

Praca oryginalna • Original Article

MMP-9, TIMP-1 i VEGF u chorych na drobnokomórkowego raka płuca

MMP-9, TIMP-1 and VEGF in small cell lung cancer patients

¹Ewa Wójcik, ²Beata Sas-Korczyńska, ¹Zofia Stasik, ¹Jadwiga Tarapacz, ¹Urszula Rychlik,
¹Jan Kanty Kulpa

¹Zakład Analityki i Biochemii Klinicznej, ²Klinika Nowotworów Piersi i Klatki Piersiowej, Centrum Onkologii, Oddział w Krakowie

Streszczenie

Niszczenie ciągłości błony podstawnej i macierzy pozakomórkowej, rozwój sieci drobnych naczyń krwionośnych to zjawiska związane z procesami uzyskiwania przez komórki nowotworowe fenotypu inwazyjnego, progresji i rozsiewu. Istotną rolę w ich mechanizmach przypisuje się metaloproteinazom, śródbłonkowo-naczyniowemu czynnikowi wzrostu, interleukinie 6. Celem podjętych badań była ocena stężenia MMP-9, TIMP-1, VEGF i IL-6 u chorych na drobnokomórkowego raka płuca w aspekcie oceny ich rokowania.

Badania przeprowadzono przed leczeniem w grupie 55 chorych na drobnokomórkowego raka płuca w różnych stadiach zaawansowania. U chorych na drobnokomórkowego raka płuca stwierdzono istotnie wyższe aniżeli w grupie referencyjnej stężenia MMP-9, TIMP-1, VEGF i IL-6. Obserwowano istotne korelacje pomiędzy stężeniami tych biomarkerów. Analiza jednoczynnikowa wykazała istotne zależności pomiędzy przeżyciem bezobjawowym chorych a wyjściowymi stężeniami MMP-9, TIMP-1, VEGF i IL-6.

Niezależnym czynnikiem prognostycznym dla oszacowania czasu do wystąpienia progresji w badanej grupie chorych okazał się być TIMP-1, a dla oszacowania przeżycia całkowitego VEGF.

Summary

Basement membrane and extracellular matrix disruption, as well as formation of new blood vessels are associated with the process of tumor cells acquiring invasive phenotype, progression and spread. A significant role in their mechanism is attributed to the matrix metalloproteinases, vascular endothelial growth factor and interleukin 6.

The aim of the study was to assess the MMP-9, TIMP-1, VEGF and IL-6 concentrations in small cell lung cancer (SCLC) patients in respect to their prognosis. The study was performed before treatment and involved 55 patients with limited and extensive disease. SCLC patients presented significantly higher, in comparison to the reference group, levels of MMP-9, TIMP-1, VEGF and IL-6. Statistically significant correlations between the biomarkers were observed. Univariate analysis showed relationships between survival with no evidence of disease and pretreatment of MMP-9, TIMP-1, VEGF as well as IL-6 concentrations. In the studied group of SCLC patients, TIMP-1 proved to be an independent prognostic factors for the assessment of time to progression, whereas VEGF for assessment of overall survival.

Słowa kluczowe: drobnokomórkowy rak płuca, MMP-9, TIMP-1, VEGF, IL-6

Key words: small cell lung cancer, MMP-9, TIMP-1, VEGF, IL-6

Wprowadzenie

W definicjach dotyczących nowotworów jako jedną z charakterystycznych własności wymienia się zdolność do naciekania sąsiadujących tkanek oraz do rozsiewu, tworzenia ognisk przerzutowych w odległych miejscach organizmu.

Niedobór substratów energetycznych i budulcowych uznawany jest za jeden z podstawowych czynników inicjujących proces uzyskiwania przez komórki, które uległy transformacji nowotworowej fenotypu inwazyjnego. Tym terminem określa się złożony zespół zjawisk i procesów, m.in. prowadzących

do rozwoju sieci drobnych naczyń krwionośnych w otoczeniu guza, zmianach ich przepuszczalności, osłabieniu sił adhezyjnych utrzymujących komórki w obrębie guza, aktywacji różnych enzymów proteolitycznych, co w efekcie prowadzi do niszczenia ciągłości błony podstawnej i przedostawania się komórek nowotworowych do krążenia oraz tworzenia nowych ognisk w odległych miejscach organizmu. Przeważnie procesy te przebiegają przez dłuższy czas w fazie utajonej i z tego względu uważane są za jedną z przyczyn rozpoznawania choroby nowotworowej u znacznego odsetka badanych w zaawansowanych stadiach, uniemożliwiających wdrożenie w założeniu radykalnego leczenia [28].

W mechanizmach inicjacji i rozwoju tych procesów szeroko dyskutowana jest m.in. rola szeregu cytokin prozapalnych, w tym interleukiny 6 (IL-6) jak i różnych czynników wzrostu [2]. Jednym z najlepiej poznanych czynników uczestniczących w rozwoju sieci drobnych naczyń krwionośnych w obrębie guza jest naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu (VEGF), którego nadekspresję w komórkach jak i podwyższone stężenie w surowicy krwi stwierdza się u szeregu chorych na nowotwory złośliwe o różnej lokalizacji narządowej, w tym również na raka płuca. VEGF nie tylko odpowiedzialny jest za rozwój nowych naczyń krwionośnych, ale spełnia również ważną rolę w modyfikowaniu przepuszczalności naczyń krwionośnych. W generowaniu stężenia VEGF u chorych na nowotwory złośliwe istotne znaczenie przypisuje się m.in. interleukinie 6 (IL-6) [28]. Wykazano, że wysokie stężenie VEGF a także IL-6 wiąże się ze wzmożonym ryzykiem rozwoju przerzutów nowotworowych, złym rokowaniem chorych [8,19, 21, 30]. W trakcie uzyskiwania fenotypu inwazyjnego dochodzi do aktywacji szeregu procesów proteolitycznej degradacji błony podstawnej i macierzy pozakomórkowej, co stwarza sprzyjające warunki dla migracji komórek nowotworowych. Zwraca się uwagę na udział w tych procesach m.in. metaloproteinaz, a zwłaszcza metaloproteinazy typu 2 (MMP-2) i typu 9 (MMP-9), a także tkankowego inhibitora metaloproteinaz typu 1 (TIMP-1). Nadekspresję, uczestniczącą w degradacji kolagenu typu IV, MMP-9 stwierdzono m.in. u szeregu chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca i przypisywana jest jej istotna wartość prognostyczna, szczególnie u chorych we wcześniejszych stadiach zaawansowania [12,13]. W ostatnim okresie przedmiotem badań

jest również użyteczność wyników oznaczeń stężenia MMP-9 oraz TIMP-1 w surowicy krwi.

Celem prowadzonych badań była próba określenia użyteczności wyników oznaczeń stężenia IL-6, VEGF, MMP-9 oraz TIMP-1 w diagnostyce chorych na drobnokomórkowego raka płuca, zwłaszcza w aspekcie optymalizacji oceny ich rokowania.

Material i metody

Badania przeprowadzono w grupie 55 chorych na drobnokomórkowego raka płuca w wieku od 39 do 74 lat (mediana 57 lat) leczonych w Centrum Onkologii w Krakowie w latach 2002-2009. Na podstawie badań klinicznych i obrazowych u 32 chorych stwierdzono nowotwór ograniczony do jednej połowy klatki piersiowej tzw. zlokalizowaną postać nowotworu (DRP-ZP), a u pozostałych 23 chorych zaawansowaną, rozległą postać nowotworu (DRP-UP). Chorzy we wczesnym stadium zaawansowania byli poddani jednoczesnej chemio- i radioterapii, a chorzy w zaawansowanym stadium - chemioterapii. Grupę referencyjną stanowiło 45 osób zdrowych, w wieku zbliżonym do chorych.

U wszystkich badanych przed leczeniem oznaczono poziom metaloproteinazy 9 (MMP-9), tkankowy inhibitor metaloproteinazy typu 1 (TIMP-1), naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu (VEGF) oraz interleukinę 6 (IL-6) metodą ELISA wykorzystując odczynniki Bender MedSystem. Wartości odcinające, ustalone jako odpowiadające 95 percentylowi zakresu wahań stężenia w grupie referencyjnej, kształtowały się następująco: MMP-9 – 1039,7 µg/l, TIMP-1 – 857,6 µg/l, VEGF – 405 ng/l, IL-6 – 5,0 ng/l.

W opracowaniu statystycznym wyników korzystano z programu Statistica 9.0. W analizie zależności pomiędzy parametrami posługiwano się rachunkiem korelacji wg Pearsona, a dla oceny istotności różnic pomiędzy badanymi grupami z nieparametrycznego testu Kruskal-Walisa. W celu określenia prawdopodobieństwa przeżycia od zakończenia leczenia do wystąpienia objawów progresji choroby oraz przeżycia całkowitego chorych zastosowano metodę wg Kaplana-Meiera, a dla oceny rozkładu przeżycia w podgrupach zastosowano test log-rank. Wyboru niezależnych czynników prognostycznych dokonano na podstawie modelu proporcjonalnego hazardu Coxa.

Tabela I.

Stężenie MMP-9, TIMP-1, VEGF i IL-6 u chorych na drobnokomórkowego raka płuca przed leczeniem.

Parametr	Grupa referencyjna	Drobnokomórkowy rak płuca	p	
MMP-9 [µg/l]	mediana zakres	142,94 73,04 – 1298,75	858,80 209,27 – 3748,25	0,0000
TIMP-9 [µg/l]	mediana zakres	442,06 215,39 – 1073,39	754,18 287,71 – 1241,98	0,0000
VEGF [ng/l]	mediana zakres	174,80 45,00 – 476,10	415,31 34,45 – 1255,08	0,0000
IL-6 [ng/l]	mediana zakres	2,60 0,00 – 5,67	4,80 0,00 – 150,42	0,0058

Wyniki

U chorych na drobnokomórkowego raka płuca stwierdzano w porównaniu do grupy referencyjnej osób zdrowych istotnie wyższe stężenia IL-6, VEGF, MMP-9 i TIMP-1 (tabela I). W badanej grupie chorych przed leczeniem obserwowano istotne, dodatnie zależności pomiędzy stężeniem IL-6 a MMP-9, TIMP oraz VEGF (ryc. 1, 2, 3) a także pomiędzy MMP-9 a TIMP-1 ($r = 0,381$, $p = 0,004$) oraz MMP-9 a VEGF ($r = 0,341$, $p = 0,011$).

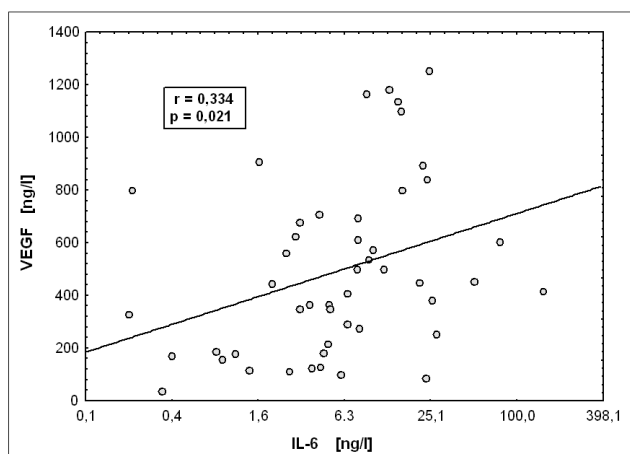
Analiza przebiegu krzywych ROC wykazała, że u chorych na drobnokomórkowego raka płuca pola powierzchni pod krzywą ROC dla MMP-9 i TIMP-1 są zbliżone i tylko nieznacznie większe niżeli dla VEGF (ryc. 4). Pola powierzchni pod krzywymi ROC dla tej metaloproteiny i jej inhibitora były natomiast istotnie większe niżeli dla IL-6 (odpowiednio: $p = 0,014$ i $p = 0,023$).

W wyodrębnionych ze względu na zaawansowanie grup chorych, stwierdzono istotnie częściej podwyższone stężenia MMP-9, VEGF i IL-6 u chorych z rozległą postacią nowotworu niżeli z ograniczoną do jednej połowy klatki piersiowej (odpowiednio: $p = 0,029$, $p = 0,0004$, $p = 0,0003$),

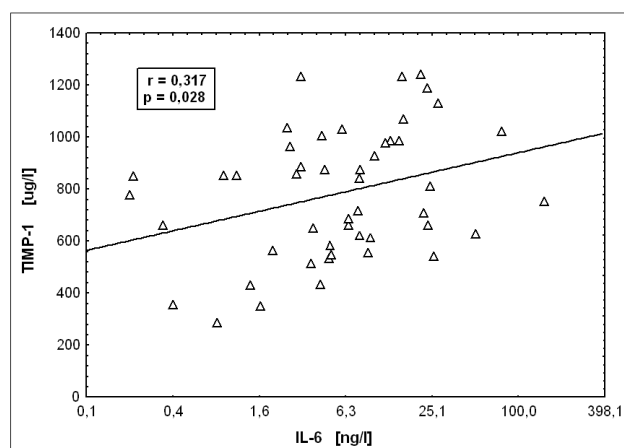
przy braku istotnych różnic w odsetkach podwyższonych wyników TIMP-1 (ryc.5).

Wyniki jednoczynnikowej analizy zależności czasu przeżycia całkowitego chorych na drobnokomórkowego raka płuca względem poziomu badanych parametrów z okresu przed rozpoczęciem leczenia przedstawiono w tabeli IIA. Rozległa postać nowotworu, wyższe od 405 ng/l stężenie VEGF oraz wyższy od 857 µg/l poziom TIMP przed leczeniem związane były z istotnie gorszym rokowaniem chorych. Wieloczynnikowa analiza potwierdziła ponadto, że do niezależnych czynników prognostycznych oprócz stadium zaawansowania, w badanej grupie chorych należy zaliczyć również VEGF. Względne ryzyko zgonu chorych z wysokim stężeniem VEGF było ok. 1,8 -krotnie większe w porównaniu do pozostałych i było zbliżone do ryzyka zgonu chorych z zaawansowaną postacią nowotworu.

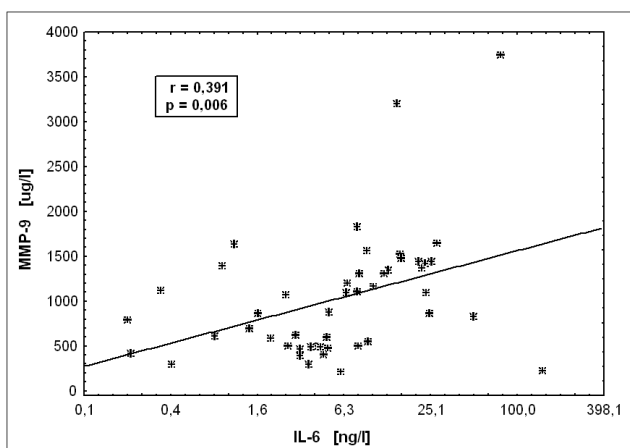
Analiza zależności pomiędzy czasem przeżycia do wystąpienia progresji a wyjściowym poziomem badanych parametrów wykazała natomiast, że o ile u chorych z wyższym od 6 ng/l stężeniem IL-6 mediana czasu do progresji choroby wynosiła 3 miesiące, to w grupie z niższym stężeniem tej cytokiny prozapalnej kształtowała się ona na poziomie 6,5 mie-



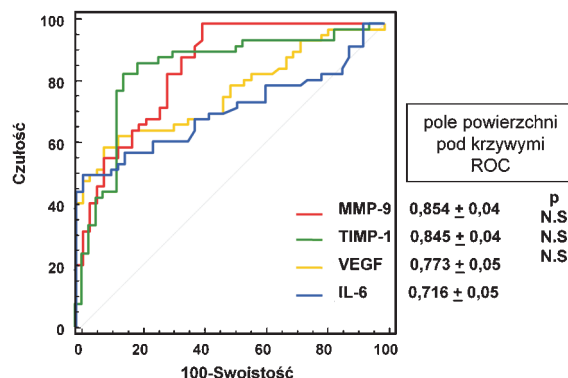
Rycina 1.
Zależność pomiędzy stężeniem IL-6 a poziomem VEGF przed leczeniem chorych na drobnokomórkowego raka płuca.



Rycina 3.
Zależność pomiędzy stężeniem IL-6 a poziomem TIMP-1 przed leczeniem chorych na drobnokomórkowego raka płuca.



Rycina 2.
Zależność pomiędzy stężeniem IL-6 a poziomem MMP-9 przed leczeniem chorych na drobnokomórkowego raka płuca.



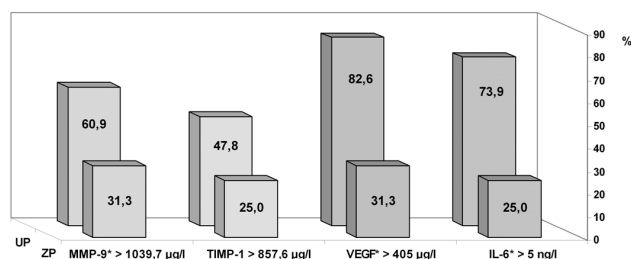
Rycina 4.
Krzywe ROC dla MMP-9, TIMP-1, VEGF i IL-6 u chorych na drobnokomórkowego raka płuca.

Tabela IIA.

Wpływ zaawansowania procesu nowotworowego oraz poziomu badanych parametrów na przeżycie całkowite chorych na drobnokomórkowego raka płuca.

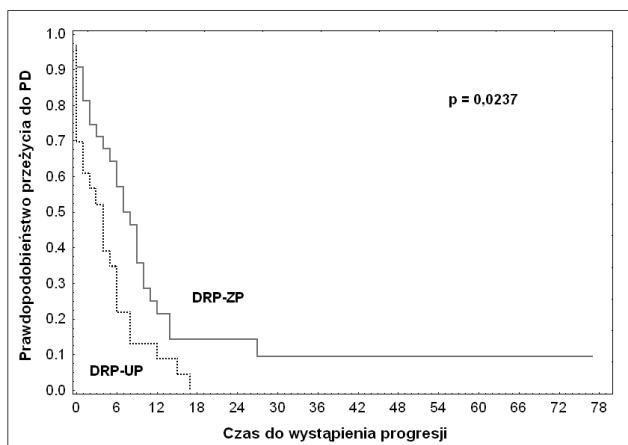
Parametr	variant	N	Mediana przeżycia (miesiące)	p	RR	CI	p
stadium zaawansowania	DRP-ZP	32	14,0	0,0128	1	0,95 – 3,31	0,086
	DRP-UP	23	9,5				
MMP-9 [µg/l]	≤ 1400	44	12,0	N.S	-	-	
	> 1400	11	11,0				
TIMP-1 [µg/l]	≤ 800	30	14,0	0,0368	-	-	
	> 800	25	11,0				
VEGF [ng/l]	≤ 405	26	15,0	0,0068	1	0,92 – 3,37	0,072
	> 405	29	9,0				
IL-6 [ng/l]	≤ 6,0	31	13,5	N.S	-	-	
	> 6,0	24	11,0				

siąca. Mediana czasu do wystąpienia progresji u chorych ze stężeniem TIMP-1 przekraczającym 800 µg/l wynosiła tylko 3,5 miesiąca, podczas gdy u chorych ze stężeniem niższym od tej wartości dyskryminatora wynosiła 7 miesięcy (ryc. 6 - 8). Niezależnym czynnikiem prognostycznym dla oszacowania czasu do wystąpienia progresji w badanej grupie chorych okazał się być TIMP. Ryzyko wystąpienia progresji było 2,12-krotnie większe u chorych na drobnokomórkowego raka płuca ze stężeniem TIMP-1 powyżej 800 µg/l, w porównaniu do pozostałych (tabela IIB).



Rycina 5.

Częstość występowania podwyższonych wyników MMP-9, TIMP-1, VEGF i IL-6 w zależności od zaawansowania procesu nowotworowego (* istotne różnice $p < 0,05$).

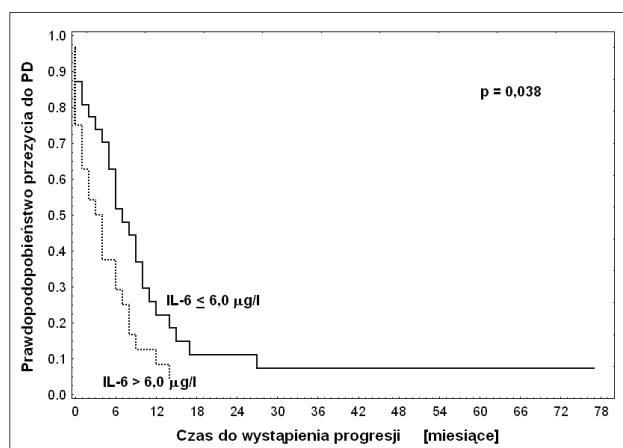


Rycina 6.

Krzywe prawdopodobieństwa przeżycia do czasu wystąpienia progresji (PD) względem zaawansowania procesu nowotworowego

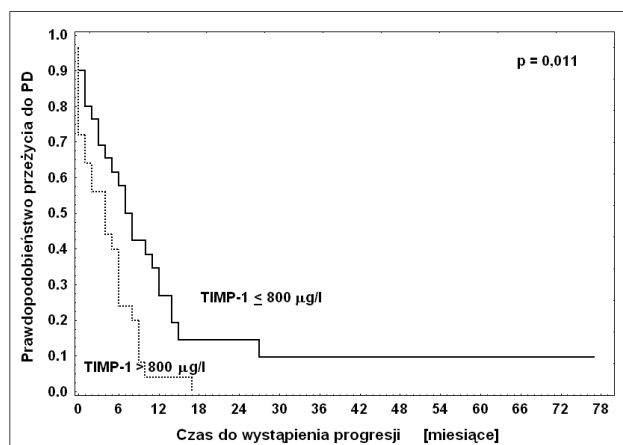
Dyskusja

Metaloproteiny macierzy zewnątrzkomórkowej (*matrix metalloproteinase* - MMP) zwane niekiedy matryksynami, to grupa 23 cynko-zależnych enzymów proteolitycznych, należących do rodziny endopeptydaz [24, 26]. W oparciu o kryte-



Rycina 7.

Krzywa prawdopodobieństwa przeżycia do czasu wystąpienia progresji (PD) w zależności od wyjściowego poziomu IL-6.



Rycina 8.

Krzywa prawdopodobieństwa przeżycia do czasu wystąpienia progresji (PD) w zależności od wyjściowego poziomu TIMP-1.

Tabela IIB.

Wpływ zaawansowania procesu nowotworowego oraz poziomu badanych parametrów u chorych na drobnokomórkowego raka płuca na czas do wystąpienia progresji.

Parametr	variant	N	Mediana czasu do progresji (miesiące)	p	RR	CI	p
stadium zaawansowania	DRP-ZP	32	7,0	0,0237			
	DRP-UP	23	3,5		-	-	
MMP-9 [µg/l]	≤ 1400	44	6,0	0,0861			
	> 1400	11	3,0		-	-	
TIMP-1 [µg/l]	≤ 800	30	7,0	0,0109	1	1,18-3,84	0,012
	> 800	25	3,5		2,12		
VEGF [ng/l]	≤ 405	26	7,2	0,0672			
	> 405	29	4,0		-	-	
IL-6 [ng/l]	≤ 6,0	31	6,5	0,0379			
	> 6,0	24	3,0		-	-	

ria dotyczące zarówno swoistości substratowej jak i budowy chemicznej wyróżnia się wśród nich kilka grup: kolagenazy, żelatynazy, stromelinazy, metaloproteinazy błonowe. Syntetyzowane są w komórkach w postaci preproenzymów i pozostają związane z błonami komórkowymi ale mogą być uwalniane do przestrzeni zewnątrzkomórkowej jako proenzymy (proMMP). W tej postaci metaloproteinazy występujące we wszystkich tkankach są nieaktywne enzymatycznie, dopiero po odcięciu propeptydu i odsłonięciu miejsca katalicznego zawierającego cynk dochodzi do ich aktywacji. Regulacja aktywności proteolitycznej metaloproteinaz zachodzi na różnych poziomach i bierze w niej udział wiele czynników, w tym swoiste inhibitory (*tissue inhibitors of metalloproteinase* – TIMP) typu 1-4 [6, 29]. Metaloproteinazom przypisywana jest znacząca rola w przebiegu szeregu procesów fizjologicznych, a m.in. w implantacji trofoblastu, embriogenezie, rozwoju kości, odnowie tkanki łącznej a zwłaszcza angiogenezie [3, 25, 27]. Zwiększoną ekspresję metaloproteinaz wykazano równocześnie w wielu stanach zapalnych takich jak reumatoidalne zapalenie stawów, zapalenie kości, rozedma płuc, ale także w chorobach autoimmunologicznych oraz nowotworowych. W tych ostatnich szczególnie zainteresowanie budzą metaloproteinazy typu 2 i 9, wytwarzane w fibroblastach, neutrofilach i makrofagach, ale też w komórkach nowotworowych, należące do grupy żelatynaz i cechujące się zdolnością do proteolitycznej degradacji kolagenu typu IV, jednego z zasadniczych składników błony podstawnej naczyń. Przedmiotem wielu badań były i są zależności pomiędzy ekspresją tych metaloproteinaz a procesami inwazji, progresji i tworzenia odległych przerzutów w chorobach nowotworowych o różnej lokalizacji narządowej, w tym również w raku płuca, zwłaszcza w raku niedrobnokomórkowym [4, 5, 10, 11, 16, 17]. Rozwój nowych technologii pomiarowych umożliwił badania stężenia metaloproteinaz i ich tkankowych inhibitorów w surowicy krwi. Jednak nie zawsze stwierdza się wyraźną korelację pomiędzy ekspresją a stężeniem w surowicy [15]. Rozważany jest w regulacji ekspresji MMP-9 udział wielu czynników wzrostu, cytokin oraz chemokin a

efekty jej działania są w jakiejś mierze ich wypadkową. Liczba czynników mających wpływ na kształtowanie się stężenia w surowicy jest znacznie większa i może wpływać w bardzo różnorodny sposób na poziom MMP-9. Podobne zastrzeżenia można wysunąć odnośnie badań stężenia TIMP-1 i one powinny być również brane pod uwagę przy interpretacji wyników. W prezentowanych badaniach nie uzyskano dowodów wskazujących na prognostyczną wartość wyników oznaczeń stężenia MMP-9 u chorych na drobnokomórkowego raka płuca, natomiast wykazano istotne zależności pomiędzy przeżyciem bezobjawowym i całkowitym chorych na drobnokomórkowego raka płuca a stężeniem TIMP-1. Te obserwacje pozostają w pewnej mierze w zgodności z obserwacjami Fong i wsp. oraz Hoikkala i wsp. odnoszącymi się do wartości ekspresji TIMP-1 w ocenie rokowania chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca [8, 13].

Analizując wyniki dotyczące udziału MMP-9 w procesach wzrostu komórek nowotworowych, uzyskiwania fenotypu inwazyjnego, progresji oraz tworzenia odległych przerzutów należy uwzględnić eksponowane coraz częściej opinii odnośnie przeciwnowotworowej aktywności metaloproteinaz, jak i ich inhibitorów [22, 23]. Na podstawie badań na zwierzętach doświadczalnych wysuwa się sugestie, że ekspresja przynajmniej niektórych metaloproteinaz w tym również MMP-9 może wywierać efekt osłaniający lub hamujący rozwój guza pierwotnego jak i przerzutów, jeżeli uwzględni się złożone mechanizmy ich aktywacji jak i udział w ich stymulacji wielu czynników, w tym również wykazujących wyraźne działanie przeciwnowotworowe [1]. Uważa się, że o aktywności proteolitycznej metaloproteinaz może decydować nie tyle stopień ekspresji, co wzajemny stosunek między nimi a czynnikami hamującymi ich aktywność [18].

W wielu pracach podkreślana jest kluczowa rola metaloproteinaz, w tym szczególnie MMP-9 w procesach angiogenezy u chorych na nowotwory złośliwe [25]. Jednym z czynników pobudzających proces neoangiogenezy, oprócz mutacji genetycznych jest niedotlenienie, jakie występuje już w guzach o objętości ok. 2 mm³ ponieważ pobieranie wówczas tlenu

oraz substancji odżywczych z naczyń krwionośnych w wyniku dyfuzji staje się niemożliwe [7,14]. W wieloetapowym procesie prowadzącym do przewagi czynników proangiogennych nad antyangiogennymi uczestniczy czynnik HIF-1 (*hipoxia inducible factor-1*) odpowiedzialny za transkrypcję ok. 150 różnych genów m.in. kodujących naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu (VEGF), czynnik wzrostu fibroblastów (FGF), łożyskowy czynnik wzrostu (PIGF) czy cytokiny: TNF- α , IL-1 β , IL-2 czy IL6. VEGF wzmacnia przepuszczalność naczyń krwionośnych umożliwiając m.in. przenikanie do przestrzeni pozanaczyniowej plazminogenu i fibrynogenu. W procesie angiogenezy metaloproteinazy wytwarzane są nie tylko przez komórki śródbłonka i składniki matrycy pozakomórkowej, ale także przez komórki nowotworowe, jak również tworzące podścielisko guza komórki m.in. makrofagi TAM. W aktywacji MMP-9 oprócz plazminy mogą uczestniczyć inne proteazy serynowe takie jak: kalikreina, czy trypsyna, a także inne metaloproteinazy; m.in MMP-2 jest uznawana za silny aktywator MMP-9 [20]. Za potwierdzenie opisywanych zależności pomiędzy nasileniem angiogenezy a MMP-9 można uznać obserwowaną w prezentowanych badaniach dodatnią, istotną korelację pomiędzy stężeniem VEGF i MMP-9.

Stwierdzone w badanej grupie chorych na drobnokomórkowego raka płuca zależności pomiędzy stężeniem IL-6 a VEGF, MMP-9 oraz TIMP-1 mogą przemawiać za istotną rolę tej cytokiny w regulacji zarówno poziomu VEGF i nasilenia procesów angiogenezy jak i aktywacji proteolitycznej aktywności MMP-9 a także jej inhibitora TIMP-1. IL-6 uznawana jest za aktywator „drugiego rzutu” procesów zapalnych. W naszych wcześniejszych badaniach wykazano, że ta cytokina u chorych na drobnokomórkowego raka płuca spełnia istotną rolę w regulacji stężenia VEGF i jest oprócz zaawansowania procesu nowotworowego niezależnym, niekorzystnym czynnikiem prognostycznym [30]. Podsumowując można wysunąć sugestię, że MMP-9, TIMP-1, VEGF oraz IL-6 należą do kompleksu czynników mających kluczowe znaczenie dla rozwoju reakcji zapalnej, nasilenia procesów neoangiogenezy i destrukcji macierzy pozakomórkowej, a tym samym mających istotne znaczenie dla rokowania chorych na drobnokomórkowego raka płuca.

Piśmiennictwo

1. Acuff HB, Carter KJ, Fingleton B et al. Matrix metalloproteinase-9 from bone marrow-derived cells contributes to survival but not growth of tumor cells in the lung microenvironment. *Cancer Res* 2006; 66: 259-266.
2. Ara T, DeClerck YA: Interleukin -6 in bone metastasis and cancer progression. *Eur J Cancer* 2010; 46: 1223-1231.
3. Bogaczewicz J, Dudek W, Zubilewicz T, et al. Rola metaloproteaz macierzy i ich tkankowych inhibitorów w angiogenezie. *Pol Merk Lek* 2006; 21: 80-85
4. Bonomi P.: Matrix metalloproteinases and matrix metalloproteinase inhibitors in lung cancer. *Semin Oncol* 2002; 29:78-86
5. Cox G, Jonem JL, O'Byrne KJ. Matrix metalloproteinase 9 and the epidermal growth factor signal pathway in operable non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 2349-2355
6. Dziańska-Bartkowiak B, Waszczykowska E, Żebrowska A: Udział metaloproteinaz i ich inhibitorów w patomechanizmie wybranych chorób skóry. *Alergia Astma Immunologia* 2004; 9: 71-79.
7. Folkman J. What's the evidence that tumors are angiogenesis-dependent? *J Natl Cancer Inst* 1990; 82: 4-6.
8. Fong KM, Kida Y, Zimmerman PV, Smith PJ. TIMP1 and adverse prognosis in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 1996; 2:1369-1372
9. Gialeli Ch, Theocharis AD, Karamanos NK. Roles of matrix metalloproteinases in cancer progression and their pharmacological targeting. *FEBS* 2010; 1-12.
10. Gueders MM, Foidart J-M, Noel A, Cataldo DD. Matrix metalloproteinase (MMPs) and tissue inhibitors of MMPs in the respiratory tract: potential implications in asthma and other lung diseases. *Eur J Pharmacol* 2006; 533:133-144
11. Heist RS, Marshall AL, Liu G, et al. Matrix metalloproteinase polymorphisms and survival in stage I non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2006; 12(18):5448-5453
12. Hiratsuka S, Nakamura K, Iwai S, et al. MMP9 induction by vascular endothelial growth factor receptor-1 is involved in lung-specific metastasis. *Cancer Cell* 2002; 2: 289-300
13. Hoikkala S, Pääkkö P, Soini Y et al. Tissue MMP-2/TIMP-2-complex are better prognostic factors than serum MMP-2, MMP-9 or TIMP-1 in stage I – II lung carcinoma. *Cancer Letters* 2006; 236:125-132
14. Holmgren L, O'Reilly MS, Folkman J. Dormancy of micrometastases: balanced proliferation and apoptosis in the presence of angiogenesis suppression. *Nat Med* 1995; 1: 149-153.
15. Iizasa T, Fujisawa T, Suzuki M et al. Elevated levels of circulating plasma matrix metalloproteinase 9 in non-small cell lung cancer patients. *Clin Cancer Res* 1999; 5: 149-153.
16. Jumper C, Cobos E, Lox Ch. 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; 98:173-177
17. Kim SJ, Rabbani ZN, Dewhirst MW, et al. Expression of HIF-1 α , CAIX, VEGF, and MMP-9 in surgically resected non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2005; 49:325-335
18. Kołomecki K. Hamowanie funkcji metaloproteinaz – możliwości zastosowania klinicznego. *Onkol Polska* 2000; 3,3: 163-167
19. Kwon KA, Kim SH, Oh SY, et al. Clinical significance of preoperative serum vascular endothelial growth factor, interleukin 6, and CRP protein level in colorectal cancer. *BMC* 2010; 10:203-211
20. Laack E, Scheffler A, Burkholder I, et al. Pretreatment vascular endothelial growth factor (VEGF) and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) serum levels in patients with metastatic non-small cell lung cancer (NSCLC). *Lung Cancer*, 2005; 50: 51-58
21. Lederle W, Depner S, Schunr S, Obermueller E, Just A, Fusenig NE, Mueller MM. IL-6 promotes malignant growth of skin SCCs by regulating a network of autocrine and paracrine cytokines. *Int J Cancer*, 2010, [epub ahead of print]
22. Martin MD, Matrisian LM. The other side of MMPs: Protective roles in tumor progression. *Cancer Metastasis Rev* 2007; 26: 717-724
23. McCawley LJ, Matrisian LM. Matrix metalloproteinases: multifunctional contributors to tumor progression *Mol Med Today* 2000; 6: 149- 156.
24. Nagase H, Woessner JF. Matrix metalloproteinase. *J Biol Chem* 1999; 274: 21491 – 21494.
25. Rundhaug JE. Matrix metalloproteinases and angiogenesis. *J Cell Mol Med* 2005; 9: 267-285.
26. Stamenkovic I. Extracellular matrix remodeling: the role of matrix metalloproteinases. *J Pathol* 2003; 200: 448-464
27. Stetler-Stevenson WG. Matrix metalloproteinases in angiogenesis. A moving target for therapeutic intervention. *J Clin Invest* 1999; 103: 1237-1244.

28. Szala S. Angiogeneza i immunosupresja: jin i jang progresji nowotworów?. *Postępy Hig Med Dośw* 2009; 63: 598-612.
29. Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinase. Structure, function, and biochemistry. *Circ Res* 2003; 92:827-839.
30. Wójcik E, Jakubowicz J, Skotnicki P, et al. IL-6 and VEGF in small cell lung cancer. *Anticancer Res*, 2010, 30: 1773-78

Adres do korespondencji:

Zakład Analityki i Biochemii Klinicznej
Centrum Onkologii Oddział w Krakowie
31-115 KRAKÓW, ul. Garncarska 15
e-mail: jkulpa@cyfronet.pl

(Praca wpłynęła do Redakcji: 03.12.2010)

(Praca przekazana do opublikowania: 09.12.2010)