

## TIMP WAY TO STOP METASTASIS?

Robert Chudzik MD<sup>1</sup>, Katarzyna Jarosz<sup>2</sup>, Maria Gołębiowska<sup>3</sup>,  
Beata Gołębiowska MD PhD<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Independent Public Clinical Hospital No 4 in Lublin

<sup>2</sup>Student, II Faculty of Medicine, Medical University of Lublin

<sup>3</sup>Student, I Faculty of Medicine, Medical University of Lublin

<sup>4</sup>Pediatric Neurology Department, Medical University of Lublin

### Abstract

Matrix metalloproteinases (MMPs) are both structural and catalytic proteolytic enzymes. Many MMPs have already been described, each of which is responsible for the distribution and reconstruction of the matrix element. They are the only ones capable of decomposing type IV collagen, which is the skeleton of the basal membrane. They have physiological effects such as scar formation, cyclic endometrial changes, and inflammatory cell migration. Their negative side is the formation of aneurysm, or the enable of tumor infiltration and the formation of distant metastases. They have their own tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs).

The aim of the study is to show to the essence of the issue: acquaintance with current research and development directions as well as threats.

Numerous studies point to the huge potential of TIMP and substances regulate expression of MMP and TIMP in the prevention of metastatic disease. Available studies indicate potential use in f. ex. lung cancer, retinoblastoma, bladder cancer, ovarian cancer, and other diseases (cardiovascular, respiratory). Also, it seems possible to use them as a diagnostic marker. However, due to their lack of specificity and wide range of activity, may

have many sides effects. More research is needed to look for TIMPs that specifically target specific MMPs.

**Keywords: MeSH: TIMP, MMP, Cancer, Metastasis**

## **TIMP SPOSOBEM NA ZATRZYMANIE PRZERZUTÓW ?**

**Lek. Robert Chudzik<sup>1</sup>, Katarzyna Jarosz<sup>2</sup>, Maria Gołębiowska<sup>3</sup>,**

**Dr n. med. Beata Gołębiowska<sup>4</sup>**

**<sup>1</sup>Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny nr 4 w Lublinie**

**<sup>2</sup>Student, II Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny w Lublinie**

**<sup>3</sup>Student, I Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny w Lublinie**

**<sup>4</sup>Katedra i Klinika Neurologii Dziecięcej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie**

### **Abstrakt**

Metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej (MMP) to enzymy proteolityczne pełniące rolę zarówno strukturalną jak i katalityczną. Opisano już wiele MMP, każda z nich odpowiada za rozkład i przebudowę elementu macierzy. Jako jedyne potrafią rozkładać kolagen typu IV, który stanowi szkielet błony podstawnej naczyń. Mają swoje działanie fizjologiczne jak tworzenie blizn, umożliwienie cyklicznych zmian endometrium, a także migrację komórek odpowiedzi zapalnej. Ich negatywną stroną jest tworzenie tętniaków, czy umożliwianie naciekania nowotworów i tworzenia przez nich odległych przerzutów. Posiadają one swoje tkankowe inhibitory odpowiadające za regulację tego procesu (*tissue inhibitors of metalloproteinases – TIMP*).

Celem pracy jest zwrócenie uwagi na istotę zagadnienia: zapoznanie z aktualnymi badaniami i kierunkami rozwoju, a także z zagrożeniami.

Liczne badania wskazują na ogromny potencjał samych TIMP, jak i substancji działającym za pośrednictwem regulacji ekspresji MMP i TIMP w zapobieganiu przerzutom chorób nowotworowych. Dostępne badania wskazują na potencjalne zastosowanie w m. in. raku płuca, siatkówczaku, raku pęcherza moczowego, raku jajnika, a także inne chorób (układy krążenia, oddechowego). Również możliwe wydaje się ich zastosowanie jako markera diagnostycznego. Jednak ze względu na ich brak specyficzności i szeroki zakres

działania niebezpiecznym pozostają efekty uboczne. Potrzebne są dalsze badania w celu poszukiwania TIMP o specyficznym działaniu na poszczególne MMP.

**Słowa kluczowe: MeSH: TIMP, MMP, rak, przerzuty**

Metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej (MMP) nazywane również kolagenazami lub matryksynami są to enzymy proteolityczne z grupy metalozależnych endopeptydaz. Związane są one z atomem cynku (Zn), który pełni rolę zarówno strukturalną, jak i katalityczną. Każdy z nich (a opisano ich już ponad 20) jest w stanie rozkładać i przebudowywać jakiś element macierzy. Dotyczy to między innymi: fibronektyny, witronektyny, lamininy, entacyny, agrecanu. Jako jedyny enzym są w stanie rozkładać kolagen typu IV stanowiący szkielet błony podstawnej naczyń. [1] Proces ten jest zarówno fizjologicznie korzystny – dzięki temu nasz organizm ma możliwość tworzenia tkanki podporowej dla wszystkich narządów wewnętrznych, komórki odpowiedzi zapalnej mają możliwość migracji, umożliwia to również gojenie się ran i tworzenie blizn. Ponadto warunkują one cykliczne zmiany endometrium oraz te zachodzące w ciąży, porodu i porożu. Regulują także czynność płytek krwi, metabolizm jonu chlorkowego w komórkach nabłonkowych dróg oddechowych. [2,3] Poziom poszczególnych MMP w połączeniu z innymi parametrami, może posłużyć jako marker np. w przypadku raka jajnika. [4] Niestety możemy również dostrzec patologiczne efekty działalności tych enzymów jak choćby powstawanie tętniaków. Ich negatywne działanie możemy dostrzec również w: chorobach autoimmunologicznych, chorobie alzheimera, stwardnieniu rozsianym, stwardnieniu zanikowym bocznym, szpiczaku mnogim, czerniaku złośliwym czy też marskości wątroby. [1] Jednak w niniejszym opracowaniu autorzy pragną zwrócić uwagę na udział MMP w przebudowie błony podstawnej naczyń czego efektem jest powstawanie przerzutów odległych w chorobie nowotworowej. [5]

MMP syntetyzowane są w komórkach w postaci preproenzymu i uwalniane do przestrzeni zewnątrzkomórkowej w postaci proenzymu. Aktywne są w obecności jonów wapnia oraz Ph obojętnym bądź lekko zasadowym. Pomimo swojej szerokiej aktywności i zastosowania, mają one również mechanizm inaktywowania, dzieje się to za pomocą tkankowych inhibitorów metaloproteinaz (*tissue inhibitors of metalloproteinases* – TIMP). [1] W niniejszym opracowaniu autorzy pragną zwrócić uwagę na istotność tego zagadnienia, a szczególności na potencjalną rolę jaką TIMP mogą odegrać w leczeniu przeciwnowotworowym – w szczególności zaś zdolności ograniczenia zdolności do przerzutów. [6] Cel ten wydają się

tym bardziej istotny, w kontekście jednej z głównych cech nowotworów złośliwych – zdolności do tworzenia odległych przerzutów.

Ograniczenie tego niekorzystnego zjawiska pozwoliłoby na zatrzymaniu postępu choroby na niższym poziomie zaawansowania klinicznego TNM, likwidując cechę M. W części przypadków pozwoliłoby to na radykalne leczenie operacyjne, które istotnie zwiększa szanse pacjentów na przeżycie.

Aktywność MMP jest regulowana w wielu mechanizmach, między innymi poprzez ekspresję genów, translację, aktywację proenzymów. Możemy tutaj wyróżnić czynniki wzrostu, cytokiny, estry forbolu oraz onkogeny, które indukują ekspresję protoonkogenów *ras* i *jun*, trypsynę wydzielaną przez komórki nowotworowe, czy też same aktywne formy MMP.

Aktywność regulowana jest ponadto przez wcześniej wspomniane inhibitory tkankowe metaloproteinaz, możemy tutaj wyróżnić: rozpuszczalną glikoproteinę - TIMP1, rozpuszczalne białko - TIMP2, TIMP3, TIMP4. Mają one istotną rolę w procesie regulacji i równowagi między syntezą, a degradacją macierzy zewnątrzkomórkowej. [1] Oprócz specyficznych inhibitorów, istnieje także niespecyficzny, naturalny -  $\alpha$ 2-makroglobulin. Jednak budowa cząsteczki ogranicza jej pozanacyniową penetrację. [7]

Ponadto syntezę metaloproteinaz hamują również cytokiny przeciwzapalne, dexametazon, indometacyna czy też antybiotyki z grupy tetracyklin (np. doksycyklina). [6]

W naciekaniu nowotworu i procesie powstawania przerzutów odległych istotną rolę odgrywa migracja komórek nowotworowych, a także obecność stanu zapalnego, w świetle badań *In vivo* MMP uczestniczą również w procesie regulacji stanu zapalnego. [8] Warunkiem niezbędnym, aby proces ten miał miejsce jest degradacja macierzy zewnątrzkomórkowej poprzez działanie metaloproteinaz. Migracja komórek nowotworowych może być wzmożona poprzez nadekspresję MMP, podczas gdy nadekspresja TIMP lub zastosowanie inhibitorów MMP powoduje zmniejszenie migracji.

Aby umożliwić rozwój nowotworu i powstawanie odległych przerzutów niezbędny jest proces angiogenezy, czyli tworzenie nowych naczyń krwionośnych. [5] Wykazano, że nowotwór bez nowopowstałych naczyń krwionośnych może osiągnąć średnicę ok. 1–2 mm, natomiast do dalszego rozrostu miejscowego i przerzutowania potrzebuje składników odżywczych dostarczanych przez naczynia krwionośne. Angiogeneza jest ściśle regulowana przez układ stymulatorów i inhibitorów, a rozpoczyna się od uwolnienia proteaz rozkładających błonę podstawną oraz macierz zewnątrzkomórkową. Następnie dochodzi do migracji komórek śródbłonnka do przestrzeni okołonacyniowej oraz ich proliferacji. Namnażające się komórki śródbłonnka tworzą nowe naczynia krwionośne.

W procesie angiogenezy metaloproteinazy uczestniczą w przebudowie macierzy zewnątrzkomórkowej i procesie przechodzenia komórek nowotworowych przez bariery macierzy zewnątrzkomórkowej. Kontrolują one aktywność czynników biorących udział we wzroście komórek śródbłonkowych, ich różnicowaniu i apoptozie, wpływają na wydzielanie lub aktywację czynników proangiogennych. [1]

Kolejne badania pokazują coraz to szersze zastosowanie TIMP. Najnowsze z nich dowiodły, że zastosowanie w hodowli komórkowej raka prostaty, mezenchymalnych komórek macierzystych pępowiny poprzez wydzielanie TIMP zmniejsza ich proliferację. [9] Również w przypadku raka płuca – gruczolakoraka – w badaniach na liniach komórkowych jego inwazyjność zmalała po zastosowaniu Allicyny, która zwiększa ekspresję TIMP. [10] Badania in vivo nad siatkówczakiem również potwierdziły, że zastosowanie inhibitorów MMP-2 i MMP-9 zmniejszyło potencjał nowotworu do tworzenia przerzutów. [11]

Także, w przypadku raka piersi i szyjki macicy, autorzy zwracają uwagę, że zastosowanie specyficznych TIMP przeciwko konkretnym MMP może przynieść korzystny efekt terapeutyczny. [12]

Kolejnym przykładem jest zmniejszenie przerzutowania chrząstniakomięsa do płuc dzięki zastosowaniu Sfingozyny, która zwiększa ekspresję TIMP-3. [13]

Wiele innych przykładów możemy odnaleźć w najnowszych publikowanych badaniach.

Dodatkowo należy podkreślić, że potencjalne zastosowanie TIMP nie ogranicza się tylko do chorób nowotworowych. Możemy dostrzec ich korzystny efekt również w chorobach kardiologicznych takich jak zawał serca, gdzie poprawiają funkcję serca i zapobiegają degradacji macierzy zewnątrzkomórkowej serca. [14] Czy też w przypadku układu oddechowego, gdzie na modelu zwierzęcym ograniczały rozwój rozedmy, co może w przyszłości okazać się lekiem w przypadku POChP. [15]

Podsumowując, możemy dostrzec intensyfikację badań nad zastosowaniem specyficznych TIMP czy też preparatów zwiększających jego ekspresję. Jest to zagadnienie stosunkowo nowe, lecz na podstawie aktualnie dostępnej literatury można prognozować jego dalszy rozwój.

Jednakże nie możemy również zapomnieć o pewnych wątpliwościach. Większość TIMP ma szerokie spektrum działania na liczne MMP przez co może powodować liczne niepożądane efekty uboczne. Potrzebne są dalsze badania, które pozwolą rozwiązać te wątpliwości, a także stworzyć bardziej selektywne TIMP, które pozwolą oddziaływać na konkretne MMP i idące za nimi schorzenia. [6]

## References:

1. Matrix metalloproteinases – biochemical characteristics and clinical value determination in breast cancer patients Izabela Śliwowska, Zygmunt Kopczyński *Współ Onkol* (2005) vol. 9; 8 (327–335)
2. Localization and translocation of MMP-2 during aggregation of human platelets. Sawicki G, Sanders EJ, Salas E, Wozniak M, Rodrigo J, Radomski MW. *Thromb Haemost.* 1998 Nov;80(5):836-9.
3. Release of gelatinase A during platelet activation mediates aggregation. Sawicki G, Salas E, Murat J, Miszta-Lane H, Radomski MW. *Nature.* 1997 Apr 10;386(6625):616-9.
4. Plasma levels of MMP-7 and TIMP-1 in laboratory diagnostics and differentiation of selected histological types of epithelial ovarian cancers. Będkowska GE, Gacuta E, Zajkowska M, Głazewska EK, Osada J, Szmitkowski M, Chrostek L, Dąbrowska M, Ławicki S. *J Ovarian Res.* 2017 Jun 29;10(1):39. doi: 10.1186/s13048-017-0338-z.
5. The Role of Angiogenesis in Cancer Treatment. Rajabi M, Mousa SA. *Biomedicines.* 2017 Jun 21;5(2). pii: E34. doi: 10.3390/biomedicines5020034. Review.
6. Matrix Metalloproteinase Inhibitors as Investigational and Therapeutic Tools in Unrestrained Tissue Remodeling and Pathological Disorders. Liu J, Khalil RA. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2017;148:355-420. doi: 10.1016/bs.pmbts.2017.04.003. Epub 2017 May 10
7. Interaction of alpha 2-macroglobulin with matrix metalloproteinases and its use for identification of their active forms. Nagase H, Itoh Y, Binner S. *Ann N Y Acad Sci.* 1994 Sep 6;732:294-302. Review. No abstract available.
8. Matrix metalloproteinases in inflammation. Nissinen L, Kähäri VM. *Biochim Biophys Acta.* 2014 Aug;1840(8):2571-80. doi: 10.1016/j.bbagen.2014.03.007. Epub 2014 Mar 14. Review.
9. [The Inhibitory Effect and Mechanism of Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells on Prostate Cancer Metastasis]. Wu YJ, Wei Q, Nie M, Yin Y, Xi Y. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* 2017 Jul;48(4):543-548. Chinese.
10. Allicin inhibits the invasion of lung adenocarcinoma cells by altering tissue inhibitor of metalloproteinase/matrix metalloproteinase balance via reducing the activity of phosphoinositide 3-kinase/AKT signaling. Huang L, Song Y, Lian J, Wang Z. *Oncol Lett.* 2017 Jul;14(1):468-474. doi: 10.3892/ol.2017.6129. Epub 2017 May 5.
11. Inhibition of MMP-2 and MMP-9 decreases cellular migration, and angiogenesis in in vitro models of retinoblastoma. Webb AH, Gao BT, Goldsmith ZK,

Irvine AS, Saleh N, Lee RP, Lendermon JB, Bheemreddy R, Zhang Q, Brennan RC, Johnson D, Steinle JJ, Wilson MW, Morales-Tirado VM. *BMC Cancer*. 2017 Jun 20;17(1):434. doi: 10.1186/s12885-017-3418-y.

12. Ezrin-Radixin-Moesin Binding Phosphoprotein 50 (EBP50) Suppresses the Metastasis of Breast Cancer and HeLa Cells by Inhibiting Matrix Metalloproteinase-2 Activity. Wang L, Qi Y, Xiong Y, Peng Z, Ma Q, Zhang Y, Song J, Zheng J. *Anticancer Res*. 2017 Aug;37(8):4353-4360.

13. Shingosine-1-phosphate suppresses chondrosarcoma metastasis by up-regulation of tissue inhibitor of metalloproteinase-3 through suppressing miR-101 expression. Tsai CH, Yang DY, Lin CY, Chen TM, Tang CH, Huang YL. *Mol Oncol*. 2017 Jul 3. doi: 10.1002/1878-0261.12106.

14. Sustained Release of a Peptide-based Matrix Metalloproteinase-2 Inhibitor to Attenuate Adverse Cardiac Remodeling and Improve Cardiac Function Following Myocardial Infarction. Fan Z, Fu M, Xu Z, Zhang B, Li Z, Li H, Zhou X, Liu X, Duan Y, Lin PH, Duann P, Xie X, Ma J, Liu Z, Guan J. *Biomacromolecules*. 2017 Jul 21. doi: 10.1021/acs.biomac.7b00760.

15. Protective effect of Galectin-9 in murine model of lung emphysema: Involvement of neutrophil migration and MMP-9 production. Horio Y, Ichiyasu H, Kojima K, Saita N, Migiyama Y, Iriki T, Fujii K, Niki T, Hirashima M, Kohrogi H. *PLoS One*. 2017 Jul 12;12(7):e0180742. doi: 10.1371/journal.pone.0180742. eCollection 2017.