C.M.: *Collagenolytic activity in amphibian tissues: a tissue culture assay*. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 1962; 48: 1014–1022.
15. Hoshino M., Nakamura Y., Sim J., Shimojo J., Isogai S.: *Bronchial subepithelial fibrosis and expression of matrix metalloproteinase-9 in asthmatic airway inflammation*. J. Allergy Clin. Immunol., 1998; 102:783–788.
16. Hrabec E., Naduk J., Stręk M., Hrabec Z.: *Kolagenazy typu IV (MMP-2 i MMP-9) i ich substraty – białka macierzy pozakomórkowej, hormony, cytokiny, chemokiny i ich receptory*. Postępy Biochem., 2007; 53: 37–45.
17. Inafuku Y., Furuhashi T., Tayama M., Okita K., Nishidate T., Mizuguchi T., Kimura Y., Hirata K.: *Matrix metalloproteinase-2 expression in stromal tissues is a consistent prognostic factor in stage II colon cancer*. Cancer Sci., 2009; 100: 852–858.
18. Islekel H., Oktay G., Terzi C., Canda A.E., Fuzun M., Kupelioglu A.: *Matrix metalloproteinase-9, -3 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 in colorectal cancer: relationship to clinicopathological variables*. Cell Biochem. Funct., 2007; 25: 433–441.
19. Joo Y.E., Seo K.S., Kim J., Kim H.S., Rew J.S., Park C.S., Kim S.J.: *Role of tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs) in colorectal carcinoma*. J. Korean Med. Sci., 1999; 14: 417–423.
20. Kresse H., Schönherr E.: *Proteoglycans of the extracellular matrix and growth control*. J. Cell Physiol., 2001; 189: 266–274.
21. Lipka D., Boratyński J.: *Metaloproteinazy MMP. Struktura i funkcja*. Postępy Hig. Med. Dośw., 2008; 62: 328–336.
22. Łapka A., Goździalska A., Jaśkiewicz J.: *Rola metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej w nowotworach piersi, ze szczególnym uwzględnieniem roli żelatynazy A i żelatynazy B*. Postępy Biologii Komórki, 2006; 33: 683–695.
23. Łukaszewicz M., Mroczko B., Szmitkowski M.: *Rola metaloproteinaz i ich inhibitorów w raku trzustki*. Postępy Hig. Med. Dośw., 2008; 62: 141–147.
24. Matrisian L.M., Wright J., Newell K., Witty J.P.: *Matrix-degrading metalloproteinases in tumor progression*. Princess Takamatsu Symp., 1994; 24: 152–161.
25. Moller S.N., Vejgaard S.I., Ornbjerg W.S., Schroll A.S., Dowell B., Davis G., Jarle C.I., Nielsen H.J., Brunner N.: *Biology and potential clinical implications of tissue inhibitor of metalloproteinases-1 in colorectal cancer treatment*. Scand. J. Gastroenterol., 2008; 43: 774–786.

26. Nabeshima K., Inoue T., Shimao Y., Sameshima T.: *Matrix metalloproteinases in tumor invasion: role for cell migration*. *Pathol. Int.*, 2002; 52: 255–264.
27. Nagase H.: *Activation mechanisms of matrix metalloproteinases*. *Biol. Chem.*, 1997; 378: 151–160.
28. Nagase H., Woessner J.F. Jr.: *Matrix metalloproteinases*. *J. Biol. Chem.*, 1999; 274: 21491–21494.
29. Newell K.J., Witty J.P., Rodgers W.H.: *Matrisian L.M.: Expression and localization of matrix-degrading metalloproteinases during colorectal tumorigenesis*. *Mol. Carcinog.*, 1994; 10: 199–206.
30. Patten L.C., Berger D.H.: *Role of proteases in pancreatic carcinoma*. *World J. Surg.*, 2005; 29: 258–263.
31. Radzikowski C., Opolski A., Wietrzyk J.: *Postęp w badaniach procesu inwazyjnego i przerzutowania*. *Nowotwory – Journal of Oncology*, 2002; 53: 57–65.
32. Ritter L.M., Garfield S.H., Thorgeirsson U.P.: *Tissue inhibitor of metalloproteinases-1 (TIMP-1) binds to the cell surface and translocates to the nucleus of human MCF-7 breast carcinoma cells*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1999; 257: 494–499.
33. Shields S. E., Ogilvie D. J., McKinnell R. G., Tarin D.: *Degradation of basement membrane collagens by metalloproteases released by human, murine and amphibian tumours*. *J. Pathol.*, 2005; 143: 193–197.
34. Siwowska I., Kopczyński Z.: *Metalloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej – charakterystyka biochemiczna i kliniczna wartość oznaczania u chorych na raka piersi*. *Wsp. Onkol.*, 2005; 9: 327–335.
35. Snoek-van Beurden Patricia A.M., Von den Hoff J.: *Zymographic techniques for the analysis of matrix metalloproteinases and their inhibitors*. *BioTechniques*, 2005; 38: 73–83.
36. Sorensen N.M., Bystrom P., Christensen I.J., Berglund A., Nielsen H.J., Brunner N., Glimelius B.: *TIMP-1 is significantly associated with objective response and survival in metastatic colorectal cancer patients receiving combination of irinotecan, 5-fluorouracil, and folinic acid*. *Clin. Cancer Res.*, 2007; 13: 4117–4122.
37. Stocker W., Grams F., Baumann U., Reinemer P., Gomis-Ruth F.X., McKay D.B., Bode W.: *The metzincins - topological and sequential relations between the astacins, adamalysins, serralysins, and matrixins (collagenases) define a superfamily of zinc-peptidases*. *Protein Science*, 1995; 4: 823–840.
38. Van Wart H., Birkedal-Hansen H.: *The cysteine switch: a principle of regulation of metalloproteinase activity with potential applicability to the entire matrix metalloproteinase gene family*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1990; 87: 5578–5582.
39. Van Saun M.N., Matrisian L.M.: *Matrix metalloproteinases and cellular motility in development and disease*. *Birth Defects Res. C. Embryo*, 2006; 78: 69–79.
40. Wideł M.S., Wideł M.: *Mechanizmy przerzutowania i molekularne markery progresji nowotworów złośliwych. Rak jelita grubego*. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 2006; 60: 453–470.
41. Zhang Y.W., Deng H., Chen P.S., Chen L.L.: *Increased expression of extracellular matrix metalloproteinase inducer through interaction between fibroblasts and colonic cancer cells*. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi*, 2007; 36: 764–767.