

# Matriks Metalloproteinazlar ve Kanser

Müfide Öncel

Beyhekim Devlet Hastanesi Biyokimya  
Laboratuvarı, Konya.

*Eur J Basic Med Sci* 2012;2(3): 91-100

Received: 13-07-2012

Accepted: 19-07-2012

## Matrix Metalloproteinases and Cancer

### ABSTRACT

Extracellular proteolysis involves in tissue homeostasis. However in cancer, accelerating proteolysis leads to unregulated tumor growth, inflammation, tissue invasion, and metastasis. Matrix metalloproteinases represent the most prominent subclass of proteinases associated with tumorigenesis. In recent years by means of technological developments the roles of matrix metalloproteinases in development of tumorigenesis have been evaluated. Thus, matrix metalloproteinases have become critical therapeutic and diagnostic targets due to their roles in tumorigenesis.

**Key words:** Matrix metalloproteinases, cancer, cancer therapy

### ÖZET

Ekstrasellüler matriks parçalanması, doku hemostazisinde yer alan bir olaydır. Ancak kanserde artan proteoliz; kanserin düzensiz bir şekilde büyümesi, inflamasyon, doku invazyon ve metastazı gibi olaylara neden olur. Matriks metalloproteinazlar, kanser gelişimi ile ilişkili olan proteinazların en önemli alt sınıfını oluştururlar. Son zamanlarda teknolojik gelişmelerin matriks metalloproteinazların kanser gelişimindeki rollerini anlamamıza büyük katkısı olmuştur. Matriks metalloproteinazlar kanser gelişimindeki bu rollerinden dolayı kanser teşhis ve tedavisinde önemli bir hedef haline gelmişlerdir.

**Anahtar kelimeler:** Matriks metalloproteinazlar, kanser, kanser tedavisi

**Correspondence (Yazışma Adresi):**  
Müfide Öncel  
Beyhekim Devlet Hastanesi Biyokimya Lab.  
Konya  
Tel:0 505 4431997  
e-mail: oncel33@hotmail.com

## GİRİŞ

Kanser, çevresel faktörlerin etkisi ile hücrelerin, DNA'sında ve kromozomların fonksiyonel birimleri olan genlerde oluşturduğu değişiklikler sonucu kontrolsüz olarak bölünmeye başlamasıdır. Kanser ortaya çıkabilmesi için yalnızca kontrolsüz çoğalma yeterli değildir. Hücrenin invazyon ve metastaz gibi diğer malign özellikleri de kazanması gerekmektedir (1). Tümör invazyon ve metastazında anahtar moleküllerden biri ekstrasellüler matriks (ESM) elemanlarıdır (2). ESM, proteinleri ve proteoglikanları içeren, organizmalara sadece yapısal destek sağlamakla kalmayıp aynı zamanda hücre proliferasyonu, farklılaşması ve migrasyonu ile yapışma, doku morfogenezisi gibi pekçok biyolojik aktivitede etkisi olan karmaşık ve dinamik bir oluşumdur. ESM, tümör dokusunun büyümesi ve tümör hücresinin yayılımını önlemek için primer bir bariyer olarak görev yapar. Kanser hücreleri, bu bariyeri aşmak için metalloproteinazları kullanırlar (3-6). Kanser invazyon ve metastaz yapması için ESM'in yıkılması gereklidir. Matriks metalloproteinazlar (MMP), yaklaşık 28 enzimden oluşan, fizyolojik ve patolojik doku yıkımında önemli rol oynayan ekstrasellüler proteazlardır (7). MMP aktivitesinin kontrolünde spesifik doku inhibitörleri (tissue inhibitor of matrix metalloproteinase, TIMP) anahtar rol oynarlar (8).

### **Matriks Metalloproteinazların Genel Özellikleri**

Ekstrasellüler matriks yıkımı, değişik fizyolojik ve patolojik durumlarda görülebilmektedir. ESM ve bazal membran yıkımı başlıca dört grup enzim tarafından gerçekleştirilir:

- 1- Sistein proteazlar
- 2- Aspartik proteazlar
- 3- Serin proteazlar
- 4- Metalloproteazlar

Bütün gruplardaki proteolitik enzimlerin tümör invazyonu ve metastaz süreçlerinde görev alabilmelerine karşın, serin proteazlardan MMPlerin daha aktif rol oynayabilecekleri ortaya konmuştur (9). MMPler, çinko içeren nötral endopeptidaz enzim ailesi olup, ESM'in tüm elemanlarını yıkmaya özelliğine sahiptirler. MMPler fetal gelişim, postnatal doku tamiri gibi fizyolojik durumlarda ve ESM'in yeniden yapılanmasında önemli rol üstlenirler. Periodontit, derinin otoimmün olayları, dermal foto-yaşlanma, romatoid artrit, osteoartrit ve kronik ülserasyonlar gibi patolojik durumlarda da ESM'in MMPler tarafından artmış yıkımı söz konusudur. Serum MMP seviyelerinde artışa yol açan en önemli patolo-

jilerden biri de kanserdir (10-14). Matriks metalloproteinazlar ilk defa 1962 yılında Jerome Gross ve Charles Lapiere tarafından tanımlanmıştır (15). Yapılarına ve substrat özgüllüklerine göre 5 alt grupta incelenebilirler:

- 1-Kollajenazlar
- 2-Stromelisinler
- 3-Jelatinazlar
- 4-Membran tipi MMPler (MT-MMP)
- 5-Sınıflandırmayan MMPler (10) (Tablo1)

### **Matriks Metalloproteinazların Yapısı**

Yapısal olarak incelendiğinde MMPler 5 ana kısımdan oluşur:

- 1-Sinyal peptit
- 2-Propeptit
- 3-Zn bağlayıcı bölge içeren katalizör kısım
- 4-Hemopeksin benzeri kısım (substrat spesifitesini belirler)
- 5-Katalizör kısmı hemopeksin benzeri kısma bağlayan prolinden zengin bölge (11).

MMPler çeşitli yapısal ortak özelliklere sahiptirler. Sinyal peptit endoplazmik retikulumdan ilk sentzlenen proteindir. Propeptit bölge, katalitik çinko bağlayan bölge ile etkileşerek enzimin inaktif formda kalmasını sağlayan bölgedir. Katalizör bölge propeptit bölgenin ayrılması ile yapısındaki çinko iyonları sayesinde enzim aktivitesini sağlayan bölgedir. MMP-7 ve MMP-26 dışındaki diğer MMPler C terminalinde hemopeksin/fibronektin benzeri bölge içerirler. Bu bölge aslında hem bağlayan bir peptiddir ve endojen doku inhibitörleri olan TIMPlerin jelatinaz grubu MMPlere (MMP-2, MMP-9) ve MMP-13'e bağlanması ile ilişkilidir (16).

### **Metalloproteinaz Doku İnhibitörleri (TIMP)**

Matriks metalloproteinazların proteolitik aktiviteleri hem spesifik olmayan ( $\alpha$ -2 makroglobilin,  $\alpha$ -1 antiproteaz gibi) hem de spesifik olan inhibitörler (TIMP) ile engellenebilir (10,17). TIMPler bağ dokusu metabolizmasının düzenlenmesinde temel rol oynarlar. Pek çok dokuda ve vücut sıvılarında bulunurlar. MMPlere irreversibl ve non-kovalent biçimde bağlanarak latent enzim formunun aktivasyonunu ve katalitik aktivitenin sürdürülmesini de inhibe ederler. Böylece TIMPler MMP enzim aktivitesini ve MMP/TIMP dengesini sıkı kontrol altında tutarlar. İnsanlarda TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3 ve TIMP-4 olmak üzere bugüne dek tanımlanmış dört TIMP türü bulunmaktadır. TIMPler de MMPler gibi vasküler düz kas

hücreleri, endotel hücreleri, kan hücreleri, bağ dokusu hücreleri ve makrofajlar tarafından sentez edilirler. TIMPler MMP aktivitesini inhibe etme yönünden benzerlik göstermekle beraber matriksteki lokalizasyonları ve gen ekspresyonunun düzenlenmesi yönünden aralarında farklar vardır. Ayrıca değişik MMP türlerine göre de özgülük gösterirler. Örneğin; Jelatinaz A (MMP-2) tercihen TIMP-2 ile Jelatinaz B (MMP-9) ise TIMP-1 ile inhibe edilir (16).

### **Matriks Metalloproteinazların Kanserdeki Rollerini**

Yaklaşık olarak 40 yıldır, kanserde MMPLerin rolleri araştırılmaktadır. Bu enzimler; metastaz ve invazyon, anjiyogenez, apoptozun engellenmesi, antitümör savunma mekanizmaları yoluyla kanser oluşum sürecinde yer almaları nedeni ile kanser araştırmaları için hedef konumuna gelmişlerdir (18,19). Şekil 1’de MMPLerin kanser gelişimde rol aldığı aşamalar ve bu aşamalarda hedef aldığı substratlar yan taraftaki kutucuklarda gösterilmiştir.

### **Hücre Ayrılması**

Hücre adhezyonu, dokunun hücrel organizasyonu için anahtar rol oynar. Adhezyon, hücrenin komşu hücreyle temasıyla hücre bölünmesinin sınırlandırılması olarak tanımlanan kontakt inhibisyon için gereklidir. Kanser gelişiminde, hücrel organizasyon ve kontakt inhibisyonun kaybı ana mekanizmalardan biridir (18).

Matriks metalloproteinazlar, hücrelerin hem diğer hücrelere, hem de ESM elemanlarına kontakt mekanizmalarını etkiler (19). Kadherin aracılı hücre-hücre etkileşimi de, MMPLer tarafından etkilenir. TIMP-1’in azalmış sentezi durumunda fibroblastlar tümorojenik özellik kazanır ve hücre-hücre, hücre- ESM kontakt inhibisyonu yetersiz hale gelir. MMP inhibitörleri ile tedavi sonucunda hücre-hücre etkileşimi için B kateninin ve fokal adhezyon kinazın artması fibroblastların normal fonksiyonuna dönmesi sağlar (20).

Kanser oluşumu boyunca, ana hücrel farklılaşma epitelyal mezenkimal değişimdir. Epitelyal mezenkimal değişimde epitelyal hücreler, mezenkimal ya da fibroblast benzeri hücrelere dönüşürler. Bu migrasyonun artışına neden olan ekstraselüler proteolitik aktivitenin artmasına neden olur (21). MMPLer epitelyal mezenkimal değişim için kadherinleri aracı olarak kullanırlar. MMP-3 ve MMP-7, E-kadherinin ayrılması ile epitelyal mezenkimal değişimi tetiklerler (22). Proteolitik süreçte E-kadherin parçası, hücre-hücre bağlantılarını ayırıyor

olabilir. Memeli epitelyum hücrelerinde hücre- hücre bağlantısında desmoplakin ve E-kadherin kaybına neden olur. Mezenkimal belirteç olan vimentindeki artış epitelyal sitokinlerin azalmasına eşlik eder. MMP-3’ün indüksiyonu da mezenkimal büyüme faktörü keratinosit büyüme faktörünün artmasına neden olur. MMP-3 ile tetiklenen epitelyal mezenkimal değişim, MMP uyarılmasının kaldırılması ya da geniş spektrumlu MMP inhibitörler ile önlenemez (23). Bu gözlemlere göre MMP-3 aktivitesi epitelyal mezenkimal değişimin başlangıcında geri dönüşümsüz bir süreci başlatıyor olabilir.

MMPLer Matriks metalloproteinazlar invazyon ve metastazda epitelyal mezenkimal değişim aşamasında rol alırlar. MMPLer aktivitelerinin artmasına ilave olarak invazyon boyunca belli bir yerde odaklanırlar. MMP-2, MMP-9, MMP-14 ESM parçalanması için birlikte çalışırlar (24). MMP aktivitesi migrasyonu da artırır. Örneğin MMP-14 tarafından CD44’ün ayrılması farklı kanser hücre kültürlerinde hücre hareketlerini artırır (25).

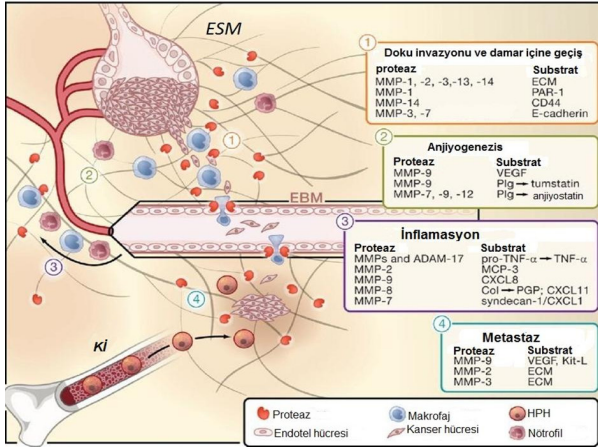
### **Hücre Ölümü**

Kanser progresyonu için apoptozdan kaçış sürecine izin verilmesi gerekmektedir. MMPLer çeşitli biyolojik aktif moleküllerin proteolizi aracılığı ile apoptozu pozitif veya negatif olarak regüle edebilirler. Örneğin; MMP-7 membrana bağlı Fas ligandı salarak Fas reseptörüne bağlanmasını ve sonuç olarak apoptozu tetikler (26). Diğer yandan MMP-7 ErbB4 tirozin kinaz reseptörlerini stimüle ederek hücrenin yaşam süresini arttıran heparin bağlayan epidermal büyüme faktörü (HB-EGF)’nün proteolizi ile apoptozu inhibe edebilir (27). MMP-3 de memeli hücrelerinde apoptozu aktive eder (28). MMP-11 ise apoptozu azaltır (29).

Apoptozda MMPLerin rolü apoptozda TIMPLerin rolü ile ilgili çalışmalarla desteklenmektedir. Genellikle TIMP-3’ün apoptozu artırıcı ya da suprese edici etkisi varken, TIMP-1, TIMP- 2 ve TIMP- 4’ün antiapoptotik etkileri rapor edilmiştir (30,31,32).

### **Tümör Vaskülarizasyonu**

Tümör vaskülarizasyonu, çevre doku damarlarının çoğalması (anjiogenez) ya da kemik iliğinden kana yayılan vasküler progenitor hücrelerden (vaskülogenez) kaynaklanır. Vaskülarizasyon, invazyon ve metastaz için kritik role sahiptir (33). MMPLer de vaskülarizasyonda önemli role sahiptir. MMP-2, MMP-9 ve MMP-14 tümör vaskülarizasyonunda başlıca rol oynarken; MMP-1 ve MMP-7 daha az oranda etkilidir (34). Temel fibroblast



**Şekil 1. Kanser oluşum sürecinde MMPLerin rolleri (18).** PAR-1 (Proteinaz aktive reseptör), Pıg (Plazminojen), PGP (Proilinglisin-prolin), CXCL (Kemokin ligandları), MCP-3 (Monosit kemotaktik faktör-3) HPH (Hemopoetik progenitor hücre).

büyüme faktörü (bFGF), vasküler endotelial büyüme faktör (VEGF) gibi anjiogenik mutajenler, kapiller endotel hücreler tarafından MMP salgılanmasını stimüle ederler (35,36). MMP aktivitesi anjiyogenezin negatif regülasyonunda da rol alıyor olabilir (37,38). ESM componentleri ve diğer ekstrasellüler moleküller yeni anjiyogenez inhibitörleri ile parçalanabilir (39). Örneğin biyolojik aktif endostatin MMP-3, 7, 9, 13 ve 20 Tip XVIII kollajeni parçalayarak etki gösterir (40). MMP-2, 9 ve 12 tarafından plazminojenin parçalanması önemli miktarda antianjiogenik fonksiyonu olan anjiostatin üretimine neden olur (41,42). MMPLer, vasküler permeabilite ve stabilitenin kontrolünde de rol alırlar. MMPLer ve özellikle MMP-14, dönüştürücü büyüme faktörü beta'nın (TGFB) aktivasyonu aracılığı ile tümör progresyonu ve doku yaralanmasında aracı olur (43).

#### **Doku invazyon ve Metastazı**

Metastaz kanserden ölümlerin başlıca nedenidir. Metastazın başlangıcı, kanser hücrelerinin kan damarları ya da lenfatikler aracılığı ile periferel dokulara taşınması ile olur. İnvazyon ve metastaz endotelial bazal membran gibi fiziksel bariyerlerin aşılmasını gerektirir (44).

Metastazda MMP aracılı sinyal üretimi önemlidir. MMP-1 varlığında MMP-aracılı sinyal üretimi sonucu metastaz artar. Proteinazla aktive olan reseptörler, bir dizi G-proteini ile eşleşmiş reseptörler olup, kanser hücre-

sinin göçüyle tümör invazyonunu etkileyebilir. Proteazla aktive olan reseptörler (PAR-1), akciğer, kolon ve meme kanserlerinde artar (45).

Kemik metastazı en sık görülen kanser metastazı yeri olup genellikle ölümcül seyredir. MMPLer, stromal hücreler ve kanser arasında osteoliz ve kemik dokuya yayılımında önemli rol oynar (46). MMP-7 osteoklast aktivasyonuna ve kemik dokusunun, osteolizine neden olur. MMP-7'nin hedefi tümör nekroz faktör (TNF) ailesi üyesi olan reseptör aktivatör nükleer faktör  $\kappa$ B ligand (RANKL)'dir. Normalde RANKL osteoblastlar tarafından salınır ve osteoklastlardaki RANK reseptörünü hedef alır. RANK- RANKL etkileşimi sonucu osteoklast prokürsörleri osteoklastlara farklılaşırlar. MMP-7 eksikliği kanserin indüklediği RANKL üretimi ve osteolizi azaltır. MMP-1 proteolitik EGF benzeri ligandlara bağlanarak RANKL yolağının aktivasyonuna ve osteolizle kemik metastazına neden olur. Bu proteinazın inhibitörleri meme ve prostat kanserinin kemiğe metastazını önlemek için kullanılabilirler (47).

Matriks metalloproteinazların kanserde birçok biyolojik fonksiyonu vardır. ESM'in parçalanması da ana fonksiyonlarından. ESM'in yıkımını gerçekleştiren MMP-1, 2 ve 12 gibi proteolitik enzimlerle katapsin B, K ve L de ESM'in yıkımında rol alırlar. Bununla birlikte MMP-14 hız sınırlayıcı olabilir (48). Endotelial bazal membranın ve diğer matriks componentlerinin proteolitik yıkımı inflamatuvar süreç boyunca immun hücrelerin ekstrasvazyonu ile ilgilidir. Makrofaj kaynaklı MMP-2 ve 9 immun hücrelerin beyne göçünde önemli mediatörlerdir. Tümör ilişkili makrofajlardan kaynaklanan MMPLer kanser hücrelerinin kan dolaşımına geçişini sağlıyor olabilir (49).

#### **Kanserde İnflamasyon ve Matriks Metalloproteinazların Rolü**

Doğal ve edinsel bağışıklıkta MMPLerin başlıca düzenleyici olduğunu destekleyen deliller artmaktadır. İnflamasyon süreci ve bağışıklık hücreleri tarafından sitokinlerin üretimi birçok yollarla kanser progresyonundan sorumludur (50). TNF- $\alpha$  en önemli proinflamatuvar sitokin olup makrofaj ve T lenfositlerden membran-bağlı prekürsör olarak sentez edilirler. ProTNF- $\alpha$ 'nın çözünür forma dönüşümü için TNF- $\alpha$  dönüştürücü enzim ya da MMP-1, 2, 3, 9, 12, 14 ve 15 tarafından ayrılması gerekir (51). Meme kanserinde MMP-9 artması tümörle ilişkili nötrofil, makrofaj ve lenfositlerde artışa neden olur ve tümör ilişkili inflamasyonda rol alırlar (52).

**Tablo 1. MMP enzimlerinin substrat özgüllüğüne göre sınıflandırılması (16)**

Grup adı	Tanımlayıcı isim	Numara	Temel substrat
Kollajenazlar	İnterstisyel kollajenaz	MMP-1	Kollajen 1,2,3,7,10,jelatin,PG
	Nötrofil kollajenaz	MMP-8	Kollajen 1,2,3,PG
	Kollajenaz-3	MMP-13	Kollajen Tip1,2,3,PG
	Kollajenaz-4	MMP-18	Kollajen Tip1,2,3,PG
Jelatinazlar	Jelatinaz A	MMP-2	Jelatin, kollajen 4,5,7,10,11,elastin
	Jelatinaz B	MMP-9	Jelatin,kollajen 4,5,14,elastin,PG
Stromelisinler	Stromelisin 1	MMP-3	PG,laminin,FN,jelatin,kollajen3,4,9,10
	Stromelisin 2	MMP-10	PG,laminin,FN,jelatin,kollajen3,4,9,10
	Stromelisin 3	MMP-11	PG,laminin,elastin,entaktin,tenaksin,versikan,jelatin,kollajen3,4,9,10
Membran tipi MMPLer (MT-MMPLer)	MT1-MMP	MMP-14	Kollajen 1,2,3,FN,laminin,VN
	MT2-MMP	MMP-15	Agrekan,FN,laminin,tenaksin
	MT3-MMP	MMP-16	Kollajen 3,FN,jelatin
	MT4-MMP	MMP-17	Jelatin
	MT5-MMP	MMP-24	PG
	MT6-MMP	MMP-25	Kollajen 4,fibrin,fibronektin,jelatin
Diğerleri	Matrilisin 1	MMP-7	Serin proteaz inhibitörleri
	Metaloelastaz	MMP-12	Kollajen 1,4,elastin,FN,jelatin,laminin,VN
	RASI-I	MMP-19	Kollajen 4,FN,jelatin,lamini,tenaksin
	Enamalisin	MMP-20	Agrekan,amelogenin
	X-MMP	MMP-21	Tanımlanmamıştır
	CA-MMP	MMP-23	Tanımlanmamıştır
	Matrilisin 2	MMP-26	Kollajen 4,FN, Jelatin,VN
	CMMP	MMP-27	Tanımlanmamıştır
	Eplisin	MMP-28	Tanımlanmamıştır

PG:Proteoglikan FN:Fibrnektin VN:Vitronektin

### **Kanserde Belirteç Olarak Kullanılan Matriks Metalloproteinazlar**

Çeşitli kanser türlerinde MMPLer, kanserin erken tesbiti, hastalığın progresyonunun takibi ve metastazın tesbit edilmesinde de kullanılabilir (53).

#### **Meme Kanseri**

Meme kanserli hastalarda MMPLerin bazı üyeleri, sadece teşhis, prognoz takibi, kanserin erken tesbit edilmesi, risk belirleme gibi nedenlerle değil aynı zamanda tümör rekürrensini göstergesi, metastatik yayılım ve tedaviye cevabın izlenmesi amacıyla da kullanılır. MMP-9 meme kanserli hastalarda, kanser dokusunda olduğu kadar plazma ve idrarlarında da önemli düzeyde artar (54,55). MMP-13 invazif meme kanserleri için prognostik belirteç olarak kullanılabilir. Agresif meme tümörlerinde tümör kaynaklı MMP-13, TIMP-1 ve Her2/neu ekspresyonu ile pozitif korelasyon gösterirken, hastanın yaşam süresi ile negatif korelasyon gösterir (56). MMP-9 meme kanseri risk belirleme aracı olarak kullanılabilir (57). MMP-1, mRNA ve protein düzeyleri prekanseröz lezyonlarda artar. MMP-1 mRNA iğne aspirasyon biyopsisi ile atipik duktal hiperplazinin belirlenmesinde kullanılabilir (58). Metastatik yayılımın belirlenmesinde dolaşımdaki MMP-9 aktivitesi kullanılabilir (59). Yüksek serum MMP-9

ve TIMP-1 artışı lenf nodu tutulumu ve azalmış hayat beklentisi ile ilişkilidir (54). Yüksek MMP-14 mRNA ekspresyonunun primer meme kanser dokusunda tesbiti kısalmış sağkalım süresi ile ilişkilidir (60).

#### **Pankreatik Kanser**

Pankreatik kanserlerin erken teşhisi ve yüksek riskli hastaların belirlenmesi için acil sonuç veren sensitivitesi ve spesifitesi yüksek belirteçlere ihtiyaç vardır. Bu hastalık erken evre spesifik semptomlarının olmaması ve güncel teşhis metodlarının sınırlı olması dolayısı ile teşhisi oldukça zor bir hastalıktır. Pankreatik kanserlerin değerlendirilmesinde pankreatik sıvı, doku ve kandan elde edilen belirteçler kullanılabilir. Serum ve doku MMP-9 düzeyleri pankreatik duktal karsinom olan hastalarda kronik pankreatiti olan hastalar ve sağlıklı kontrollere göre önemli düzeyde yüksektir (61). Pankreatik sıvıda aktif MMP-2 düzeyleri pankreatik kanserli hastalarda kronik pankreatitli hasta ve sağlıklı bireylerde yüksek tesbit edilmiştir (62). Pankreatik duktal karsinomu olan hastalarda plazma ve tümör dokusu MMP-7 düzeyleri yükselmiş olup kısa sağkalım süresi ile ilişkilidir (63).

#### **Akciğer Kanseri**

Serum ya da plazma MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri evre III



ve IV akciğer kanserli hastalarda yükselmiştir (64,65). Küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalarla ilgili yapılan retrospektif çalışmalarda MMP-7 ekspresyonu, skuamöz hücreli karsinomda adeno karsinoma göre yüksek bulunmuştur (66). Küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalarda MMP-7 ekspresyonu önemli bir prognostik faktör olabileceği ve kemoterapiye cevap ve hastalık seyirininin takibinde belirleyici olabileceği belirtilmiştir (67). MMP-1'in DNA varyantları şüpheli akciğer kanserleri ile ilişkilidir (68).

### **Mesane Kanseri**

Bilindiği gibi mesane kanseri olan hastalarda kanser belirteçlerinin büyük bir kısmı idrarda ölçülmektedir. İdrar MMP-2 ve MMP-9 düzeyleri mesane kanserinin varlığı ile korele olduğu kadar kanserin derece ve evresi ile de koreledir (69).

### **Kolorektal Kanser**

Kolorektal kanserler için, MMP-2 ve MMP-9 potansiyel belirteç olarak çalışılmıştır (70). Yükselmiş plazma MMP-2 düzeyleri lenf nodu metastazı ile korelasyon göstermektedir (71). Kanser dokusunda artmış MMP-9 boyanması lenf nodu tutulumundan bağımsız olarak kötü prognozla ilişkilidir (72). Kolorektal kanserin rezeksiyonundan sonra MMP-2 ve MMP-9 düzeylerinde düşüş görülür (73). Serum MMP-7 düzeyleri ilerlemiş kolorektal kanserlerde sağkalım süresinin azalması ile ilişkilidir (74).

### **Over Kanseri**

MMP-2, 9 ve 14, over kanserleri arasında en sık çalışılan belirteçler arasındadır. MMP-9 aktivitesi ilerlemiş over kanserlerinde önemli derecede artmıştır (75). İnvazif epitelyal over kanserlerinde MMP-9 ve MMP-14'ün doku ekspresyonundaki artışla hastalığın progresyonu arasında negatif bir korelasyon tesbit edilmiştir (76). Aynı şekilde MMP-2 ile de over kanseri progresyonu arasında negatif korelasyon olup, MMP-2 düzeyleri yüksek bulunan hastalarda peritoneal implant ve ölüm riskinde artış olduğu tesbit edilmiştir (77).

### **Prostat Kanseri**

MMP-2, 9, 15 ve 26'nın doku ekspresyonu ya da serum düzeyinin prostat kanserinde Gleason skoru ile pozitif korelasyonu olduğu bulunmuştur (78-80). Bunlar arasında plazma MMP-2 ve 9 düzeyleri metastatik prostat kanserlerinde önemli düzeyde artış göstermektedir. Bu iki enzim tedaviden sonra önemli düzeyde azalma

gösterdiği için tedavi etkinliğinin değerlendirilmesinde kullanılabilir (81). MMPler diğer belirteçlerle kombine edilerek belirleyici özelliği artırılabilir. Örneğin; jela-tinaz mRNA'larının E-kadherinlere oranı prostat kanseri evresini belirlemeye yardımcı olabilir (82).

### **Beyin Tümörleri**

MMP-2 ve 9'un agresif beyin kanserlerinde artış gösterdiği rapor edilmiştir (83,84). MMP-2 doku ekspresyonundaki artışla kısalmış yaşam süresi arasında negatif korelasyon bildirilmiştir (84).

### **Matriks Metalloproteinaz İnhibitörlerinin Tedavideki Yeri**

Kanser hastalarında metastazın kontrol edilememesi kanserden ölümlerin temel nedenidir. MMPlerin biyokimyasal özelliklerinin iyi anlaşılması ve kanserin yayılmasındaki rollerini ortaya koyan çalışmaların artması ile farmakoloji endüstrisinde MMP inhibitörlerinin geliştirilmesine büyük miktarlarda yatırım yapılmaktadır (85). İlk olarak romatoid artrit hastalığının tedavisi için kullanılan MMP inhibitörlerinin kullanım alanı genişletilerek kanser tedavisinde de kullanılmaya başlanmıştır (86). MMP inhibitörleri tedavi amacıyla daha yeni yeni kullanılmakta ve akademik, farmakolojik ve biyoteknolojik çevreler tarafından, suda çözünürlüğünün yetersiz olması, oral yararlanımının düşük olması, kas-iskelet senromuna neden olması gibi kanser tedavisinde kullanılmasındaki yetersizliklerin altında yatan nedenler tartışılmaktadır. Büyük bir kısmı kesin olmamakla birlikte bazı klinik çalışmalardan ümit verici sonuçlar elde edilmektedir. Örneğin neovastat renal hücreli kanserli hastalarda sağkalım süresini önemli derecede arttırmıştır (87).

MMP inhibitörleri farmakolojik olarak 3 gruba ayrılabilir:

1. Peptid yapılı ve peptid yapılı olmayan kollajeni taklit eden inhibitörler
2. Tetrasiklin deriveleri
3. Bifosfanatlar

İlk sentetik MMP inhibitörü 1980 yılının erken dönemlerinde MMP ayrılma bölgesinde kollajen yapısını taklit eden psödopeptid deriveleri olarak geliştirilmiştir (88,89). Bu inhibitörler MMPlerin aktif kısmına reversible olarak bağlanırlar. Yapısındaki çinko bağlayan grup olan hidroksamik asit aktif çinko iyonu ile şelat oluşturur. Kimyasal yapısındaki değişiklikler inhibitör etkinin ortadan kalkmasıyla sonuçlanır. MMP inhibitörlerinin ilki ve tipik bir üyesi olan batimastat, MMP enzim ailesine spesifte gösterir ve yine anjiotensin konver-

ting enzim ve enkefalinaz gibi metalloproteinazların diğer elemanlarına düşük spesifikite gösterirler (89). Batimastatin çeşitli kanser türleri üzerine etkisi araştırılmış, fibrotik değişiklik, tümör büyüme hızında azalma, angiogenезin inhibisyonu gibi etkilere neden olduğu görülmüştür. Bu inhibitörler antianjiogenik aktiviteyi tümör dokusunda nekrozu arttırarak gösterirler. Ayrıca MMP inhibitörleri tarafından tümör dokusunun daraltılması interstisyel basıncı arttırmakta, bu da damarlara bası yaparak tümör dokusunun beslenmesini bozmaktadır. Bu süreç, tümör dokusunun iskemi nedeni ile nekrozu ile sonuçlanır (90).

Tetrasiklin grubu antibiyotiklerin kimyasal yapısında yapılan değişikliklerle antibiyotik özelliği olmayan ancak MMP inhibitör özelliği ön planda olan moleküller geliştirilmiştir (91-93). Bu tetrasiklinler MMPLerin bağlanma bölgesindeki çinko atomuna bağlanmasını engelleyerek ya da transkripsiyon aşmasında MMPLerin regülasyonunu bozarak etki ediyor olabilirler. Metastat (Col-3), minosiklin ve doksisisiklin bu grup inhibitörlere örnektir (94). Bifosfanatlar, kalsiyum hemostazı için kullanılan ilaçlar olup; çok yakın geçmişte bunların meme kanseri ve multipl myelomu olan hastalarda kemik metastazlarını azalttığı ve hastalığın seyrini yavaşlattığı görülmüştür. Bunların etki mekanizması henüz açıklanamamıştır ancak osteoklastlara bağlanarak kemik resorpsiyonunu azaltıyor olabilirler. Bu ilaçlar MMP üzerine de inhibitör etki gösterirler (10).

Klinik alanda TIMPLerin tedavi amaçlı kullanımı daha az dikkat çekicidir. Bunun nedeni, biyolojik aktif proteinlerin üretimindeki zorluklar ve ilaç dağılımının optimize edilememesidir. Ayrıca TIMPLer MMP inhibitör etkilerinden başka birçok fonksiyonu olan proteinlerdir. TIMPLerin yalnız MMP inhibisyonu özelliğinin olmaması onların yalnız başına tedavide kullanımlarını engellemektedir (95,96).

## SONUÇ

Bağ dokusu hücreleri tarafından salgılanan MMPLer, uterus involusyonu, kemik resorpsiyonu, yara iyileşmesi gibi fizyolojik olaylarda yer alan endopeptidazlardır. Kanser gelişimi, metastaz ve invazyon, hücre bölünmesi ve çoğalması, ESM parçalanması, kanser hücrelerinin dolaşıma geçerek uzak bölgelere taşınmasını içeren çok basamaklı ve kompleks bir süreçtir. MMPLer bazal membranı ve ESM'i parçalayarak malign hücrelerin bağ

doku ve kan damarları aracılığı ile invazyon ve metastaz gelişimine neden olurlar. MMPLer, kanser progresyonundaki bu fonksiyonlarından dolayı kanser tedavisinde hedef konumuna gelmiştir. Gelecekte kanser tedavisi ile ilgili çalışmalar, daha az toksik ve daha fazla etkili MMP inhibitörleri geliştirilmesine odaklanmakta, ilgili çevreler tarafından da heyecan ve merakla takip edilmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Aliustaoğlu M. *Temel Kanser Fizyopatolojisi*. Klinik Gelişim 2009; 22(3): 46-9.
2. Liotta LA, Steeg PA, Stetler-Stevenson WG. *Cancer metastasis and angiogenesis: an imbalance of positive and negative regulation*. Cell 1991; 64: 327-36.
3. ApakkanAksun S, Bayındır O, Özmen D, *Metalloproteinazlar, inhibitörleri ve ilişkili Fizyolojik ve Patolojik Durumlar*. Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri 2001; 21: 332-42.
4. Hewitt R, Dan K. *Stromal cell expression of components of matrixdegrading protease systems in human cancer*. Enzyme Protein 1996; 49: 163-73.
5. Matrisian LM. *Metalloproteinases and their inhibitors in matrix remodeling*. Trends Genet 1990; 6(4):121-5
6. Sethi CS, Bailey TA, Luthert PJ, Chong NHV. *Matrix metalloproteinase biology applied to vitreoretinal disorders*. Br J Ophthalmol 2000; 84: 654-64.
7. Soydiç HO, Çamlıca H, Duranyılmaz D, et al. *Matriks metalloproteinazlar ve akciğer kanseri*. Türk Onkoloji Dergisi 2006;21(2):53-6.
8. Dollery CM, McEwan JR, Henney AM. *Matrix metalloproteinases and cardiovascular disease*. Circulation Research 1995; 77: 863-8.
9. Barret AJ, Rawlings ND. *Clasification of peptidases Biol Chem* 1992; 244: 353-73.
10. Hidalgo M, Eckhardt SG. *Development of Matrix Metalloproteinase Inhibitors in Cancer Therapy*. J. of Nation Cancer Ins. 2001; 93(3): 178-84.
11. Bourboulia D, Stetler-Stevenson WG. *Matrix MetalloProteinases (MMPs) and Tissue Inhibitors of MetalloProteinases (TIMPs): positive and negative regulators intumor cell adhesion*. Semin Cancer Biol. 2010; 20(3): 161-8.
12. Ray JM. Stetler-Stevenson WG. *The role of matrix metalloproteases and their inhibitors in tumour invasion, metastasis and angiogenesis*. Eur Respir J. 1994; 7: 2062-72.
13. Overall CM, Otin CL. *Strategies for MMP inhibition in cancer: innovations fort pense he post -trial era*. Nat Reviews 2002; 2: 657-72.
14. Curan S, Murray GI. *Matrix Metalloproteinases in Tumour Invasion and Metastasis*. J. Pathol 1999; 189: 300-8.
15. Krizkova S, Zitka O, Masarik M, et al. *Clinical importance of matrix metalloproteinases*. Bratisl Lek Lsty 2011; 112(8): 435-40.

16. Reel B. Matriks Metalloproteinaz Enzimleri ve Ateroskleroz. *Türkiye Klinikleri J Med* 2006; 26: 527-37.
17. Wosner JF. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in connective tissue remodeling. *Fabes J* 1991; 5: 2145-54.
18. Kessenbrock K, Plaks V, Werb Z. Matrix Metalloproteinases: Regulators of the Tumor Microenvironment. *NIH Public Access* 2010; 141(1): 52-67.
19. Amelina C, Caruntu ID, Giuşca SE, Balan RA. Matrix metalloproteinases involvement in pathologic conditions. *Rom J of Morphol Embryol* 2010; 51(2):215-28.
20. Christofori G. Changing neighbours, changing behaviour: cell adhesion molecule-mediated signalling during tumour progression. *Embo J*.2003; 22: 2318-23.
21. Deryugina EI, Ratnikov BI, Postnova TI, et al. Processing of integrin alpha(v) subunit by membrane type 1 matrix metalloproteinase stimulates migration of breast carcinoma cells on vitronectin and enhances tyrosine phosphorylation of focal adhesion kinase. *J Biol Chem* 2002; 277: 9749-56.
22. Ho AT, Voura EB, Soloway PD, et al. MMP inhibitors augment fibroblast adhesion through stabilisation of focal adhesion contacts and up-regulation of cadherin function. *J Biol Chem* 2001; 276: 40215-24.
23. Birchmeier C, Birchmeier W, Brand-Saberi B. Epithelial-mesenchymal transitions in cancer progression. *Acta Anat (Basel)* 1996; 156: 217-26.
24. Noe V, Fingleton B, Jacobs K, et al. Release of an invasion promoter E-cadherin fragment by matrilysin and stromelysin-1. *J Cell Sci* 2001; 114: 111-8.
25. Lochter A, Galosy S, Muschler J, et al. Matrix metalloproteinase stromelysin-1 triggers a cascade of molecular alterations that leads to stable epithelial-to-mesenchymal conversion and a premalignant phenotype in mammary epithelial cells. *J Cell Biol* 1997; 139: 1861- 72.
26. Nakahara H, Howard L, Thompson EW, et al. Transmembrane/cytoplasmic domain-mediated membrane type 1-matrix metalloprotease docking to invadopodia is required for cell invasion. *Proc Natl Acad Sci* 1997; 94: 7959-64.
27. Kajita M, Itoh Y, Chiba T, et al. Membrane-type 1 matrix metalloproteinase cleaves CD44 and promotes cell migration. *J Cell Biol.* 2001; 153: 893-904.
28. Powell WC, Fingleton B, Wilson CL, et al. The metalloproteinase matrilysin proteolytically generates active soluble Fas ligand and potentiates epithelial cell apoptosis. *Curr Biol* 1999; 9: 1441-7.
29. Yu WH, Woessner JF Jr, McNeish JD, Stamenkovic I. CD44 anchors the assembly of matrilysin/MMP-7 with heparin-binding epidermal growth factor precursor and ErbB4 and regulates female reproductive organ remodeling. *Genes Dev* 2002; 16: 307-23.
30. Alexander CM, Howard EW, Bissell MJ, Werb Z. Rescue of mammary epithelial cell apoptosis and entactin degradation by a tissue inhibitor of metalloproteinases-1 transgene. *J Cell Biol* 1996; 135: 1669-77.
31. Wu E, Mari BP, Wang F, et al. Stromelysin-3 suppresses tumor cell apoptosis in a murine model. *J Cell Biochem* 2001; 82: 549-55.
32. Fata JE, Leco KJ, Voura EB, et al. Accelerated apoptosis in the Timp-3-deficient mammary gland. *J Clin Invest* 2001; 108: 831-41.
33. Bond M, Fabunmi RP, Baker AH, Newby AC. Synergistic upregulation of metalloproteinase -9 by growth factors and inflammatory cytokines: an absolute requirement for transcription factor NF-kappa B. *Febs Lett* 1998; 435: 29-34.
34. Alexander CM, Selvarajan S, Mudgett J, Werb Z. Stromelysin-1 regulates adipogenesis during mammary gland involution. *J. Cell Biol* 2001; 152: 693-703.
35. Littlepage LE, Sternlicht MD, Rougier N, et al. Matrix metalloproteinases contribute distinct roles in neuroendocrine prostate carcinogenesis, metastasis, and angiogenesis progression. *Cancer Res* 2010; 70: 2224-34.
36. Unemori EN, Ferrara N, Bauer EA, et al. Vascular endothelial growth factor induces interstitial collagenase expression in human endothelial cells. *J Cell Physiol* 1992; 153: 557-562.
37. Lamoreaux WJ, Fitzgerald ME, Reiner A, et al. Vascular endothelial growth factor increases release of gelatinase A and decreases release of tissue inhibitor of metalloproteinases by microvascular endothelial cells in vitro. *Microvasc Res* 1998; 55: 29-42.
38. O'Reilly MS, Wiederschain D, Stetler- Stevenson WG, et al. Regulation of angiostatin production by matrix metalloproteinase-2 in a model of concomitant resistance. *J Biol Chem* 1999; 274: 29568-71.
39. Dong Z, Kumar R, Yang X, et al. Macrophage-derived metalloelastase is responsible for the generation of angiostatin in Lewis lung carcinoma. *Cell* 1997; 88: 801-10.
40. Ribatti D. Endogenous inhibitors of angiogenesis: a historical review. *Leuk Res* 2009; 33: 638-44.
41. Heljasvaara R, Nyberg P, Luostarinen J, et al. Generation of biologically active endostatin fragments from human collagen XVIII by distinct matrix metalloproteases. *Exp. Cell Res* 2005; 307: 292-304.
42. Cornelius LA, Nehring LC, Harding E, et al. Matrix metalloproteinases generate angiostatin: effects on neovascularization. *J. Immunol* 1998; 161: 6845-52.
43. Patterson BC, Sang QA. Angiostatin-converting enzyme activities of human matrilysin (MMP-7) and gelatinase B/ type IV collagenase (MMP-9). *J. Biol. Chem* 1997; 272: 28823-5.
44. Sounni NE, Dehne K, Van Kempen L, et al. Stromal regulation of vessel stability by MMP9 and TGFβ. *Dis. Model. Mech. Published Dis Model Mech* 2010; 3(5- 6): 317-32.
45. Kaplan RN, Riba RD, Zacharoulis S, et al. VEGFR1-positive haematopoietic bone marrow progenitors initiate the pre-metastatic niche. *Nature* 2005: 438; 820-7.
46. Boire A, Covic L, Agarwal A, et al. PAR1 is a matrix metalloprotease -1 receptor that promotes invasion and tumorigenesis of breast cancer cells. *Cell* 2005; 120: 303-13.



47. Lynch CC, Hikosaka A, Acuff HB, et al. MMP-7 promotes prostate cancer-induced osteolysis via the solubilization of RANKL. *Cancer Cell* 2005; 7: 485-96.
48. Lu X, Wang Q, Hu G, et al. ADAMTS1 and MMP1 proteolytically engage EGF-like ligands in an osteolytic signaling cascade for bone metastasis. *Genes Dev* 2009; 23: 1882-94.
49. Friedl P, Wolf K. Tube travel: the role of proteases in individual and collective cancer cell invasion. *Cancer Res* 2008; 68: 7247-9.
50. Agrawal S, Anderson P, Durbeej M, et al. Dystroglycan is selectively cleaved at the parenchymal basement membrane at sites of leukocyte extravasation in experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Exp Med* 2006; 203: 1007-19.
51. Lin WW, Karin M. A cytokine-mediated link between innate immunity, inflammation, and cancer. *J. Clin. Invest* 2007; 117: 1175-83.
52. Manicone AM, Mc Guire JK. Matrix metalloproteinases as modulators of inflammation. *Semin. Cell Dev Biol* 2008; 19: 34-41.
53. Roy R, Yang J, Moses MA. Matrix Metalloproteinases As Novel Biomarkers and Potential Therapeutic Targets in Human Cancer. *Journal of clinical oncology* 2009; 27(31): 5287-97.
54. Wu ZS, Wu Q, Yang JH, et al. Prognostic significance of MMP-9 and TIMP-1 serum and tissue expression in breast cancer. *Int J Cancer* 2008; 122: 2050-6.
55. La Rocca G, Pucci-Minifra I, Marrazzo A, et al. Zymographic detection and clinical correlations of MMP-2 and MMP-9 in breast cancer sera. *Br J Cancer* 2004; 90: 1414-21.
56. Zhang B, Cao X, Liu Y, et al. Tumor-derived matrix metalloproteinase-13 (MMP-13) correlates with poor prognoses of invasive breast cancer. *BMC Cancer* 2008; 83: 1-10.
57. Pories SE, Zurakowski D, Roy R, et al. Urinary metalloproteinases: Noninvasive biomarkers for breast cancer risk assessment. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008; 17: 1034-42.
58. Poola I, DeWitty RL, Marshalleck JJ, et al. Identification of MMP-1 as a putative breast cancer predictive marker by global gene expression analysis. *Nat Med* 2005; 11: 481-3.
59. Ranuncolo SM, Armanasco E, Cresta C, et al. Plasma MMP-9 (92 kDa-MMP) activity is useful in the follow-up and in the assessment of prognosis in breast cancer patients. *Int J Cancer* 2003 ;106:745-51.
60. Tetu B, Brisson J, Wang CS, et al. The influence of MMP-14, TIMP- 2 and MMP-2 expression on breast cancer prognosis. *Breast Cancer Res R* 2006; 28: 1-9.
61. Tian M, Cui YZ, Song GH. et al. Proteomic analysis identifies MMP-9, DJ-1 and A1BG as overexpressed proteins in pancreatic juice from pancreatic ductal adenocarcinoma patients. *BMC Cancer* 2008; 241: 1-11.
62. Yokoyama M, Ochi K, Ichimura M, et al. Matrix metalloproteinase-2 in pancreatic juice for diagnosis of pancreatic cancer. *Pancreas* 2002; 24: 344-7.
63. Kuhlmann KF, Van Till JW, Boermeester MA, et al. Evaluation of matrix metalloproteinase 7 in plasma and pancreatic juice as a biomarker for pancreatic cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007; 16: 886-91.
64. Jumper C, Cobos E, Lox C. Determination of the serum matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 (TIMP-1) in patients with either advanced small-cell lung cancer or non-small-cell lung cancer prior to treatment. *Respir Med* 2004; 98: 173-7.
65. Koc M, Ediger D, Budak F, et al. Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) elevated in serum but not in bronchial lavage fluid in patients with lung cancer. *Tumori* 2006; 92: 149-54.
66. Liu D, Nakano J, Ishikawa S, et al. Overexpression of matrix metalloproteinase-7 (MMP-7) correlates with tumor proliferation, and a poor prognosis in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2007; 58: 384-91.
67. Schutz A, Schneidenbach D, Aust G, et al. Differential expression and activity status of MMP-1, MMP-2 and MMP-9 in tumor and stromal cells of squamous cell carcinomas of the lung. *Tumour Biol* 2002; 23:179-84.
68. Su L, Zhou W, Park S, et al. Matrix metalloproteinase-1 promoter polymorphism and lung cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14: 567-70.
69. Gerhards S, Jung K, Koenig F, et al. Excretion of matrix metalloproteinases 2 and 9 in urine is associated with a high stage and grade of bladder carcinoma. *Urology* 2001; 57: 675-9.
70. Hilska M, Roberts PJ, Collan YU, et al. Prognostic significance of matrix metalloproteinases-1, -2, -7 and -13 and tissue inhibitors of metalloproteinases-1, -2, -3 and -4 in colorectal cancer. *Int J Cancer* 2007; 121: 714-23.
71. Langenskiöld M, Holmdahl L, Falk P, et al. Increased plasma MMP-2 protein expression in lymph node-positive patients with colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis* 2005; 20: 245-52,
72. Cho YB, Lee WY, Song SY, et al. Matrix metalloproteinase-9 activity is associated with poor prognosis in T3-T4 node-negative colorectal cancer. *Hum Pathol* 2007; 38: 1603-10.
73. Tutton MG, George ML, Eccles SA, et al. Use of plasma MMP-2 and MMP-9 levels as a surrogate for tumour expression in colorectal cancer patients. *Int J Cancer* 2003; 107: 541-50.
74. Maurel J, Nadal C, Garcia-Albeniz X, et al. Serum matrix metalloproteinase 7 levels identifies poor prognosis advanced colorectal cancer patients. *Int J Cancer* 2007; 121: 1066-71.
75. Lengyel E, Schmalfeldt B, Konik E, et al. Expression of latent matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) predicts survival in advanced ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2001; 82: 291-8.
76. Kamat AA, Fletcher M, Gruman LM, et al: The clinical relevance of stromal matrix metalloproteinase expression in ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 1707-14.

77. Perigny M, Bairati I, Harvey I, et al. Role of immunohistochemical overexpression of matrix metalloproteinases MMP-2 and MMP-11 in the prognosis of death by ovarian cancer. *Am J Clin Pathol* 2008; 129: 226-31.
78. Wood M, Fudge K, Mohler JL, et al. In situ hybridization studies of metalloproteinases 2 and 9 and TIMP-1 and TIMP-2 expression in human prostate cancer. *Clin Exp Metastasis* 1997;15: 246-58.
79. Sauer CG, Kappeler A, Spath M, et al. Expression and activity of matrix metalloproteinases- 2 and -9 in serum, core needle biopsies and tissue specimens of prostate cancer patients. *Virchows Arch* 2004; 444: 518-26.
80. Riddick AC, Shukla CJ, Pennington CJ, et al. Identification of degradome components associated with prostate cancer progression by expression analysis of human prostatic tissues. *Br J Cancer* 2005; 92: 2171-80.
81. Morgia G, Falsaperla M, Malaponte G, et al. Matrix metalloproteinases as diagnostic (MMP-13) and prognostic (MMP-2, MMP-9) markers of prostate cancer. *Urol Res* 2005;33: 44-50.
82. Kuniyasu H, Ukai R, Johnston D, et al. The relative mRNA expression levels of matrix metalloproteinase to E-cadherin in prostate biopsy specimens distinguishes organ-confined from advanced prostate cancer at radical prostatectomy. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 2185-94.
83. Sawaya RE, Yamamoto M, Gokaslan ZL, et al. Expression and localization of 72 kDa type IV collagenase (MMP-2) in human malignant gliomas in vivo. *Clin Exp Metastasis* 1996; 14: 35-42.
84. Jaalinoja J, Herva R, Korpela M, et al. Matrix metalloproteinase 2 (MMP-2) immunoreactive protein is associated with poor grade and survival in brain neoplasms. *J Neurooncol* 2000; 46: 81-90.
85. Zucker S, Cao J, Chen WT. Critical appraisal of the use of matrix metalloproteinase inhibitors in cancer treatment. *Oncogene* 2000; 19: 6642-50.
86. Brown PD, Matrix metalloproteinase inhibitors, *Angiogenesis*, 1998; 1(2):142-54.
87. Batist G, Patenaude F, Champagne P, et al. Neovastat (AE-941) in refractory renal cell carcinoma patients: Report of a phase II trial with two dose levels. *Ann Oncol*; 2002; 13: 1259-63.
88. Betz M, Huxley P, Davies SJ, et al. 1.8-A crystal structure of the catalytic domain of human neutrophil collagenase (matrix metalloproteinase- 8) complexed with a peptidomimetic hydroxamate primed-side inhibitor with a distinct selectivity profile. *Eur J Biochem*1997; 247: 356-63.
89. Papathoma AS, Petraki C, Grigorakis A, et al. Prognostic significance of matrix metalloproteinases 2 and 9 in bladder cancer. *Anticancer Res* 2000; 20: 2009-13.
90. Folkman J. New perspectives in clinical oncology from angiogenesis research, *Eur J Cancer*, 1996; 32A(14):2535-9.
91. Golub LM, Mcnamara TF, D'angelo G, et al. A non-antibacterial chemically-modified tetracycline inhibits mammalian collagenase activity, *J Dent Res* 1987; 66(8): 1310-4.
92. Golub LM, Ramamurthy NS, McNamara TF, et al. Tetracyclines inhibit connective tissue breakdown: New therapeutic implications for an old family of drugs. *Crit Rev Oral Biol Med*1991; 2: 297-321.
93. Acharya MR, Venitz J, Figg WD, et al. Chemically modified tetracyclines as inhibitors of matrix metalloproteinases. *Drug Resist Updat* 2004; 7: 195-208.
94. Sapadin AN, Fleischmajer R. Tetracyclines: Nonantibiotic properties and their clinical implications. *J Am Acad Dermatol* 2006; 54: 258-65.
95. Fernandez CA, Butterfield C, Jackson G, et al. Structural and functional uncoupling of the enzymatic and angiogenic inhibitory activities of tissue inhibitor of metalloproteinase-2 (TIMP-2): Loop 6 is a novel angiogenesis inhibitor. *J Biol Chem* 2003; 278: 40989-95.
96. Seo DW, Li H, Guedez L, et al. TIMP -2 mediated inhibition of angiogenesis: An MMP independent mechanism. *Cell* 2003; 114: 171-80.