

I. STRESZCZENIE

Macierz pozakomórkowa, będąc rezerwuarem wody i elektrolitów, otacza komórki zespalać je w tkanki, a te w narządy. Uczestniczy ona w procesie wymiany produktów metabolizmu pomiędzy środowiskiem zewnętrznym i komórkami. Degradacja składników macierzy zachodzi przy udziale metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej. Są one syntetyzowane i wydzielane w postaci nieaktywnych zymogenów przez większość komórek ludzkiego organizmu.

Metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej stanowią grupę enzymów proteolitycznych. Enzymy te odgrywają dużą rolę w procesach nowotworowych ze względu na ich udział w miejscowej inwazji nowotworowej, w procesie powstawania przerzutów odległych, a także w procesie angiogenezy. Regulacja ich aktywności odbywa się na wielu etapach, a najistotniejszą rolę w tym procesie pełnią tkankowe inhibitory metaloproteinaz.

Proces nowotworzenia charakteryzuje się nie tylko powstawaniem zmian morfologicznych oraz funkcjonalnych komórek, ale również otaczającej je macierzy pozakomórkowej. Najbardziej niebezpieczną dla ludzkiego organizmu cechą kancerogenezy jest zdolność do miejscowej inwazji oraz do powstawania przerzutów odległych.

Nowotwory układu moczowego stanowią istotny problem diagnostyczno-terapeutyczny, a zachorowalność na nie z każdym rokiem wzrasta. Rak nerkowokomórkowy nerki jest najczęstszym rodzajem złośliwego nowotworu tego narządu. Najczęstszym typem raka nerkowokomórkowego jest rak jasnokomórkowy,

Podjąłem próbę oceny udziału wybranych metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej w raku nerki, przede wszystkim z uwagi na stosunkowo niewiele badań MMP w tym nowotworze oraz wzrastającą liczbę zachorowań oraz zgonów.

Do badań zakwalifikowałem 20 pacjentów leczonych operacyjnie z rozpoznaniem histopatologicznym raka jasnokomórkowego nerki. Materiał podzieliłem według stadium zaawansowania guzów. Grupę porównawczą stanowiło 20 fragmentów, niezajętego procesem nowotworowym, miększu usuniętej nerki.

Metodami *elektroforezy, zymografii, Western Immunoblot, ELISA* oraz *fluorymetryczną* oceniłem: obecność (ekspresję) MMP-1, MMP-3, MMP-7, MMP-9 oraz MMP-14, a także TIMP-1 i TIMP-4, zawartość i aktywność powyższych metaloproteinaz, aktywność kolagenolityczną. Oznaczyłem również zawartość kolagenu, DNA oraz białka.

Wykazałem zmniejszenie ilości kolagenu oraz wzrost zawartości DNA w raku nerki w odniesieniu do materiału kontrolnego. W badanych tkankach stwierdziłem obecność metaloproteinaz zdolnych do degradacji żelatyny oraz karboksymetylotransferyny. Wykazałem ekspresję wszystkich badanych enzymów oraz ekspresję tkankowych inhibitorów, zarówno w raku jak i materiale kontrolnym. Zdecydowana większość z nich występuje w wielkocząsteczkowych kompleksach. Wykazałem mniejszą zawartość MMP-1, MMP-3, MMP-14 w tkance nowotworowej w porównaniu do materiału kontrolnego. Ich zawartość malała wraz ze wzrostem stopnia zaawansowania raka. Wykazałem większą ilość MMP-7 w stadium G2 raka względem kontroli, która była znamienne niższa w stadium G3. Jedynie zawartość MMP-9 była wyższa niż w materiale porównawczym i wzrastała wraz ze wzrostem zaawansowania raka. W zależności od badanego enzymu oraz fazy rozwoju nowotworu, stwierdziłem różne relacje pomiędzy aktywnością aktualną i aktywnością właściwą w tkance nowotworowej, w zależności od stadium zaawansowania raka nerki. Największe znaczenie w przebudowie macierzy pozakomórkowej w raku nerki odgrywa MMP-9, MMP-1 i MMP-3.

I. SUMMARY

Extracellular matrix (ECM), as a reservoir of water and electrolytes, surrounds cells combining them into tissues, and tissues into organs. It takes part in exchange of products of metabolism between cells and ECM. Degradation of ECM components occurs with the contribution of matrix metalloproteinases (MMPs). They are synthesised and secreted in the form of inactive zymogens (proenzymes) by most of cells in the human body.

Matrix metalloproteinases are a group of proteolytic enzymes. MMPs play very important role in neoplastic processes. They are involved in tumor growth, distant metastasis and angiogenesis. Activity of metalloproteinases is precisely regulated at the stages of transcription, secretion from cells, activation, as well as by tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs) that control MMP activities in extracellular space.

Carcinogenetic process is characterized not only with morphological and physiological changes of cells but ECM as well. The most dangerous feature of neoplastic processes is their ability of metastasis formation.

Neoplasms of the urinary tract comprise significant diagnostical and therapeutical problem and the incidence is growing with every year. Renal cell carcinoma is the most frequent type of kidney cancer. Clear cell carcinoma is its most frequent subtype.

I made an attempt to evaluate the contribution of chosen matrix metalloproteinases in kidney cancer tissue mainly due to a lack of data and rising number of incidence and deaths a year.

I enrolled 20 patients whom underwent surgical excision of kidney with histopathological recognition of clear cell carcinoma. I divided the material into two groups where the main feature was grade degree of cancer. The comparative group was 20 samples of renal tissue which was not involved by carcinogenetic process.

With the use of *electrophoresis*, *zymography*, *Western Immunoblot*, *ELISA* tests and fluorometric method I have evaluated: expression of MMP-1, MMP-3, MMP-7, MMP-9 and MMP-14 and also two inhibitors of matrix metalloproteinases: TIMP-1 and TIMP-4. Their content and activity in collected tissues was evaluated as well. I have also estimated the content of collagen, DNA and protein.

I have shown reduction of collagen content and increased DNA content in kidney cancer in comparison to healthy tissue. I confirmed expression of metalloproteinases able to degrade gelatin and carboxymethyltransferrin. I have shown an expression of all investigated enzymes and their inhibitors in cancer and comparative tissue. The majority of them occurs in high molecular complexes. The decreased content of MMP-1, MMP-3 and MMP-14 in cancer tissue in comparison to healthy tissue were shown. Their content was decreased with increased stadium of tumor. The higher content of MMP-7 at the G2 stadium of cancer in comparison with control tissue was shown. Only MMP-9 content was higher in cancer than in healthy tissue and was rising with higher grade. Depending on investigated enzyme and grade degree, I confirmed different relations between actual activity and specific activity of metalloproteinases in cancer tissue. MMP-9, MMP-1 and MMP-3 were these metalloproteinases that had the most important significance in kidney cancer ECM rebuilding process.