

Biološke membrane

Regulacija membranskih proteinov s šedazami

Tinkara Butara, Petja Premrl, Gaja Starc, Pia Špehar in Zarja Weingerl
maj, 2025

KAZALO VSEBINE

1	Uvod.....	3
1.1	Membranski proteini.....	3
1.2	Šedaze	3
1.2.1	Šedaze iz družine metaloproteaz.....	4
1.2.2	Šedaze iz družine aspartatnih proteaz.....	4
2	Mehanizmi delovanja šedaz	5
2.1	Kanonične šedaze	6
2.2	Nekanonične šedaze.....	7
3	Fiziologija	9
3.1	Metaloproteaze ADAM, γ -sekretaza, proteaza BACE1	10
3.2	Metaloproteaze matriksa (MMP).....	11
4	Patologija in zdravljenje.....	12
4.1	Patologija ADAM10 in 17.....	12
4.2	Inhibitorji ADAM17	13
4.3	Sekretaze in nevrodegeneracija	14
4.4	Zdravljenje nevrodegeneracije	15
4.5	Patologija MMP-3 in 7	15
4.6	Inhibitorji MMP-7.....	16
5	Viri in literatura	17

1 UVOD

1.1 Membranski proteini

Biološke membrane so pregrade, ki obdajajo celice in njihove organele. Osnovna enota večine bioloških membran so fosfolipidi, vendar velik delež membrane predstavljajo tudi proteini, ki so razporejeni mednje in nanje tudi pritrjeni. Ravno proteini so tisti del membrane, ki opravlja večino njenih specifičnih funkcij. Prav tako pa proteini dajejo vsaki vrsti membrane njene značilne lastnosti, ki jih ločijo od ostalih membran [1, 2].

Membranske proteine lahko razdelimo na periferne in integralne. Periferni membranski proteini so na membrano šibko pritrjeni bodisi z elektrostatičnimi ali van der Waalsovimi interakcijami (na lipide oz. druge membranske proteine), bodisi s kovalentnim sidrom. Po drugi strani pa so integralni membranski proteini v membrano močno sidrani. Membranski proteini so lahko pritrjeni samo na eni strani lipidnega dvosloja, lahko pa lipidni dvosloj prehajajo [1].

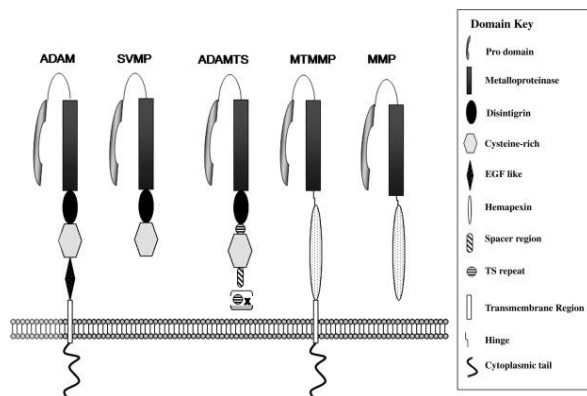
Integralni membranski proteini imajo ključne vloge v celici, saj opravljajo različne funkcije: prenašajo ione in druge večje/manjše molekule, odgovorni so za pošiljanje in sprejemanje kemičnih signalov, širijo električne impulze, pomagajo pri povezovanju celic in sidranju drugih proteinov na določena mesta v celici. Sodelujejo pa tudi pri uravnavanju znotrajceličnega vezikularnega transporta ter pri organiziranju in vzdrževanju oblike organelov in same celice. Integralne proteine tako delimo v več vrst glede na njihove funkcije, in sicer na receptorje (prenašajo signale med notranjim in zunanjim okoljem celice); transportne proteine (pomagajo pri transportu molekul in ionov čez membrano); proteine, ki so potrebni za celično adhezijo (pomagajo pri povezovanju celic) in membranske encime, ki opravljajo različne funkcije (transferaze, hidrolaze, oksidoreduktaze...). V tem seminarju se bomo osredotočile predvsem na skupino membranskih encimov, ki skrbijo za regulacijo drugih membranskih proteinov – šedaze [1, 2].

1.2 Šedaze

Šedaze so specializirane proteaze, ki nadzorujejo številčnost in delovanje različnih membranskih proteinov. Svojo nalogo opravljajo tako, da cepijo zunajcelične domene (ektodomene) svojega substrata (membranskega proteina), pri čemer se topna ektodomena membranskega proteina sprosti iz membrane. S svojim delovanjem tako znižujejo ali zvišujejo aktivnosti različnih membranskih proteinov. Gre predvsem za cepitev raznih receptorjev, rastnih faktorjev, citokinov in adhezijskih molekul. Šedaze navadno cepijo del ektodomene, ki je najbližje transmembranski domeni. Šedaze najdemo med različnimi proteazami, najbolj raziskane šedaze pa so membranski proteini, ki jih najdemo v družinah metaloproteaz (šedaze ADAM in MMP) in aspartatnih proteaz (šedaze BACE) [3].

1.2.1 Šedaze iz družine metaloproteaz

Metaloproteaze se delijo v tri podskupine: cinkine, necinkine in invercinkine. Šedaze najdemo med cinkini, bolj natančno med metcinkini, in sicer med encimi MMP (metaloproteaze matriksa) in med encimi ADAM (ang. *a disintegrin and metalloprotease*). Strukture proteaz teh dveh skupin so zato nekoliko različne, ampak vseeno vidimo neke podobnosti (slika 1). Metcinkini so večdomenski proteini, ki se sintetizirajo v prekursorski obliki, zato je za njihovo delovanje potrebna aktivacija, ki jo izvajajo druge proteaze [4].



Slika 1: Strukture različnih tipov metaloproteaz [4].

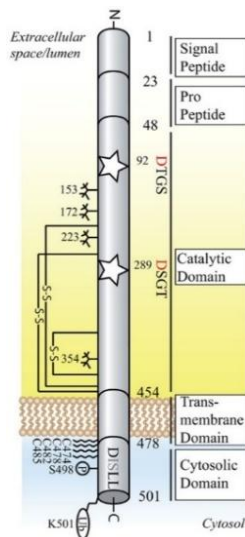
Vsi metcinkini vsebujejo na N-koncu signalni peptid, ki se odstrani v endoplazemskem retikulumu. Za aktivno delovanje encima pa se mora poleg odcepa signalnega peptida odcepiti tudi prodomena, s čimer dobimo aktiven encim. Prodomena je potrebna za zagotavljanje pravilnega zvitja proteina, kasneje pa se odstrani znotraj celice med prehodom skozi Golgijev aparat, kjer so prisotne proprotein konvertaze. Vsem metcinkinom pa je skupna še ena domena - to je katalitična domena (proteazna oz. metaloproteazna domena), ki sledi pro-domeni. Ta domena šedazam omogoča njihovo delovanje (opisano v poglavju 2 *Mehanizmi delovanja šedaz*) [4].

Ostale domene pa se razlikujejo med različnimi skupinami proteaz. Šedaze iz skupine MMP vsebujejo še hemopeksinsko domeno, in ker so to transmembranski encimi vsebujejo še transmembransko regijo ter na koncu citosolni del. Vse šedaze iz skupine ADAM pa vsebujejo disintegrinsko domeno, s katero se v zunajceličnem matriksu povezujejo z integrini, s cisteini bogato domeno, lahko pa vsebujejo tudi EGF domeno, ki ni vedno prisotna. Tudi te šedaze vsebujejo transmembransko regijo in citosolni del, ki pa se med različnimi proteini zelo razlikuje [4].

1.2.2 Šedaze iz družine aspartatnih proteaz

V družini aspartatnih proteaz poznamo šedaze BACE (ang. *β -site APP cleaving enzyme*). Struktura teh šedaz je podobna tistim iz družine metaloproteaz (slika 2). Na N-koncu imajo tudi ti encimi signalni peptid, ki se odcepi v endoplazemskem retikulumu in pa pro-domeno, ki je tudi tukaj odgovorna za pravilno zvitje proteina. Tudi te šedaze se namreč sintetizirajo v pro-obliki, ki se v Golgijevem aparatu sprocesa do aktivne oblike. Za aktivno delovanje pa grede šedaze BACE tudi skozi proces glikozilacije. Pro-domeni sledi katalitična domena. Te šedaze so aspartatne

proteaze, zato se njihove katalitične domene nekoliko razlikujejo od metaloproteaznih šedaz, delovanje pa je po principu enako. Aktivno mesto vsebuje aspartatne aminokislinske ostanke znotraj dveh značilnih motivov (DTGS oz. DSGT). Encim za svojo aktivnost potrebuje oba aspartata, ki ju navadno dobi z dimerizacijo dveh monomernih proteinov BACE. Na koncu pa imajo tudi ti proteini transmembransko regijo in citosolni del [5].



Slika 2: Struktura aspartatne šedaze [5].

2 MEHANIZMI DELOVANJA ŠEDAZ

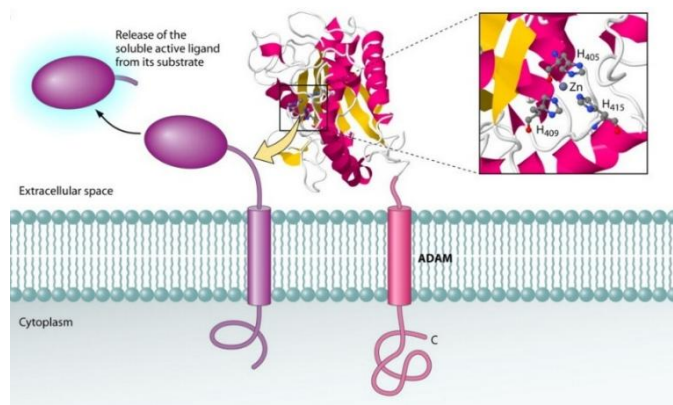
Proteaze s šedazno aktivnostjo torej sestavljajo zelo heterogeno skupino proteaz, kar je povezano z različnimi mehanizmi delovanja. Šedazno aktivnost imajo predstavnice različnih skupin proteaz glede na katalitični aminokislinski ostanek. Najdemo jih med metaloproteazami, aspartatnimi, serinskimi in cisteinskimi proteazami [6]. Šedaze se močno razlikujejo tudi v substratni specifičnosti – nekatere cepijo več substratov, za druge pa poznamo le enega. Šedaze, ki odcepljajo ektodomene več različnih transmembranskih substratov običajno opredelimo kot 'full-time' šedaze. Encime, ki poleg šedazne aktivnosti, opravljajo še druge funkcije, pa lahko opredelimo kot 'part-time' šedaze, V to skupino sodijo MMP, ki poleg membranskih cepijo tudi topne proteine. Običajno 'part-time' šedaze odcepljajo ektodomene le iz enega specifičnega substrata [7].

Kljub številnim razlikam, je šedazam skupna njihova vloga pri uravnavanju delovanja celic preko proteolitične cepitve membranskih proteinov. Šedaze, ki cepijo substrate na luminalnem delu proteina, ki se nahaja ob membrani (ang. juxtamembrane) lahko klasificiramo kot *kanonične šedaze*. Proteaze te skupine so najpogostejše vezane v membrano, nekatere, denimo MMP pa so tudi topni proteini [1].

2.1 Kanonične šedaze

Najbolje raziskani sta skupini proteaz – zlasti ADAM 10 in ADAM 17 (TACE; TNF α -converting enzyme) ter aspartatne proteaze BACE – katerih struktura je opisana v uvodnem poglavju. Vsi navedeni encimi sodijo v skupino 'full-time' kanoničnih šedaz [7, 8].

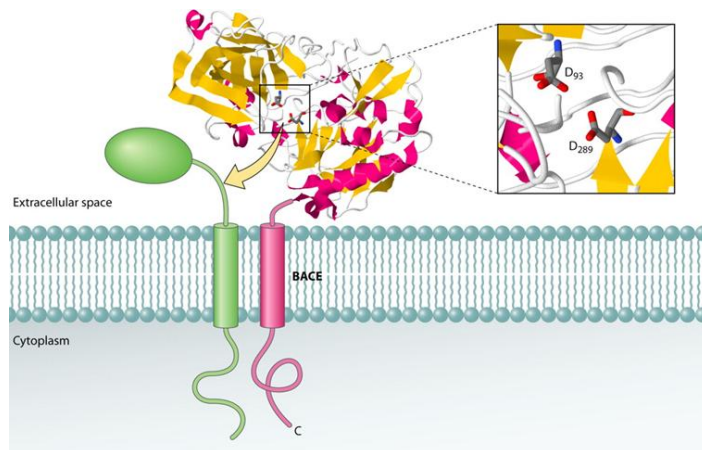
Približno polovica proteinov družine ADAM ima aktivne proteazne domene, med njimi najdemo metaloendopeptidaze, ki so topni ali transmembranski proteini, ki membrano prehajajo enkrat. Njihova poglavitna značilnost je šedazna oz. sekretazna aktivnost, cepijo pa veliko število substratov, med njimi rastne faktorje, citokine in adhezijske proteine [9]. Proteaze ADAM, kot omenjeno, uvrščamo v skupino metcinkinov in delujejo po ohranjenem mehanizmu za delovanje tovrstnih metaloproteaz. Aktivno mesto vsebuje ohranjeno zaporedje HEXXHXXGXXH, znotraj katerega so 3 His ostanki ključni za koordinacijo Zn²⁺ iona (slika 3) [10, 11]. Zgornji del katalitične špranje obdaja β -ploskev, sestavljena iz 5 trakov. Spodnji del špranje pa obdaja α -vijačnica, ki vsebuje HEXXH del motiva, del katerega sta prva 2 His ostanka, ki koordinirata katalitični Zn²⁺ ion ter Glu ostanek, ki sodeluje pri katalizi [12]. Slednji je udeležen pri polarizaciji molekule vode, ki je koordinirana na Zn²⁺ ion, in omogoča njen nukleofilni napad na peptidno vez. Ohranjen Gly ostanek pa omogoča oster zavoj v proteinski strukturi, ki je potreben za koordinacijo Zn²⁺ iona s tretjim ohranjenim His ostankom [10, 11]. Katalitičnemu motivu sledi ohranjen Met zavoj, zaslužen za ime metcinkini, ki se spakira ob vezavno mesto za Zn²⁺. Za substratno specifičnost šedaz ADAM so ključna mesta S3, S1 in S1'. Glavna razlika med substrati, ki jih prepoznata šedazi ADAM10 oz. ADAM17 je v mestu P1'. ADAM10 ima globok in hidroforen S1' žep, medtem ko je S1' žep ADAM17 plitvejši in dodatno omejen z Ala in Val ostankoma. Na mestu P1' imajo substrati, ki jih cepi ADAM10, velike hidrofobne ostanke, substrati šedaze ADAM17 pa majhne in hidrofobne ostanke, ki niso aromatski. Disintegrinska in s cisteini bogata domena sta udeleženi v avtoregulaciji šedaze. V odsotnosti vezave substrata omejujeta dostop do žepa, ki določa specifičnost vezave substrata v aktivno mesto [12].



Slika 3: Mehanizem delovanja šedaz ADAM [13].

Še ena skupina šedaz, ki jih uvrščamo med metcinkine, so MMP. Proteaze iz te družine sicer poleg šedazne aktivnosti cepijo še številne topne substrate, zaradi česar jih uvrščamo med 'part-time' šedaze [14]. Sicer pa se od proteaz ADAM razlikujejo po substratni specifičnosti. Na mestu P1' substrata preferirajo večje alifatske ali aromatske ostanke, na mestu P3 pa Pro ostanek, ki je pri substratih razmeroma ohranjen [15].

Druga podrobno raziskana skupina 'full-time' kanoničnih šedaz so proteaze BACE, ki delujejo kot β -sekretaze (slika 4). BACE1 in 2 sta integralna membranska proteina tipa I in aspartatni proteazi. Najbolj znan substrat, ki ga cepijo šedaze iz te skupine, je amiloidni prekursorski protein (APP). Za cepitev sta ključna Asp ostanke v aktivnem mestu, ki sestavljata katalitično diado. Katalitična Asp ostanke koordinirata molekulo vode preko tvorbe H-vezi. BACE1 pri cepitvi izkorišča klasičen kislinsko-bazni mehanizem katalize [13, 16]. Šedaza BACE1 je zmožna cepiti raznolike substrate, v nasprotju z ostalimi Asp proteazami ima preferenco za kisle in polarne ostanke. Za substratno specifičnost so bolj kot C-končni ostanke pomembni ostanke na N-koncu glede na mesto cepitve. Na specifičnost naj bi vplivali celo ostanke, ki so od mesta cepitve oddaljeni bolj kot mesto P4 [17].



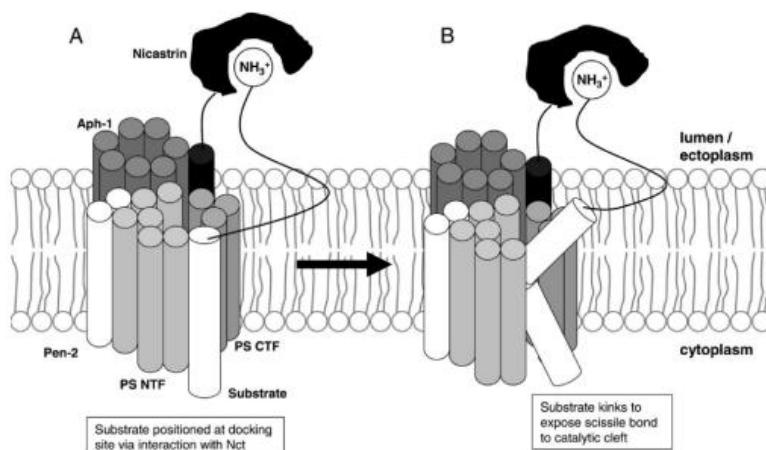
Slika 4: Mehanizem delovanja šedaz BACE [13].

2.2 Nekanonične šedaze

Največkrat torej primarno cepitev izvedejo kanonične šedaze družin ADAM in BACE [3,13]. Odcepljanje ektodomen pa omogoča iniciacijo *regulirane znotrajmembranske proteolize* (ang. regulated intramembrane proteolysis, RIP). Membranski proteini tipov I ali II po odstranitvi ektodomen, postanejo substrati za intramembranske proteaze (I-CLiP, intramembranske proteaze, ki cepijo znotraj membrane), primer kakršne je denimo proteaza mesta 2 (S2P). Znotrajmembranske proteaze so običajno integralni membranski proteini, ki izvedejo sekundarno cepitev, le-ta pa omogoča sprostitve znotrajceličnih domen. Gre za uravnavan mehanizem proteolitične cepitve, ki je tipično udeležen v prenos signala ali razgradnjo membranskih proteinov [7–9].

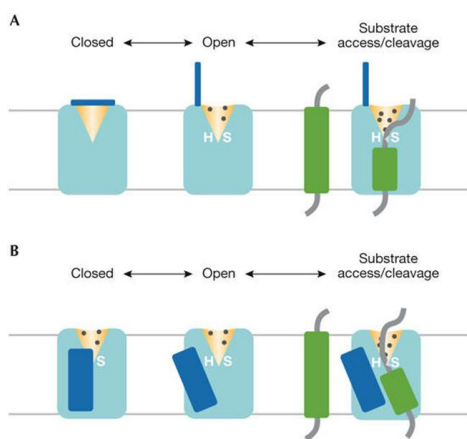
Določene znotrajmembranske proteaze pa lahko cepitev znotraj membrane opravijo tudi brez predhodne cepitve s kanonično šedazo, tovrstne encime imenujemo *nekanonične šedaze*. Znan primer predstavljajo šedaze iz družine romboidov. Določene znotrajmembranske proteaze – denimo γ -sekretaza ali peptidaza signalnih peptidov (SPP) – pa lahko brez predhodne cepitve cepijo le občasno, kar jih uvrsti v kategorijo 'part-time' nekanoničnih šedaz [7–9].

Primer 'part-time' nekanonične šedaze je torej γ -sekretaza - transmembranska proteaza sestavljena iz več podenot. Kot šedaza deluje le v določenih primerih, sicer pa prepozna preko 100 različnih substratov (znana je vpletenost v Alzheimerjevo bolezen) [7]. Za šedazno aktivnost je ključna presenilinska domena 1 ali 2 (aspartatna proteaza), ki cepi membranske proteine tipa I. Za prepoznavo substrata je ključna podenota nikastrin s transmembransko domeno in ektodomeno [18]. Ravno kompaktna ektodomena nikastrinske podenote, ki deluje kot nekakšen pokrov, omejuje cepitev substratov z dolgimi ektodomenami brez predhodne cepitve (denimo z α - ali β -sekretazo). Dolžina ektodomena, ki jo lahko presenilinska domena cepi brez predhodne cepitve, je tako omejena na približno 50 aminokislinskih ostankov. Primer takšnega substrata je antigen zorenja B-celic (BCMA) – član superdružine receptorjev TNF, ki je prisoten na plazmatkah. Glede na to, da so v človeškem proteomu prisotni še drugi membranski proteini tipa I z naravno kratkimi ektodomenami lahko predpostavimo obstoj nekaterih drugih substratov, ki jih lahko γ -sekretaza cepi direktno [7]. Poleg obeh opisanih vsebuje γ -sekretaza več podenot s podpornimi vlogami (ang. anterior pharynx-defective 1; Aph-1 in ang. presenilin enhancer 2; Pen-2) [8, 18]. Po odcepitvi ektodomena se N-konec substrata preko elektrostatske interakcije z Glu333 nikastrinske zunajcelične domene pozicionira med 2 fragmenta presenilinskega heterodimera (slika 5A). Substrat se nato prestavi ali upogne na način, ki omogoča cepitev peptidne vezi znotraj membrane preko izpostavljenosti katalitičnem mestu, ki ga tvorita Asp ostanka na transmembranskih α -vijačnicah 6 in 7 (slika 5B) [18]. Katalitični mehanizem naj bi deloval na osnovi z vodo napolnjene votline znotraj katalitične domene, ki omogoča hidrolizo peptidne vezi [19].



Slika 5: Mehanizem delovanja γ -sekretaze [18].

Romboidi (denimo RHBDL1 in 2) so skupina Ser proteaz, ki delujejo kot znotrajmembranske ('full-time' nekanonične) šedaze, saj za delovanje ne potrebujejo predhodne cepitve. Osrednja romboidna domena sestoji iz 6 transmembranskih vijačnic, najpogosteje pa imajo še dodatno C-končno α -vijačnico. Katalitična diada je, kot je značilno za Ser proteaze sestavljena iz ohranjenih Ser (na vijačnici 4) in His (na vijačnici 6) aminokislinskih ostankov. Aktivno mesto je obrnjeno proti lumnu oz. zunajceličnemu matriksu (ZCM). Zato cepijo transmembranske proteine tipa I, ki imajo N-konec obrnjen v lumen/zunanjost. [20]. Predlagan mehanizem prepoznavanja substrata predpostavlja vezavo substrata s transmembransko vijačnico na znotraj-membransko eksomesto. Za cepitev je ključen prepoznavni motiv substrata, ki ima afiniteto do aktivnega mesta. V primeru, da se prepoznavni motiv nahaja blizu transmembranskega segmenta substrata je za cepitev potrebna še destabilizacija transmembranske α -vijačnice [21]. Kot je razvidno na sliki 6A odpiranje zanke 5 (temno modro) omogoča dostop molekul vode (črne pike) v votlino, kar izpostavi aktivno mesto vodnemu okolju. Na ta način je omogočen dostop in cepitev substrata (zeleno). Alternativna razlaga (slika 6B) za dostop substrata do aktivnega mesta kot ključno strukturno spremembo navaja spremembo orientacije vijačnice 5 (temno modro) [8]. Kristalna struktura bakterijskega romboida GlpG je pokazala da gre za vpletenost obeh predlaganih mehanizmov. V odprti konformaciji upogib vijačnice 5 omogoča dostop katalitične diade do substrata, nekoliko manj odprto (ang. less open) konformacijo pa omogoča dvig zanke 5 med vijačnicama 5 in 6, brez upogibanja vijačnice 5 [22].



Slika 6: Mehanizem delovanja romboidov [8].

3 FIZIOLOGIJA

Kot že omenjeno imajo šedaze širok spekter substratov, kar pomeni, da sodelujejo v številnih ključnih bioloških procesih. Vplivajo na razvoj tkiv, angiogenezo, sodelujejo pri uravnavanju homeostaze, vnetnem odzivu, celični diferenciaciji in komunikaciji, apoptozi ter razvoju bolezni, kot so rak in Alzheimerjeva bolezen. Njihova aktivnost je torej nepogrešljiva tako v fizioloških kot tudi patoloških stanjih

[23]. V nadaljevanju je predstavljenih nekaj izbranih primerov, ki ponazarjajo raznolikost funkcij šedaz.

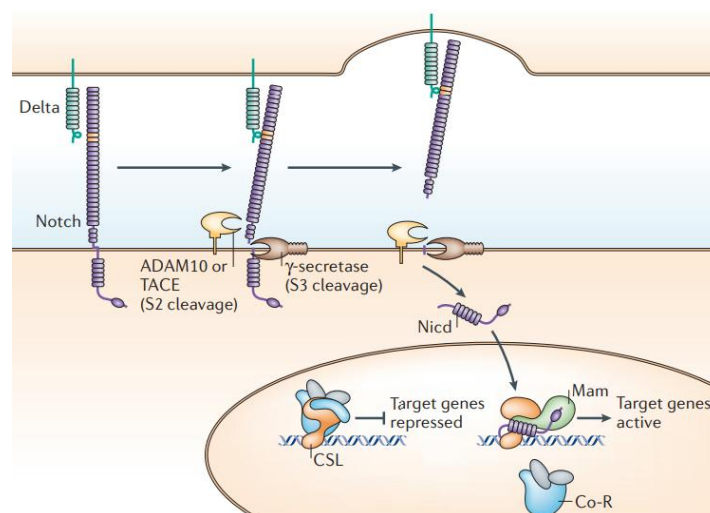
3.1 Metaloproteaze ADAM, γ -sekretaza, proteaza BACE1

Najbolj raziskana encima in družine metaloproteaz ADAM, ki imata šedazno aktivnost, sta ADAM10 in ADAM17 (TACE). Slednji ima ključno vlogo pri pretvorbi protivnetnega citokina TNF α iz netopne v topno obliko, ki nastane z odcepitevijo zunajcelične domene. ADAM17 ni pomemben le za sproščanje TNF α , ampak tudi za uravnavanje aktivnosti njegovih receptorjev. To pomeni, da sta tako citokin kot njegov receptor pretežno obdelana s pomočjo ADAM17. Njegova aktivnost je regulirana znotrajcelično in pogosto inducirana kot odziv na vnetje ali poškodbo. Aktivira se s fosforilacijo citoplazemskega repka, kar omogočajo kinaze PLK2, MAPK ali PKC. Študije na miših so pokazale, da znižano izražanje ADAM17 vodi do oslabljenega odziva celic na vnetne signale [24–26].

Tudi rastni faktor TGF α se sintetizira v netopni obliki, njegovo cepitev in aktivacijo pa zopet omogoči ADAM17. To potrjujejo raziskave na miših z mutacijo v metaloproteazni domeni ADAM17, ki kažejo na motnje v razvoju epitelijskega tkiva, podobne tistim pri miši brez receptorja EGF ali brez TGF α . Fibroblasti in keratinociti miši s pomanjkanjem ADAM17 izločajo manj TGF α , kar dodatno podpre vlogo ADAM17 pri razvoju epitelijskega tkiva. ADAM17 cepi tudi receptorje za interleukine, kot sta IL-1RII in IL-6R, kar pomembno vpliva na komunikacijo med levkociti in drugimi celicami imunskega sistema pri vnetnem odzivu [24, 26].

Za razliko ADAM17, ki se izraža inducibilno, se ADAM10 izraža konstitutivno in ima pomembno vlogo pri razvoju centralnega živčnega sistema. ADAM10 je sposoben cepitve preko 100 membranskih proteinov, ki jih cepi blizu plazemske membrane (α -sekretaza). Sodeluje pri procesiranju APP, s čimer preprečuje prekomerno tvorbo amiloida beta (A β) in tako prepreči njegovo akumulacijo v možganskih živčnih celicah [27]. APP cepi tudi šedaza BACE1, vendar na drugem mestu kot ADAM10. ADAM10 cepi APP znotraj zaporedja, iz katerega bi sicer nastal A β , in tako prepreči njegov nastanek. BACE1 pa cepi tik pred zaporedjem in s tem ustvari začetni pogoj za tvorbo amiloida beta in posledično amiloidnih plakov, značilnih za Alzheimerjevo bolezen [28].

Poleg procesiranja APP ima ADAM10 pomembno vlogo tudi pri imunskem odzivu, saj sodeluje pri aktivaciji/inhibiciji, signalizaciji in maturaciji številnih celic imunskega sistema. Diferenciacija imunskih celic je v velikem delu odvisna od signalne poti Notch. Signalna pot Notch je ključna pri celični diferenciaciji, razvoju živčnega sistema, angiogenezi in vzdrževanju homeostaze v tkivih. Deluje preko neposrednega stika med celicami – aktivira se, ko se receptor Notch na eni celici poveže z ligandom (npr. Delta, Jagged) na sosednji celici [29, 30]. Signalna pot temelji na natančno regulirani proteolizi receptorja Notch, ki jo omogočita ADAM10 (manj pogosto tudi ADAM17) in γ -sekretaza (slika 7). Vezava liganda sproži aktivacijo ADAM10, ki cepi zunajcelični del receptorja. Nato sledi proteoliza z γ -sekretazo, ki sprosti znotrajcelični del receptorja. Ta se nato translocira v jedro, kjer uravnava izražanje tarčnih genov [23].



Slika 7: Signalna pot Notch. ADAM10 ali ADAM17 (TACE) katalizirata cepitev zunajceličnega dela receptorja Notch in tako generirata substrat za cepitev z γ -sekretazo. Znotrajcelična domena receptorja (Nid) se translocira v jedro, kjer interagira z DNA-vezavnimi proteini in uravnava izražanje tarčnih genov [30].

ADAM10/17 obe cepita protein Klotho. Gre za pomemben protein, ki zavira staranje in s staranjem povezana bolezenska stanja (npr. ateroskleroza, osteoporoza ...). Cepitev se poveča ob prisotnosti insulina, ki sproži znotrajcelično signalizacijo za povečano izločanje ADAM10/17 na površino celice [31].

3.2 Metaloproteaze matriksa (MMP)

Poleg ADAM-ov, BACE in γ -sekretaz imajo šedazno aktivnost tudi nekatere MMP, ki tradicionalno razgrajujejo komponente zunajceličnega matriksa [32].

MMP-9 na primer cepi α -verigo receptorja za interleukin 2 (IL-2R α) na limfocitih T, kar prispeva k zaviranju imunskega odziva. Ta učinek so dokazali tudi *in vivo*, kjer je znižano izražanje IL-2R α zavrlo delovanje tumor-infiltrirajočih limfocitov T. MMP-9 sodeluje tudi pri angiogenezi, kjer cepi vaskularni endotelijski rastni faktor (VEGF) in ga s tem pretvori v njegovo aktivno obliko. Poleg tega cepi še druge signalne molekule, kot sta IL-1 β in TGF- β , ter deluje kot šedaza integrina β 2 na površini makrofagov [33, 34].

Tudi MMP-1 ima šedazno aktivnost, in sicer cepi pro-oblike IGFBP-3 in -5, IL-1 β in L-selektin, kar ga uvršča med pomembne regulatorje vnetja in celične adhezije. MMP-3 cepi ligand Fas, E-kadherin in PAI-1. Proteaza MMP-14 je netopen encim, ki cepi različne membranske proteine, kot so E-kadherin, N-kadherin, integrini, receptor za hialuronan CD44 in aktivator receptorja za NF- κ B (RANKL). Vlogo ima tudi pri angiogenezi, kar so dokazali z izbitjem gena za MMP pri miškah, pri katerih so opazili nižjo stopnjo ožiljenosti. MMP-14 namreč omogoča invazijo endotelijskih celic na mesto poškodbe žile preko razgradnje komponent ZCM, cepi pa tudi vaskularni endotelijski rastni faktor A (VEGF-A), kar dodatno promovira neovaskularizacijo [34].

MMP-7 prav tako deluje kot šedaza. Poleg razgradnje številnih komponent ZCM, cepi pomembne signalne molekule, kot so TNF α , Fas ligand, E-kadherin in integrin β 4.

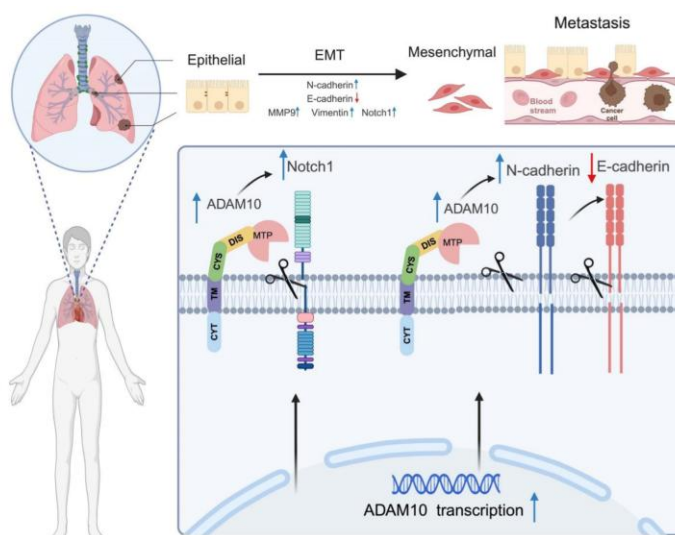
Konstitutivno se izraža v mukoznem epiteliju, kjer aktivira pro- α -defenzine v njihovo protimikrobno obliko. Kolokalizacija MMP-7 in defenzinov v Panetovih celicah potrjuje njegovo vlogo v prirojeni imunosti [34].

4 PATOLOGIJA IN ZDRAVLJENJE

Zaradi pomembne vloge šedaz v regulaciji membranskih proteinov poznamo mnogo različnih bolezni povezanih z njihovim nepravilnim delovanjem. Šedaze ADAM so vpletene v razvoj raka, nevroloških in avtoimunskih bolezni, diabetesa, alergij ter vnetij [35]. β - in γ -sekretaza imata pomembno vlogo pri nastanku predvsem neurodegenerativnih bolezni [36]. Šedazi MMP-3 in MMP-7 pa sta prav tako povezani z rakom, saj pospešujeta napredovanje tumorjev z zaviranjem apoptoze, zmanjševanjem celične adhezije in spodbujanjem angiogeneze rakavih celic [37]. V nadaljevanju so predstavljene nekatere izmed najbolj zanimivih in raziskanih bolezni, povezane z delovanjem šedaz ter njihovo zdravljenje.

4.1 Patologija ADAM10 in 17

ADAM-i, kot aktivne metaloproteaze lahko prispevajo k invaziji tumorjev in nastanku metastaz z razgradnjo ZCM. S svojo interakcijo z integrini in proteoglikani lahko ADAM-i neposredno vplivajo na adhezijo tumorskih celic. ADAM10 cepi adhezijske molekule, kot so N-, E- in VE-kadherin, kar spremeni celično adhezijo, migracijo ter sproži β -kateninsko signalizacijo (slika 8) [35].



Slika 8: Primer epitelijsko-mezenhimskega prehoda, ki ga sproži povišano izražanje ADAM10. Cepitev adhezijskih molekul in receptorjev s strani ADAM10 zmanjša adhezijo epitelijskih celic in omogoči njihovo migracijo [38].

Poleg tega ADAM-i s cepitvijo molekul, kot so selektini (ICAM-1, VCAM-1 in PECAM-1) vplivajo na vezavo rakavih celic na žilni endotelij. S cepitvijo ektodomene sproščajo rastne faktorje, kemokine in aktivirajo ustrezne receptorje. Ta mehanizem je posebej dobro opisan pri ADAM17, ki sprošča TGF α in s tem aktivira signalizacijo preko receptorja epidermalnega rastnega faktorja (EGFR) (slika 9, a), kar ima pomembno vlogo tako pri razvoju raka kot pri razvoju avtoimunskih bolezni [35]. V

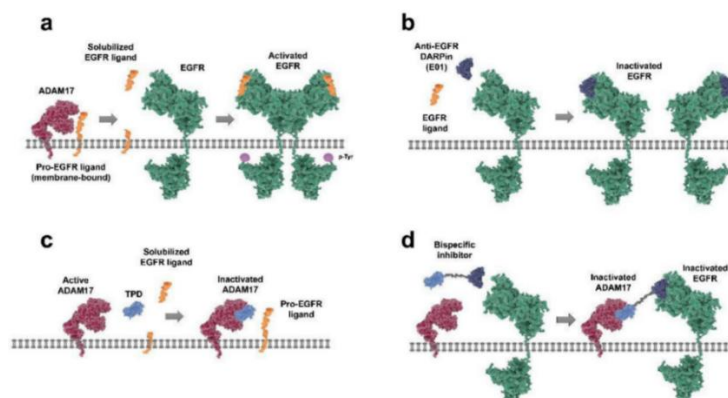
študiji revmatoidnega artiritisa so recimo odkrili nizke ravni kisika in prisotnost TNF α v sinovialnih celicah zaradi aktivacije HIF-1 (ang. hypoxia-inducible factor 1) in NF- κ B (ang. nuclear factor κ B) signalnih poti. To je močno povišalo nastajanje in aktivnost ADAM17 in posledično sproščanje vnetnih molekul, kar prispeva k vnetju in poškodbi sklepov pri revmatoidnem artritisu [39].

4.2 Inhibitorji ADAM17

V veliki meri se raziskujejo sintetični inhibitorji ADAM17 kot možna terapevtska sredstva za zdravljenje raka in avtoimunskih bolezni (slika 9, c). Uporabo zgodnjih inhibitorjev ADAM17 so žal spremljali številni neželeni stranski učinki, kot je hepatotoksičnost, kar je privedlo do prekinitve mnogih kliničnih študij. Pri drugih so se raziskave ukinile zaradi omejene učinkovitosti, ki se je pokazala šele v kliničnih fazah preizkušanja. Zaradi mnogih težav in zapletov pa se nobenemu izmed do zdaj testiranih sintetičnih inhibitorjev ADAM17 ni uspelo prebiti na trg. Za zdravljenje vnetnih bolezni, kot je revmatoidni artritis, sta GI5402 in R618 dosegla I. fazo kliničnih študij, BMS-561392 in TMI-005 (apratostat) pa sta napredovala vse do II. faze kliničnih študij, preden so zaradi neželenih stranskih učinkov prekinili testiranje [35].

V nasprotju z inhibitorji ADAM17 so biološka zdravila proti TNF- α , kot sta etanercept in infliximab, dosegla uspeh pri lažšanju kliničnih simptomov revmatoidnega artritisa in izboljšanju kakovosti življenja bolnikov. Ta protitelesa so zmanjšala raven prostega TNF- α in posredno zavirala ADAM17. Med biološkimi zdravili pa je trenutno v uporabi tudi INCB7839, ki deluje kot inhibitor ADAM17 in ADAM10. Uporablja se v kombinaciji z rituximabom, za zdravljenje ne-Hodgkinovega limfoma [40].

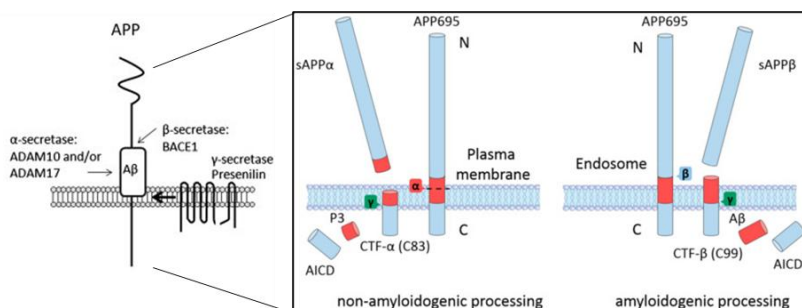
V zadnjem desetletju so raziskovalci odkrili bolj selektivna monoklonska protitelesa proti ADAM17, ki delujejo preko različnih mehanizmov, kot so alosterična sprememba vezavne sposobnosti katalitskega mesta ali inhibicija povezave substrata s proteinom. Te alternativne metode delujejo posredno, saj ciljajo na substrate ADAM17, kot je IL-6R, ali signalne efektorje, povezane z aktivacijo ADAM17. Na primer, protitelesa proti IL-6R, znana pod komercialnim imenom Tocilizumab, so bila odobrena za zdravljenje revmatoidnega artritisa, mnoge študije pa kažejo tudi na njihov koristen učinek pri drugih sistemskih avtoimunskih boleznih [40].



Slika 9: Delovanje inhibitorjev receptorja epidermalnega ravnega faktorja. a) Aktivacija EGFR z ligandi EGFR, b) Inhibitor EGFR, prepreči dimerizacijo in s tem aktivacijo EGFR, c) Inhibitor ADAM17 prepreči cepitev pro oblike liganda EGFR, d) Bispecifični inhibitor veže tako ADAM17 kot EGFR in prepreči cepitev ligandov in aktivacijo EGFR [41].

4.3 Sekretaze in nevrodegeneracija

V patološkem kontekstu Alzheimerjeve bolezni (AD) sodelujejo ADAM9, 10 in 17 kot α -sekretaze in preusmerjajo presnovo APP v neamiloidogeno pot pri čemer nastane 83 amino kislin dolg C-končni fragment (C83). ADAM10 je še posebej pomemben, saj je njegova ekspresija v nevronih bolnikov z AD znižana [35, 42]. Tako imenovan fragment C99 APP, ki nastane po začetni cepitvi z β -sekretazo (BACE1), namesto α -sekretazo pa usmerja presnovo APP v amiloidogeno pot. V obeh primerih sledi cepitev z γ -sekretazo, ki poteka znotraj transmembranskega predela C99 ali C83 (slika 10) [42]. Fragment C99 vodi do nastanka peptidov A β različnih dolžin, predvsem A β 40 in A β 42. Molekularna patogeneza izhaja iz dejstva, da A β 42 zaradi svoje hidrofobnosti lažje tvori toksične oligomere in fibrilarne agregate, ki se nalagajo v možganskem tkivu kot amiloidni plaki. Mutacije v genu za presenilin (*PSEN1* ali *PSEN2*), zapisu za encim, ki je del multimernega kompleksa γ -sekretaze, pogosto povzročijo premik v mestu cepitve γ -sekretaze, kar vodi v povečano razmerje A β 42/A β 40. To se zgodi bodisi zaradi neposrednega favoriziranja nastanka A β 42 bodisi zaradi zmanjšane procesivnosti. Poleg tega te mutacije lahko vplivajo na konformacijo celotnega kompleksa in na njegovo interakcijo s substrati [42, 43].



Slika 10: Cepitev amiloidnega prekursorskega proteina. Začetna cepitev APP z α -sekretazo vodi APP v neamiloidogeno pot, med tem ko cepitev z β -sekretazo vodi APP v amiloidogeno pot [35, 44].

4.4 Zdravljenje nevrodegeneracije

Na področju zdravljenja Alzheimerjeve bolezni so veliko obetali nespecifični inhibitorji γ -sekretaz, ki so bili razviti z namenom zmanjšanja nastanka β -amiloidnih peptidov, zlasti A β 42, ki se kopičijo v možganih bolnikov. Zaradi pomanjkanja selektivnosti in neželenih učinkov so bile študije z njimi žal prekinjene. Trenutno raziskave usmerjajo pozornost k bolj ciljno usmerjenim pristopom, kot so: selektivni inhibitorji posameznih kompleksov γ -sekretaze (npr. PSEN1); γ -sekretazni modulatorji, ki znižujejo nastanek A β 42; ter stabilizatorji encimskih kompleksov, ki spodbujajo tvorbo krajših, neamiloidogenih peptidov. Takšni pristopi namreč ponujajo večjo varnost in terapevtski potencial za zdravljenje Alzheimerjeve bolezni [36].

En od potencialnih γ -sekretaznih modulatorjev je PF-06648671, ki ga je podjetje Pfizer razvijalo kot potencialno zdravilo za Alzheimerjevo bolezen. V letu 2015 so izvedli več faz I. kliničnih študij na zdravih prostovoljcih, vključno z enkratnimi in večkratnimi odmerki ter študijami interakcij z drugimi zdravili. Rezultati so pokazali, da je PF-06648671 na splošno varen in povzroči od odmerka odvisno zmanjšanje ravni A β 42 in A β 40 v plazmi in cerebrospinalni tekočini [45, 46].

4.5 Patologija MMP-3 in 7

Povečano izražanje MMP-7 deluje kot faktor, ki spodbuja nastanek raka mnogih epitelijev [37]. MMP-7 je namreč ena redkih MMP, katere izražanje je povišano v tumorskih celicah. Navadno namreč tumorske celice pritegnejo MMP iz stromalnih celic [47]. Spodbujanje invazije s pomočjo matrilizina, torej MMP-7, je v prvi vrsti povezano s proteolitskim razgrajevanjem substratov ZCM, lahko pa pripomorejo tudi k aktivaciji drugih MMP. Kot omenjeno lahko MMP-7 in MMP-3 sproščata topno obliko E-kadherina z odcepljanjem njegove ektodome. Tako nastali topni E-kadherin nato zavira funkcijo membranskega E-kadherina na parakrini način, kar spodbuja migracijo in invazijo tumorskih celic. MMP-7 prav tako vpliva na zgodnje faze tumorogeneze. Ena izmed poti delovanja je modifikacija proteinov, ki niso del ZCM. S cepitvijo ektodome prekursorja heparin-vezavnega epidermalnega rastnega faktorja (proHB-EGF) sprosti zrelo obliko HB-EGF, ki spodbuja proliferacijo celic z aktivacijo receptorja ErbB4/HER4 in tako zavira apoptozo.

V tumorogenezo je vključen tudi inzulinu podoben rastni faktor (IGF), zaradi svojih mitogenih in antiapoptotskih učinkov. Biološka dostopnost IGF je regulirana z vezavnimi proteini IGFBP, katerih cepitev poveča prosti IGF. MMP-7, skupaj z MMP-3, MMP-9 in MMP-19, lahko cepi IGFBP. Pomembno je, da MMP-7 razgrajuje vseh šest IGFBP (IGFBP-1 do IGFBP-6), kar poveča razpoložljivost IGF-ov in s tem spodbuja rast in preživetje rakavih celic [48].

MMP-7 pa ima tudi protitumorski učinek v povezavi s topno obliko liganda Fas (sFasL). MMP-7 namreč cepi ektodomeno membransko vezanega FasL (mFasL) na rakavih in nerakavih celicah. sFasL pa lahko nato sproži apoptozo v sosednjih celicah preko aktivacije receptorja Fas. Problem je, da so rakave celice proti temu signalu odporne, zaradi nižje apoptotske moči sFasL v primerjavi z mFasL ter

motenj v Fas-signalizacijski poti zaradi nepravilne ekspresije vključenih proteinov [48].

4.6 Inhibitorji MMP-7

MMP-7 je torej eden od zelo obetavnih biomarkerjev za spremljanje napredovanja nekaterih oblik raka in kot prognostični biomarker po kirurški odstranitvi tumorjev za napovedovanje pooperativnega stanja bolnikov. Zaradi bistveno višjih koncentracij v serumu in plazmi pri bolnikih z metastatskim rakom v primerjavi s tistimi brez metastaz pa v zadnjem času vse več pozornosti vzbuja tudi njegov diagnostični potencial. Povečane ravni MMP-7 povezujejo tako z rakom želodca, trebušne slinavke kot mehurja, pri katerih je bilo opaženo povečano izražanje MMP-7 le v primeru, ko je šlo za metastatske spremembe, ne pa tudi v primeru benignih sprememb [37].

V laboratorijskih pogojih znižanje ravni MMP-7 dokazano zavira napredovanje različnih oblik raka, zato se v zadnjem času veliko govori ne le o njegovem potencialu, kot obetaven diagnostični in prognostični biomarker, temveč tudi kot potencialna terapevtska tarča [37]. V ta namen se veliko raziskujejo inhibitorji MMP-7. Ti inhibitorji so lahko majhne molekule, peptidi ali celo protitelesa, vsak s svojim edinstvenim mehanizmom delovanja in farmakološkimi lastnostmi. Glavni cilj inhibitorjev MMP-7 je doseči ravnovesje med učinkovitim zaviranjem encima in čim manjšimi stranskimi učinki. Inhibitorji MMP-7 lahko delujejo tako, da se ciljno vežejo v aktivno mesto, ter s tem onemogočijo delovanje encima, ali da se vežejo na druge dele encima, povzročijo konformacijske spremembe in tako zmanjšajo njegovo aktivnost. Aktivno mesto encima MMP-7 vsebuje cinkov ion, ki je ključen za njegovo delovanje. Mnogi inhibitorji, ki se vežejo v aktivno mesto, so zasnovani tako, da kelirajo cinkov ion in s tem onemogočijo delovanje MMP-7. S keliranjem preprečijo, da bi se encim vezal na svoje naravne substrate, kot so kolagen, elastin in drugi proteini zunajceličnega matriksa. Inhibitorji MMP-7 pa ne predstavljajo le obetavne terapevtske tarče za zdravljenje različnih oblik raka, ampak tudi za zdravljenje fibroze in različnih vnetnih bolezni. Velik problem pri razvoju predstavlja zagotavljanje specifičnosti inhibitorjev, saj je zaradi podobnosti z drugimi MMP-ji težko zagotoviti, da se bo inhibitor vezal le na MMP-7. Razvoj temelji predvsem na visokozmogljivostnem presejanju in načrtovanju, ki temelji na strukturi proteina MMP-7 [49].

V preteklosti so bili testirani nekateri širokospektralni inhibitorji MMP, kot je marimastat, vendar ta ni dosegel klinične uporabe, zaradi nizke učinkovitosti in neželenih učinkov. Čeprav je marimastat v predkliničnih študijah pokazal obetavne rezultate, so klinična testiranja razkrila omejeno učinkovitost in neželene učinke, kot je mišično-skeletna toksičnost. Prišel je vse do III. faze kliničnih študij pri bolnikih z metastatskim rakom dojke, kjer pa žal ni pokazal izboljšanja preživetja brez napredovanja bolezni v primerjavi s placebom, pogosta pa so bila tudi poročila o bolečinah v mišicah in sklepih. Tudi študije pri drugih rakih, kot so rak trebušne slinavke in glioblastom, niso pokazale klinične koristi, zato je bil razvoj marimastata opuščen [50].

5 VIRI IN LITERATURA

- [1] *An Introduction to Membrane Proteins | Journal of Proteome Research* <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/pr200145a>.
- [2] B. Alberts, A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, P. Walter: *Membrane Proteins. V Molecular Biology of the Cell. 4th edition*; Garland Science, 2002.
- [3] S. F. Lichtenthaler, E. Meinel: To cut or not to cut: New rules for proteolytic shedding of membrane proteins. *J. Biol. Chem.* **2020**, 295, 12353–12355.
- [4] D. R. Edwards, M. M. Handsley, C. J. Pennington: The ADAM metalloproteinases. *Mol. Aspects Med.* **2008**, 29, 258–289.
- [5] B. Dislich, S. F. Lichtenthaler: The Membrane-Bound Aspartyl Protease BACE1: Molecular and Functional Properties in Alzheimer's Disease and Beyond. *Front. Physiol.* **2012**, 3.
- [6] *Protease mechanisms* <https://www.nature.com/scitable/content/protease-mechanisms-14462487/> (pridobljeno 25. maj 2025).
- [7] S. F. Lichtenthaler, M. K. Lemberg, R. Fluhrer: Proteolytic ectodomain shedding of membrane proteins in mammals—hardware, concepts, and recent developments. *EMBO J.* **2018**, 37, e99456.
- [8] S. F. Lichtenthaler, H. Steiner: Sheddases and intramembrane-cleaving proteases: RIPpers of the membrane. Symposium on Regulated Intramembrane Proteolysis. *EMBO Rep.* **2007**, 8, 537–541.
- [9] E. P. C. van der Vorst, A. A. Keijbeck, M. P. J. de Winther, M. M. P. C. Donners: A disintegrin and metalloproteases: Molecular scissors in angiogenesis, inflammation and atherosclerosis. *Atherosclerosis* **2012**, 224, 302–308.
- [10] S. Weber, P. Saftig: Ectodomain shedding and ADAMs in development. *Development* **2012**, 139, 3693–3709.
- [11] A. Chavarroche, M. Cudic, M. Giulianotti, R. A. Houghten, G. B. Fields, D. Minond: Glycosylation of A Disintegrin And Metalloprotease 17 (ADAM17) Affects its Activity and Inhibition. *Anal. Biochem.* **2014**, 449, 68–75.
- [12] D. Schmidt-Arras, S. Rose-John: Regulation of Fibrotic Processes in the Liver by ADAM Proteases. *Cells* **2019**, 8, 1226.
- [13] R. E. Dalbey, P. Wang, J. M. van Dijk: Membrane Proteases in the Bacterial Protein Secretion and Quality Control Pathway. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **2012**, 76, 311–330.
- [14] D. Costa, N. Ielapi, R. Minici, E. Bevacqua, S. Ciranni, L. Cristodoro, G. Torcia, M. D. Di Taranto, U. M. Bracale, M. Andreucci, idr.: Metalloproteinases between History, Health, Disease, and the Complex Dimension of Social Determinants of Health. *J. Vasc. Dis.* **2023**, 2, 282–298.
- [15] C. I. Caescu, G. R. Jeschke, B. E. Turk: Active site determinants of substrate recognition by the metalloproteinases TACE and ADAM10. *Biochem. J.* **2009**, 424, 79–88.
- [16] V. John, J. P. Beck, M. J. Bienkowski, S. Sinha, R. L. Heinrikson: Human β -Secretase (BACE) and BACE Inhibitors. *J. Med. Chem.* **2003**, 46, 4625–4630.
- [17] C. Venugopal, C. M. Demos, K. S. J. Rao, M. A. Pappolla, K. Sambamurti: Beta-secretase: Structure, Function, and Evolution. *CNS Neurol. Disord. Drug Targets* **2008**, 7, 278–294.
- [18] A. J. Beel, C. R. Sanders: Substrate specificity of γ -secretase and other intramembrane proteases. *Cell. Mol. Life Sci.* **2008**, 65, 1311–1334.
- [19] A. Tolia, L. Chávez-Gutiérrez, B. D. Strooper: Contribution of Presenilin

Transmembrane Domains 6 and 7 to a Water-containing Cavity in the γ -Secretase Complex *. *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 27633–27642.

[20] V. L. Lastun, A. G. Grieve, M. Freeman: Substrates and physiological functions of secretase rhomboid proteases. *Semin. Cell Dev. Biol.* **2016**, *60*, 10–18.

[21] K. Strisovsky: Structural and mechanistic principles of intramembrane proteolysis – lessons from rhomboids. *FEBS J.* **2013**, *280*, 1579–1603.

[22] C. Shi, C. Öster, C. Bohg, L. Li, S. Lange, V. Chevelkov, A. Lange: Structure and Dynamics of the Rhomboid Protease GlpG in Liposomes Studied by Solid-State NMR. *J. Am. Chem. Soc.* **2019**, *141*, 17314–17321.

[23] F. Kheradmand, Z. Werb: Shedding light on sheddases: role in growth and development. *BioEssays* **2002**, *24*, 8–12.

[24] F. Zunke, S. Rose-John: The shedding protease ADAM17: Physiology and pathophysiology. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Cell Res.* **2017**, *1864*, 2059–2070.

[25] C. P. Blobel: ADAMs: key components in EGFR signalling and development. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2005**, *6*, 32–43.

[26] D. F. Seals, S. A. Courtneidge: The ADAMs family of metalloproteases: multidomain proteins with multiple functions. *Genes Dev.* **2003**, *17*, 7–30.

[27] P.-H. Kuhn, H. Wang, B. Dislich, A. Colombo, U. Zeitschel, J. W. Ellwart, E. Kremmer, S. Roßner, S. F. Lichtenthaler: ADAM10 is the physiologically relevant, constitutive α -secretase of the amyloid precursor protein in primary neurons. *EMBO J.* **2010**, *29*, 3020–3032.

[28] S. L. Cole, R. Vassar: The role of amyloid precursor protein processing by BACE1, the beta-secretase, in Alzheimer disease pathophysiology. *J. Biol. Chem.* **2008**, *283*, 29621–29625.

[29] B. Zhou, W. Lin, Y. Long, Y. Yang, H. Zhang, K. Wu, Q. Chu: Notch signaling pathway: architecture, disease, and therapeutics. *Signal Transduct. Target. Ther.* **2022**, *7*, 95.

[30] S. J. Bray: Notch signalling: a simple pathway becomes complex. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2006**, *7*, 678–689.

[31] D. Rosenbaum, P. Saftig: New insights into the function and pathophysiology of the ectodomain sheddase A Disintegrin And Metalloproteinase 10 (ADAM10). *FEBS J.* **2024**, *291*, 2733–2766.

[32] H. Laronha, J. Caldeira: Structure and Function of Human Matrix Metalloproteinases. *Cells* **2020**, *9*, 1076.

[33] M. D. Sternlicht, Z. Werb: How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **2001**, *17*, 463–516.

[34] T. Klein, R. Bischoff: Physiology and pathophysiology of matrix metalloproteases. *Amino Acids* **2011**, *41*, 271–290.

[35] D. R. Edwards, M. M. Handsley, C. J. Pennington: The ADAM metalloproteinases. *Mol. Aspects Med.* **2008**, *29*, 258–289.

[36] I. Voytyuk, B. De Strooper, L. Chávez-Gutiérrez: Modulation of γ - and β -Secretases as Early Prevention Against Alzheimer's Disease. *Biol. Psychiatry* **2018**, *83*, 320–327.

[37] H.-Y. Liao, C.-M. Da, B. Liao, H.-H. Zhang: Roles of matrix metalloproteinase-7 (MMP-7) in cancer. *Clin. Biochem.* **2021**, *92*, 9–18.

[38] W. Zhang, L. Yang, M. Li, L. Zhang, J. Cheng, A. H. El-Far, Y. Xu, J. Fu: ADAM10 is a key player in the diagnosis, prognosis and metastasis of non-small cell lung cancer (NSCLC). *J. Cancer* **2025**, *16*, 1736–1746.

- [39] M. Charbonneau, K. Harper, F. Grondin, M. Pelmus, P. P. McDonald, C. M. Dubois: Hypoxia-inducible Factor Mediates Hypoxic and Tumor Necrosis Factor α -induced Increases in Tumor Necrosis Factor- α Converting Enzyme/ADAM17 Expression by Synovial Cells*. *J. Biol. Chem.* **2007**, 282, 33714–33724.
- [40] M. Sisto, S. Lisi: Updates on Inflammatory Molecular Pathways Mediated by ADAM17 in Autoimmunity. *Cells* **2024**, 13, 2092.
- [41] A. Soto-Gamez, D. Chen, A. G. E. Nabuurs, W. J. Quax, M. Demaria, Y. L. Boersma: A Bispecific Inhibitor of the EGFR/ADAM17 Axis Decreases Cell Proliferation and Migration of EGFR-Dependent Cancer Cells. *Cancers* **2020**, 12, 411.
- [42] X. Liu, Y. Liu, S. Ji: Secretases Related to Amyloid Precursor Protein Processing. *Membranes* **2021**, 11, 983.
- [43] J.-Y. Hur: γ -Secretase in Alzheimer's disease. *Exp. Mol. Med.* **2022**, 54, 433–446.
- [44] T. Zhang, D. Chen, T. H. Lee: Phosphorylation Signaling in APP Processing in Alzheimer's Disease. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, 21, 209.
- [45] J. E. Ahn, C. Carrieri, F. Dela Cruz, T. Fullerton, E. Hajos-Korcsok, P. He, C. Kantaridis, C. Leurent, R. Liu, J. Mancuso, idr.: Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Effects of a γ -Secretase Modulator, PF-06648671, on CSF Amyloid- β Peptides in Randomized Phase I Studies. *Clin. Pharmacol. Ther.* **2020**, 107, 211–220.
- [46] M. Pettersson, D. S. Johnson, J. M. Humphrey, C. W. am Ende, T. W. Butler, P. H. Dorff, I. V. Efremov, E. Evrard, M. E. Green, C. J. Helal, idr.: Discovery of Clinical Candidate PF-06648671: A Potent γ -Secretase Modulator for the Treatment of Alzheimer's Disease. *J. Med. Chem.* **2024**, 67, 10248–10262.
- [47] C. Rome, J. Arsaut, C. Taris, F. Couillaud, H. Loiseau: MMP-7 (matrilysin) expression in human brain tumors. *Mol. Carcinog.* **2007**, 46, 446–452.
- [48] M. Ii, H. Yamamoto, Y. Adachi, Y. Maruyama, Y. Shinomura: Role of Matrix Metalloproteinase-7 (Matrilysin) in Human Cancer Invasion, Apoptosis, Growth, and Angiogenesis. *Exp. Biol. Med.* **2006**, 231, 20–27.
- [49] What are MMP-7 inhibitors and how do they work? <https://synapse.patsnap.com/article/what-are-mmp-7-inhibitors-and-how-do-they-work> (pridobljeno 25. maj 2025).
- [50] J. A. Sparano, P. Bernardo, P. Stephenson, W. J. Gradishar, J. N. Ingle, S. Zucker, N. E. Davidson: Randomized phase III trial of marimastat versus placebo in patients with metastatic breast cancer who have responding or stable disease after first-line chemotherapy: Eastern Cooperative Oncology Group trial E2196. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **2004**, 22, 4683–4690.