

La proteólisis en la invasión y metástasis de la célula tumoral

Lourdes Rodríguez-Fragoso,* Francisco Rafael Jurado-León,**
Jorge Alberto Reyes-Esparza***

RESUMEN

En los últimos veinte años, ha habido considerable interés en comprender exactamente cuáles moléculas están involucradas en la patofisiología de la diseminación tumoral. Los resultados acumulados en ese tiempo indican que la propagación metastática del tumor representa la culminación de cambios malignos adquiridos durante la tumorigénesis. Uno de los hallazgos, que ha sido constante en esas observaciones, es la participación de las enzimas proteolíticas en los procesos de invasión y metástasis. En la actualidad se sabe que, para que la célula tumoral inicie la invasión del tejido adyacente y dé lugar a la metástasis, es necesaria toda una cascada de reacciones proteolíticas, en la cual participan serina, tiol y metaloproteasas. Se ha observado que algunas de esas enzimas proteolíticas se encuentran circulando, mientras que otras son sintetizadas y secretadas por las mismas células tumorales. También se sabe que existen varios inhibidores específicos de cada una de las familias de proteasas que pueden limitar la degradación de la matriz, y con esto inhibir la propagación tumoral. Este artículo resume una serie de evidencias relacionadas con la diseminación tumoral, observadas en modelos experimentales *in vitro* e *in vivo*, así como en diferentes cánceres que afectan al hombre, y hace énfasis en el papel de la proteólisis en la invasión y metástasis del cáncer.

Palabras clave: Proteólisis, invasión y metástasis.

Investigaciones recientes indican que la proliferación y diseminación de la célula tumoral es un proceso dinámico y complejo que le permite a ésta establecer tumores secundarios en sitios a distancia, es decir, dar lugar a metástasis. Ese proceso involucra una secuencia de eventos relacionados entre sí que incluyen: la migración y modulación de la adhesión de la célula tumoral, la angiogéne-

ABSTRACT

In the last twenty years, there has been considerable interest in understanding exactly which molecules are involved in the pathophysiology of tumor dissemination. Accumulated evidences in that time indicates that metastatic spread of tumor represents the culmination of malignant changes acquired during tumorigenesis. One consistent finding from those observations is the participation of proteolytic enzymes in invasion and metastasis processes. Actually it is well known that in order to the tumoral cell star the invasion in the adjacent tissue is necessary a cascade of serine, thiol and metalloproteases. It has been observed that some of these enzymes are found circulating, whilst other are synthesized and secreted by the tumor cell themselves. It is well known that several specific inhibitors exist of each family of protease that may serve to limit matrix degradation, and with this to inhibit the tumoral dissemination. This paper has summarized a serial evidences related with the tumoral dissemination, observed in vivo and in vitro experimental models, as well as in different cancer affecting the human being, with an emphasis in the role of proteolysis in the invasion and metastasis of cancer.

Key words: Proteolysis, invasion and metastasis.

sis y la degradación de la matriz extracelular, en los cuales participa tanto el tejido tumoral como el tejido normal.

La metástasis es un proceso dinámico a través del cual la célula, bajo estimulación paracrina y autocrina, sale de su ambiente primario y viaja, ya sea localmente o a distancia, dentro del cuerpo para formar un foco proliferativo.¹ Para que ocurra una metástasis exitosa se requiere de eventos como la invasión, la angiogénesis y la proliferación.²⁻⁴ Cada una de las células transformadas ejecuta su programa invasivo en forma individual y puede responder a estímulos de manera similar o diferente, dependiendo de su constitución molecular. Es importante señalar que los pasos involucrados en la metástasis no son típicos del feno-

* Escuela de Medicina, Universidad Panamericana. México.

** División de Investigación Básica. Instituto Nacional de Cancerología. México.

*** Escuela de Farmacia, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. México.

tipo maligno pues la invasión y la angiogénesis forman parte de un programa que realizan muchas células en condiciones fisiológicas.⁵⁻⁷

Se ha encontrado que la metástasis puede estar presente en más del 70% de los pacientes en el momento de su diagnóstico inicial. Esto sugiere que los procesos de invasión y diseminación no son eventos tardíos, sino por el contrario son eventos que ocurren de manera temprana durante el proceso de carcinogénesis. La capacidad para producir metástasis, es decir, la habilidad de una célula para invadir tejido normal fuera de sus sitios de crecimiento primario, es el evento que generalmente lleva a la falla del tratamiento y, por tanto, conduce a la muerte de los pacientes con cáncer.

Uno de los principales retos en la investigación del cáncer es el esclarecer los mecanismos bioquímico-moleculares que expliquen las propiedades de células cancerosas, tales como el crecimiento autónomo, la degradación e invasión de los tejidos normales y su capacidad para dar lugar a la metástasis. Por lo que en esta revisión se abordará el proceso de invasión y metástasis, enfocándolo al estudio de algunos eventos asociados con esos procesos.

EL FENOTIPO CELULAR INVASIVO/METASTÁSICO

Muchos de los pasos involucrados en la invasión y metástasis requieren interacciones específicas con la matriz extracelular. Un hecho que llama la atención es que sólo ciertas células “competentes” pueden lograr esas interacciones. Para esto se requiere que haya una disminución en su adhesividad hacia el propio tejido tumoral, o bien hacia la matriz adyacente. Durante su migración, las células tumorales modificarán su fenotipo dependiendo de la matriz extracelular y de las células del estroma que encuentran a su paso durante este proceso.

El concepto de reciprocidad dinámica célula-matriz, es decir, la interacción que ocurre entre las células normales y la matriz que producen es también válido para las células tumorales y las matrices extracelulares que ellas encuentran a su paso.⁸ Sin embargo, la interacción que se da entre las células tumorales y los componentes de la matriz extracelular puede, en algunas ocasiones, ser anormal debido, entre otras cosas, a la influencia que tienen sobre ellas algunos factores de crecimiento presentes en el medio.⁹

La célula tumoral tiene la tendencia a invadir tejido adyacente, mezclarse con células de varios compartimentos, y migrar para ubicarse en sitios a

distancia (metástasis). Ahora se sabe que esta conducta invasiva no es exclusiva del fenotipo maligno, sino que es imitada por un amplio grupo de células normales y que ocurre en un grado limitado en otras condiciones fisiológicas y patológicas.¹⁰⁻¹² La gran similitud molecular entre esos procesos nos conduce a sugerir que la habilidad de la célula tumoral para cruzar múltiples tejidos adyacentes es el resultado de la pérdida del control sobre la expresión del fenotipo no invasivo observado en las células normales. El fenotipo invasivo de la célula tumoral puede ser visto como una pérdida de la regulación de la conducta invasiva de células endoteliales activadas o del trofoblasto. La adquisición de este fenotipo “invasivo tumoral” es esencial para que se lleven a cabo muchos de los eventos asociados al proceso de invasión y metástasis.

Durante largo tiempo se consideró a la interacción célula tumoral/membrana basal como el evento crítico inicial de la invasión tumoral en la cascada invasiva.^{13,14} Actualmente se considera que el fenotipo invasivo le permite a la célula perder sus propiedades adhesivas, inducir proteólisis local y migrar, no únicamente en la membrana basal adyacente, sino en la matriz extracelular presente en diferentes partes del organismo. La naturaleza de esas interacciones específicas célula tumoral/ matriz es más importante en algunos puntos particulares de la cascada invasiva. Se cree que la acción continua de esos eventos capacita a la célula tumoral para adquirir muchas otras funciones necesarias para que tenga éxito la metástasis. Aunque el proceso invasivo es un evento común tanto para la célula normal como para la tumoral, el comportamiento patológico de esta última es debido a alteraciones en los mecanismos que regulan dicho proceso.

PAPEL DE LA INVASIÓN Y LA ANGIOGÉNESIS EN LA METÁSTASIS

Como se mencionó anteriormente, la célula tumoral por efecto de estímulos apropiados inicia el proceso invasivo, la migración y la proteólisis local.¹⁵ Sin embargo, esta tríada de eventos requiere de un evento clave adicional para que ocurra la diseminación maligna, la penetración de la célula tumoral a la circulación sanguínea. Para lograr esto, la célula tumoral necesita adherirse al lado externo de la membrana basal vascular, degradar localmente la matriz y migrar a través de la membrana basal dañada, para posteriormente pasar entre células endoteliales y llegar a la luz del vaso sanguíneo.¹⁶⁻²⁰ Esta tríada de fe-

nómenos adhesión, proteólisis y migración constituye el fenómeno de invasión. Sin embargo, es importante señalar que sin la angiogénesis y la proliferación no puede darse la metástasis.

La angiogénesis también es necesaria para la expansión tumoral. Se ha demostrado que la transición de carcinoma *in situ* a cáncer invasivo va precedido de una neovascularización.²¹ Evidencias experimentales sugieren que, en ausencia de soporte vascular, los tumores pueden permanecer presentes en el sitio donde se originaron por largos períodos, e incluso pueden eventualmente sufrir necrosis o bien apoptosis, en ausencia de neovascularización.^{22,23} La reciente incorporación de inhibidores de la angiogénesis para el estudio del cáncer, confirma la importancia de la neovascularización para el crecimiento y la diseminación tumoral. De hecho existen estudios donde se ha encontrado una asociación clínica entre la vascularidad del tumor y la agresividad del mismo. Un ejemplo de ello lo constituyen los pacientes con melanoma, quienes presentan gran vascularidad epitelial y que desarrollan con frecuencia metástasis. Asimismo, un aumento en la incidencia de metástasis ha sido mostrado por la densidad de microvasos, presentes en el tumor *in situ*, en pacientes con algunos tipos de cáncer.^{24,25}

Ahora se sabe que los tumores pueden liberar citocinas y factores de crecimiento que estimulan a las células endoteliales para formar nuevos vasos; esto se ha logrado al incrementar su potencial proliferativo hasta más de 10,000 veces.²⁶ Una característica importante es que la neovascularización tumoral no está delimitada en tiempo y espacio como en la angiogénesis normal. De manera que todo esto favorece a las células tumorales para que pierdan su adhesividad y produzcan enzimas proteolíticas para invadir tejidos adyacentes y puedan además migrar a distancia a través de la circulación.

LA ACTIVIDAD PROTEOLÍTICA

La degradación de la matriz extracelular y la migración de la célula tumoral son eventos complejos que requieren la producción, liberación y activación de una variedad de enzimas degradantes de la matriz extracelular. Se ha encontrado que existe una sobreexpresión de esas enzimas en casi todas las células del microambiente huésped-tumor.²⁷⁻²⁹ Sin embargo, para que tome lugar el proceso de invasión, es necesario que ocurra no sólo una exagerada producción de enzimas por parte de las células tumorales y de las células de los tejidos adyacentes, sino que también se requiere una extensa

lisis de los componentes de la matriz extracelular. De manera que la célula tumoral invasora usa la proteólisis en una forma altamente organizada, ambas espacial y temporalmente.³⁰⁻³⁴

La degradación tisular observada en procesos normales y en ciertas enfermedades es similar a la que ocurre en el cáncer.³⁵⁻⁴⁰ Sin embargo, las células tumorales pueden además: 1) inducir la producción de proteasas en células vecinas, a través de la secreción de citocinas y/o factores de crecimiento, y la producción de sustratos para las proteasas, 2) producir y secretar ellas mismas sus proteasas, o bien 3) producir factores que pueden inhibir o activar proteasas presentes localmente.

Sin embargo, tanto las células normales como las tumorales pueden secretar inhibidores de proteasas, de manera que la actividad proteolítica local neta es el resultado de un balance entre la producción y activación de proteasas y la disponibilidad de inhibidores endógenos.

Las proteasas que están directamente relacionadas con la degradación de la matriz extracelular en el cáncer se clasifican, de manera general, en tres grupos:

- Las metaloproteasas de matriz (entre ellas la colagenasa intersticial, la estromelina, matrilisina, las gelatinasas, y la colagenasa de polimorfonucleares) activas a pH neutro o ligeramente alcalino.
- Las serina-proteasas (entre ellas la plasmina, la trombina, los activadores de plasminógeno —tipo tisular y urocinasa—, y la elastasa de polimorfonucleares), todas ellas activas a pH neutro o ligeramente alcalino.
- Las catepsinas (como las catepsinas B, D y L) activas a pH ácido.

A continuación se describen las características más importantes de cada uno de estos grupos de enzimas y también se indica el papel que juegan en los procesos de invasión y metástasis.

1. Las metaloproteasas de matriz

El recambio y la degradación de la matriz extracelular son dos procesos importantes en la remodelación del tejido durante la invasión de la célula tumoral. Las metaloproteasas y sus inhibidores son algunos de los componentes claves que se requieren para que se dé tal evento.⁴¹⁻⁴⁴ La clasificación más reciente de esta familia de enzimas incluye un grupo de metaloproteasas de tipo membranal que activan progelati-

nasa A y una cascada de proteasas que degradan además proteínas de matriz extracelular⁴⁵⁻⁴⁸ (*Cuadro 1*).

Las metaloproteasas son un grupo de enzimas dependientes de zinc que degradan moléculas de la matriz extracelular, proteoglicanos, glucoproteínas y varios tipos de colágena (*Figura 1*).^{49,50} Las meta-

Cuadro 1. Familia de metaloproteasas.

Grupo	Número de metaloproteasa de matriz	Otro nombre
Colagenasas	MMP-1	Colagenasa intersticial
	MMP-8	Colagenasa de PMN
	MMP-13	Colagenasa-3
Gelatinasas	MMP-2	Gelatinasa A
	MMP-9	Gelatinasa B
	MMP-7	Matrilisina
Estromelisinias	MM-3	Estromelisinina-1
	MM-10	Estromelisinina-2
	MM-11	Estromelisinina-3
Metaloproteasa de membrana	MT-MMP14	Tipo 1
	MT-MMP15	Tipo 2
	MT-MMP16	Tipo 3
	MT-MMP17	Tipo 4
Otras	MMP-12	Metaloelastasa

Modificado de:^{47 y 49} Basset P, Okada A, Chenard MP. *Matrix Biol* 1997; 15: 535-541. Okada A, Bellocq JP, Rouyer N. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 2730-2734.

loproteasas son producidas por una gran variedad de células. Sus propiedades varían poco con la especie o tipo celular, y son secretadas en una forma inactiva (pro-metaloproteasa).⁵¹ En la actualidad, se sabe que las metaloproteasas tienen diferentes sitios de regulación: a) a nivel transcripcional, a través de factores de crecimiento y citocinas;⁵²⁻⁵⁵ b) a nivel postranscripcional, por cambios en la estabilidad del ARNm,⁵⁶ y c) a nivel postraduccion, a través de la activación de la forma latente secretada. Asimismo, pueden también ser inhibidas por sustancias endógenas conocidas como inhibidores tisulares de las metaloproteasas.⁵⁷⁻⁶⁰

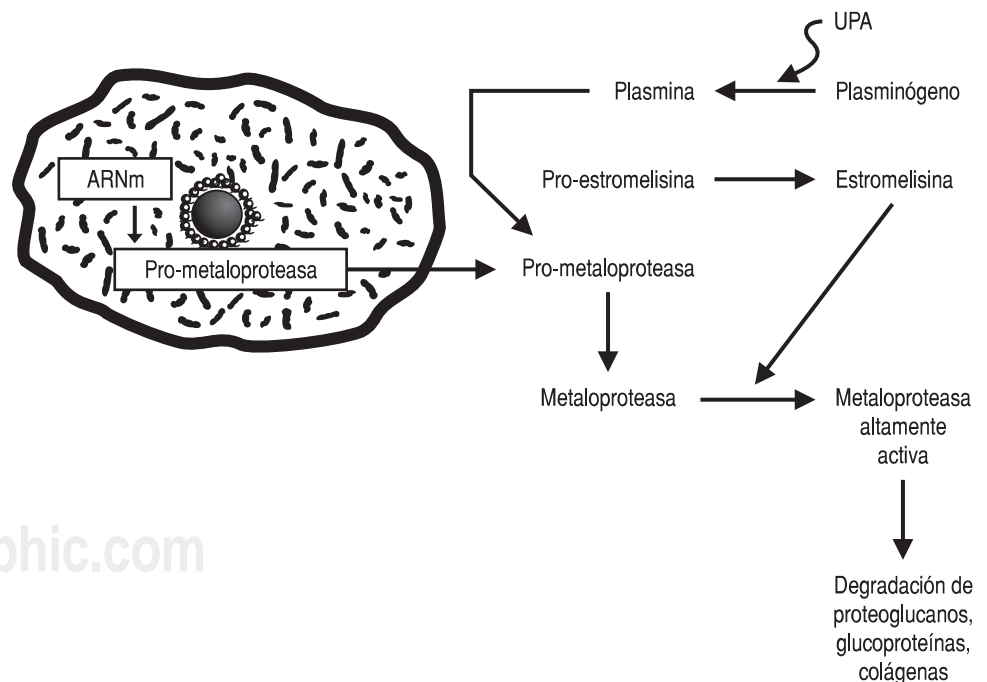
Activación de las metaloproteasas

La regulación transcripcional es el punto de control más importante para determinar la expresión de la metaloproteasa latente. Sin embargo, los mecanismos reguladores extracelulares pueden finalmente controlar el nivel de actividad en términos de degradación de matriz extracelular. Con frecuencia, la activación de la enzima se lleva a cabo por una activación autocatalítica que da lugar a la pérdida de un péptido amino terminal.⁶¹⁻⁶³

Las metaloproteasas pueden ser activadas *in vitro* por diversos agentes entre ellos los detergentes, los compuestos organomercuriales y las enzimas proteolíticas (por ejemplo, plasmina, tripsina, calicreína y estromelisinina).⁶⁴⁻⁶⁷ Independientemente de cuál sea el

Figura 1.

Activación de metaloproteasas vía la plasmina. Las metaloproteasas son producidas por células tumorales. Estas enzimas se secretan en forma inactiva, pero pueden ser activadas en el espacio extracelular por varias moléculas, entre ellas la plasmina. Ya activas producen una extensa lisis de los componentes de la matriz extracelular. De esta manera, la célula tumoral usa la proteólisis en una forma altamente organizada, tanto espacial como temporalmente.



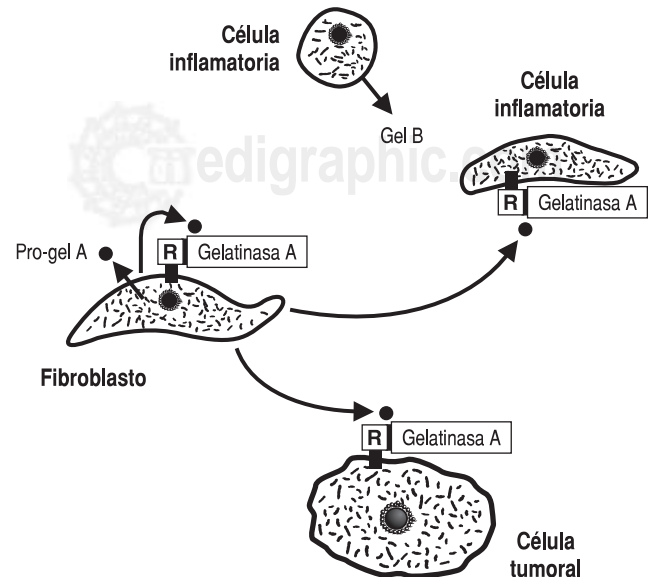
agente activador, éste debe ser capaz de inducir un cambio conformacional en la molécula de la proenzima para que pueda interactuar con la molécula de zinc. Esta interacción activa finalmente a la pro-enzima.

Las metaloproteasas juegan un papel importante en la conducta invasiva de las células, en algunos tumores. Por ejemplo, se ha observado que el glioblastoma, un tumor cerebral maligno, invade en gran extensión el tejido cerebral normal adyacente. El mecanismo específico para esta conducta invasiva no es claro; sin embargo, la interacción de la célula tumoral con la matriz extracelular y la subsecuente degradación de ésta juegan un papel clave en ello.²⁴ Estudios recientes han mostrado que los niveles de metaloproteasa-2 (MMP-2) y la metaloproteasa-9 (MMP-9) están significativamente más altos en pacientes con tumores cerebrales malignos, además se ha observado que existe una correlación entre su sobreexpresión con la progresión maligna del glioma.⁶⁹

Metaloproteasas de membrana

Las metaloproteasas de membrana (MT-MMP) son un grupo de enzimas que han sido recientemente descubiertas. Éstas son una forma distinta de metaloproteasas que son expresadas en la superficie del tumor y que son codificadas por genes diferentes a los que codifican para las metaloproteasas de matriz. Las metaloproteasas membranales activan gelatinasa B y funcionan como receptores para gelatinasa A, induciendo de manera eficiente la proteólisis pericelular y otras funciones (Figura 2).⁷⁰ Hasta la fecha han sido identificados tres tipos de estas metaloproteasas: la MT-MMP tipo 1, la MT-MMP tipo 2, la MT-MMP tipo 3 y la MT-MMP tipo 4. Una característica que tienen estas metaloproteasas de membrana es que presentan un dominio transmembranal en el carboxilo terminal de la molécula que no existe en otras metaloproteasas.^{71,72}

Recientemente se ha observado que la expresión del producto del gene que codifica específicamente para la MT-MMP tipo 1 induce a su vez la activación de pro-MT-MMP tipo 2 en la superficie celular. Es decir, la capacidad invasiva de la célula tumoral se ve inducida por la activación simultánea de la MT-MMP tipo 1 y la MT-MMP tipo 2.⁷³ Yoshizaki y colaboradores,⁷⁴ han reportado una asociación entre los niveles elevados de MT-MMP tipo 1 y el alto grado de diferenciación celular, aunque este efecto no siempre ha sido observado con tumores malignos. Por ejemplo, se han encontrado niveles de expresión elevados de la metaloproteasa de membrana tipo 1 en tejidos con una elevada tasa de remodelación. Asi-



Función de gelatinasas:

- Formación y mantenimiento del estroma.
- Promoción de la migración de la célula estromal.
- Control de la activación de factores de crecimiento y citocinas.

Figura 2. Mecanismo de activación y acción de la gelatinasa A. Representación esquemática de la distribución de proteinasas implicadas en la progresión del carcinoma humano. La progelatinasa A (pro-gel A) es producida por fibroblastos del estroma tumoral, esta pro-enzima puede ser activada en el espacio extracelular después de unirse a receptores (R) y/o activadores (por ejemplo, MT-MMP, uPA) localizados en la superficie de la célula tumoral, de fibroblastos, o bien de células endoteliales. La función de estas proteinasas no está limitada a la promoción de la invasión de la célula tumoral, sino está implicada en la formación y mantenimiento del estroma tumoral al promover la migración de las células tumorales y controlar la activación de factores de crecimiento y citocinas, para que ejerzan su efecto sobre las mismas células del estroma.

Abreviaturas: MT-MMP = Metaloproteasa tipo membranal. UPA = Activador de plasminógeno tipo urocinasa.

mismo, se han identificado transcritos de estas metaloproteasas de membrana en fibroblastos de tejido de granulación durante la cicatrización de heridas cutáneas en ratas.^{75, 76}

Sistema de inhibición de las metaloproteasas

La función de las metaloproteasas es regulada por inhibidores de metaloproteasas presentes naturalmente en el microambiente celular, los denominados inhibidores tisulares de metaloproteasas (TIMPs, por sus siglas en inglés).⁷⁸ La activación de pro-enzimas es importante para el fenotipo invasivo. Sin embargo, la invasión no ocurrirá en presencia de exceso

Cuadro II. Familia de inhibidores de metaloproteasas (TIMPs).

<i>Inhibidor</i>	<i>Peso</i>	<i>Función</i>
TIMP-1	28 kD	Inhibe crecimiento tumoral, invasión y metástasis
TIMP-2	21 kD	Inhibe crecimiento tumoral, invasión y metástasis
TIMP-3	21 kD	Actúa como marcador de diferenciación terminal
TIMP-4	20 kDa	Mantiene la homeostasis de la matriz extracelular

Modificado de:⁸²⁻⁸⁴ Will H, Atkinson SJ, Butler G. *J Biol Chem* 1996; 271: 17119-17123.

Carmichael DF, Sommer A, Thompson RC, Anderson DC. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 2407-2411. Murray GI, Duncan ME, Arbuckle E et al. *Gut* 1998; 43 (6): 791-797.

de TIMPs, los inhibidores endógenos ubicuos de las metaloproteasas. El balance de la enzima activa y la presencia de inhibidores es determinante para que ocurra degradación local de la matriz^{78,79} (*Cuadro 2*).

La familia de inhibidores de metaloproteasas incluye: el TIMP-1 (una proteína de 28 kDa), el TIMP-2 (de 21 kDa), el TIMP-3 (de 21 kDa) y el TIMP-4 (de 20 kDa); todos ellos tienen una amplia especificidad para inhibir metaloproteasas.^{80,81} Actualmente, a los dos primeros se les ha asociado con la invasión y metástasis en el cáncer. Los inhibidores tisulares se unen con alta afinidad en una relación molar 1:1 a metaloproteasas de matriz activas, con lo que originan una pérdida de la actividad proteolítica. TIMP-1 forma un complejo de estequiometría 1:1 con colagenasa intersticial activada, estromelina activada, y la pro-gelatinasa B y gelatinasa B activada. Mientras que el TIMP-2 y el TIMP-3 tienen una amplia especificidad de sustratos.⁸²⁻⁸⁴

Datos experimentales señalan que el balance entre los inhibidores y la actividad de gelatinasa B parecen ser factores tempranos y críticos en la morfogénesis endotelial.⁸⁵ Una gran cantidad de evidencias sugieren que estos inhibidores se comportan como citocinas y pueden, ya sea estimular o bien inhibir la angiogénesis; pueden inducir además la proliferación celular en la ausencia de otros factores de crecimiento.⁸⁶ Estudios *in vitro* han mostrado que TIMP-1 y TIMP-2 son mitógenos para una amplia variedad de células.^{87,88} Esos efectos promotores del crecimiento se sugiere que son mediados por sitios de unión específicos para los inhibidores sobre la superficie celular, probablemente receptores. Evidencias experimentales han mostrado una unión selectiva para el TIMP-1 y TIMP-2 en la superficie celular. Sin embargo, a la fecha no han sido aislados ni caracterizados los supuestos receptores para esos inhibidores. Además, los mecanismos de transducción de señales involucrados en la promoción del crecimiento por los TIMPs no han sido esclarecidos. Corcoran y colaboradores⁸⁹ recientemente señalan que la in-

Cuadro III. Las serina proteasas y sus inhibidores.

<i>Enzima</i>	<i>Inhibidores</i>
Plasmina	α2-antiplasmina α2-macroglobulina
Elastasa	Inhibidor de proteinasa
Activadores de plasminógeno	Inhibidores de activador de plasminógeno tipo 1, 2 y 3 Proteasa nexina-1

Modificado de:^{116 y 124} Potempa J, Korzus E. *J Biol Chem* 1994; 269: 15957-15960. Andreassen PA, Georg B, Lund LR. *Mol Cell Endocrinol* 1990; 68: 1-19.

ducción de la proliferación puede ocurrir a través de mecanismos dependientes del AMPc.

El papel de los inhibidores de las metaloproteasas en los procesos de invasión y metástasis aún no es claro. Sin embargo, se ha observado que existe una correlación entre la reducción en los niveles de expresión de los inhibidores tisulares-1 y 2 con un incremento en la invasión de células tumorales.⁹⁰⁻⁹²

2. Las serina-proteasas

Dentro de la familia de las serina-proteasas, los activadores de plasminógeno están directa e indirectamente involucrados en la degradación de la matriz extracelular (*Cuadro 3*). Los activadores de plasminógeno son proteasas que convierten específicamente el plasminógeno inactivo a plasmina activa, una enzima que tiene una amplia especificidad de sustratos. A través de la plasmina, los activadores de plasminógeno pueden indirectamente degradar una amplia variedad de proteínas, incluyendo fibrina, fibronectina, colágena tipo IV, vitronectina y laminina (*Figura 3*).⁹³⁻⁹⁷ La plasmina también tiene la capacidad de activar colagenasa latente y pro-activadores de plasminógeno.^{98,99}

Los activadores de plasminógeno existen en dos formas, el activador de plasminógeno tipo tisular y

el activador de plasminógeno tipo urocinasa (tPA y uPA, por sus siglas en inglés). Ambas enzimas son codificadas por diferentes genes y tienen diferente función. El tipo urocinasa está involucrado directamente en la degradación de proteínas de matriz extracelular durante procesos de remodelación tisular fisiológica y patológica.^{100,101} El tipo tisular es una enzima que está involucrada en la disolución de coágulos en los vasos sanguíneos y en el mantenimiento de la hemostasia vascular.^{102,103} Se expresa durante el desarrollo cerebral y está involucrado en la migración neuronal.^{104,105} Sin embargo, su papel en el cáncer es controversial. Por otro lado, se sabe que el tipo tisular está totalmente ausente en la metástasis del glioblastoma, así como en tumores de colon, pulmón y mama.^{106,107}

La mayoría de las células expresan receptores de superficie específicos tanto para el uPA como para el plasminógeno.¹⁰⁸⁻¹¹² El receptor de uPA tiene alta afinidad al uPA pero baja capacidad de unión (0.1 nM y cerca de 10,000 receptores por célula);¹¹³ mientras que la unión al plasminógeno es de baja afinidad (0.1 mM) pero tiene una alta capacidad de unión (1-2 millones de receptores por célula).¹¹⁴ La presencia de receptores para uPA y plasminógeno en la superficie celular capacita a la célula para producir plasmina sobre la superficie. Las diferentes afinidades para los receptores sugiere que, mientras el uPA puede permanecer activo sobre la superficie celular de las células, el plasminógeno (y la

plasmina) están constantemente cambiando en los líquidos intracelular y extracelular.¹¹⁵

Activación de los activadores de plasminógeno

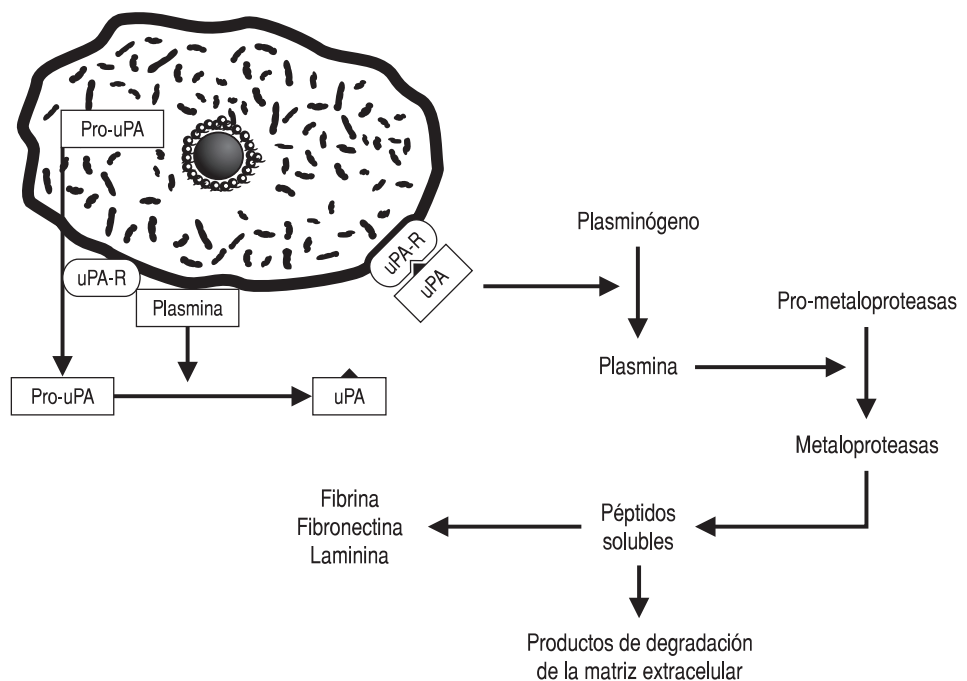
Para evitar la proteólisis excesiva y el daño tisular se requiere de una regulación precisa del sistema activador del plasminógeno, coordinada espacial y temporalmente. Esto se logra a través de varios mecanismos reguladores que incluyen:

- a) La inhibición por inhibidores específicos de la plasmina y de los activadores de plasminógeno.
- b) La unión del plasminógeno, los activadores de plasminógeno y sus inhibidores a la fibrina, proteínas de la matriz y receptores de superficie celular específicos, de manera que con esto se logra regular la velocidad de activación del plasminógeno y la eficiencia de los inhibidores.
- c) La liberación de tPA y de inhibidores de activadores de plasminógeno de gránulos intracelulares.
- d) La regulación de la expresión de genes de los activadores de plasminógeno y de los inhibidores a través de hormonas, factores de crecimiento y citocinas.
- e) La regulación autocrina de la expresión de activadores de plasminógeno e inhibidores, a través de la activación de formas latentes de factores de crecimiento mediada por la plasmina.

Figura 3.

La activación del plasminógeno. El uPA es expresado por las células fibroblásticas del adenocarcinoma, entre otras células. Esta proteasa se activa después de unirse a receptores asociados a membrana (uPA-R), predominantemente localizados en la superficie de la célula cancerosa o de las células inflamatorias. Este diagrama muestra las reacciones involucradas en la activación del plasminógeno catalizada por el uPA.

Abreviaturas: uPA = Activador de plasminógeno tipo urocinasa.
uPA-R = Receptor para el activador de plasminógeno tipo urocinasa.



- f) A través de la depuración de los activadores de plasminógeno unido a sus inhibidores o bien en forma libre, vía receptores específicos.

Todos estos mecanismos ya sea en forma aislada o bien en coordinación logran una adecuada regulación del sistema activador del plasminógeno.

Sistema de inhibición de los activadores de plasminógeno

La regulación de la activación del plasminógeno por los inhibidores de los activadores de plasminógeno es específica y rápida. Existen cuatro tipos de inhibidores: el inhibidor de plasminógeno tipo 1, el inhibidor del activador de plasminógeno tipo 2, el inhibidor del activador de plasminógeno tipo 3 y la proteasa nexina. (PAI-1, PAI-2, PAI-3 y PN, respectivamente, por sus siglas en inglés), los cuales pertenecen a la familia de las serpinas, pero son productos de diferentes genes.¹¹⁶ Ellos inhiben tanto al uPA libre como el unido a receptor. La inhibición de la unión de uPA al receptor por unión del PAI es una de las principales formas de regulación del sistema activador del plasminógeno. PAI-1 y uPA no se localizan en las células. PAI-1 está presente en la matriz extracelular y no en los contactos focales en los cuales uPA se encuentra normalmente.^{117,118}

La migración celular puede por sí misma regular la proteólisis en la superficie celular. La célula es capaz de internalizar y degradar uPA:PAI-1 unido a receptor a través de un paso endocítico.¹¹⁹⁻¹²¹ Las células que tienen la capacidad de migrar están dotadas de propiedades que le permiten realizar un ciclo completo de: 1) activación de plasminógeno, 2) síntesis y secreción de un pro-uPA inactivo para unir al receptor, 3) sufrir activación y producir plasmina, 4) ser inhibido por PAI-1 e internalizarse. Posterior a esa serie de eventos el complejo uPA:PAI-1 unido a receptor, es finalmente degradado.^{122,123}

Se considera que PAI-1 juega un papel protector del tejido tumoral contra efectos destructivos del uPA; conclusión que ha sido basada en reportes de varios investigadores que indican la distribución histológica del PAI-1 en tumores inducidos experimentalmente y en el cáncer humano. Por ejemplo, se ha observado en el cáncer de colon y mama que los niveles de proteína y ARN mensajero del PAI-1 son expresado en el estroma del tumor, incluyendo en las células endoteliales de los vasos tumorales. Sin embargo, no se ha encontrado PAI-1 en el tejido normal de colon y mama. La localización de uPA, PAI-1 y uPAr ha sido estudiada en colon, mama y cáncer de

piel; sin embargo, el modelo de expresión celular de esas moléculas al parecer es característico para cada tipo de cáncer en particular.¹²⁴⁻¹²⁶

El significado clínico de las variaciones de los componentes del sistema activador del plasminógeno en pacientes con cáncer, puede tener diferente valor dependiendo de cada tipo de cáncer en particular. Por ejemplo, estudios clínicos realizados en tejido mamario con cáncer han demostrado que los niveles elevados de uPA y PAI-1 pueden ser utilizados como marcadores de pobre pronóstico.¹²⁷ En el cáncer gástrico, el PAI-1 también ha sido asociado con un mal pronóstico,¹²⁸ mientras que uPA se ha demostrado que tiene un menor impacto pronóstico en el cáncer colorrectal y de vejiga.^{129,130}

Por el contrario, en los diferentes tipos de cáncer de pulmón es muy evidente la diferencia que existe entre la expresión, localización y el impacto pronóstico de los componentes del sistema activador de plasminógeno. Se ha observado una clara diferencia en la expresión del sistema activador del plasminógeno en los dos tipos más frecuentes de cáncer de pulmón: el de células pequeñas y el de células no pequeñas. Ninguno de los inhibidores se ha encontrado en el cáncer de células pequeñas, así como la reactividad de uPA parece ser débil.¹³¹ En tanto que todos los componentes están presentes en el cáncer de células no pequeñas.¹³²

Otra situación parecida ocurre entre el adenocarcinoma y el carcinoma de células escamosas de pulmón. Mientras que el uPA, el uPAr y el PAI-1 son expresados por células epiteliales malignas en el carcinoma de células escamosas, el uPAr y PAI-1 solamente se ha encontrado en las células estromales en el adenocarcinoma.¹³³ Estas diferencias en la localización entre los diferentes tipos de células malignas pulmonares pueden explicar las diferencias que existen en la biología de los diferentes cánceres de pulmón. Además sugieren que el sistema activador del plasminógeno juega, probablemente, un papel diferente en el cáncer pulmonar. Todos los estudios sobre el papel pronóstico del PAI-1 en el cáncer (sobre todo del cáncer de mama y gástrico) muestran niveles elevados de PAI-1 y parece ser determinante para el promedio de vida a corto plazo, sugiriendo también que PAI-1 puede ser un marcador pronóstico más general en el carcinoma.¹³⁴⁻¹³⁶

La expresión de PAI-2 es regulada por una amplia variedad de factores, los cuales pueden actuar en varios tipos celulares y en una forma dependiente de la etapa de diferenciación.^{137,138} Se han encontrado niveles marcadamente elevados de PAI-2 en plasma y en extractos celulares de pacientes con diferentes ti-

pos de leucemias.^{139,140} Estudios relacionados con los niveles de PAI-2 han sido ampliamente estudiados en diferentes tipos de cáncer humanos.¹⁴¹⁻¹⁵⁰

3. Las catepsinas

Las catepsinas son otro grupo de enzimas proteolíticas que participan en la progresión del cáncer. Se conocen las catepsinas B y L, ambas son proteasas dependientes de cisteína, y la catepsina D, una proteasa dependiente de aspartilo. Evidencias experimentales que emergieron a partir de los años 70 permitieron mostrar la participación de estas enzimas en la invasión y metástasis del cáncer.

La catepsina B es una hidrolasa lisosomal que tiene una amplia actividad de endopeptidasa. Aunque es una enzima lisosomal, ha sido encontrada en la membrana plasmática de las células tumorales y en el medio condicionado de líneas celulares cultivadas *in vitro*.^{151,152} La catepsina B no solamente es importante debido a su capacidad para degradar proteínas de la matriz extracelular, sino porque tiene además la capacidad de convertir tanto al pro-uPA inactivo como al complejo uPAR, en un uPA enzimáticamente activo en células tumorales.^{153,154}

Piedras y colaboradores¹⁵⁵ han cuantificado la actividad de la catepsina B en el suero de pacientes con tumores ginecológicos malignos. Ellos han encontrado un incremento significativo en la actividad de esta enzima sólo en pacientes con carcinoma de células escamosas del cérvix uterino. Mientras que elevaciones mínimas han sido detectadas en mujeres en etapas tempranas del cáncer, con displasia o bien con tejido normal. Por otro lado, la actividad y los niveles de expresión del ARN mensajero de la catepsina B se han observado elevados en pacientes con carcinoma papilar de tiroides.¹⁵⁶ La enzima activa ha sido detectada en líneas celulares de alto potencial maligno cultivadas *in vitro*.¹⁵⁷

Al igual que la catepsina B, la catepsina L tiene una alta capacidad para degradar las proteínas de la matriz extracelular, como la colágena, laminina y elastina.¹⁵⁸ Sin embargo, su actividad proteolítica se dice que es más alta que la de catepsina B, pues esta enzima tiene también la capacidad de activar al pro-uPA.¹⁵⁹ El potencial metastásico de algunas líneas celulares ha sido asociado con niveles elevados de ARN mensajero de la catepsina L; asimismo, niveles elevados de la enzima han sido encontrados en pacientes con cáncer papilar de tiroides, tumores renales, tumores testiculares, en el carcinoma de células no pequeñas de pulmón, y en la mayoría de los cánceres de mama, ovario, colon y vejiga.¹⁶⁰⁻¹⁶²

La catepsina D, es también una enzima lisosomal que requiere la presencia del aminoácido aspartato, para ejercer su actividad.¹⁶³ Se ha observado que la catepsina D tiene actividad mitogénica sobre células de adenocarcinoma de mama dependientes de estrógeno.¹⁶⁴ Recientemente, Losh y colaboradores¹⁶⁵ han mostrado que la expresión de la catepsina D tiene un valor pronóstico importante en mujeres con cáncer de endometrio. También se ha visto una correlación entre los niveles de catepsina D y el potencial maligno del cáncer humano de cérvix y de mama.^{166,167}

Estudios *in vitro*, realizados por Johnson y asociados,¹⁶⁸ han mostrado una correlación entre los niveles de catepsina D y la conducta invasiva de algunas líneas celulares de mama. Por el contrario, Liaudet y su grupo¹⁶⁹ han mostrado que la sobreexpresión de la catepsina D puede estimular la proliferación celular en focos de micrometástasis en ratones desnudos. Por lo que han propuesto que esta enzima inactiva a un inhibidor de un factor de crecimiento. Esos estudios sugieren que la catepsina D puede facilitar el crecimiento de las células tumorales en sitios a distancia a través de: 1) la inactivación de inhibidores de factores de crecimiento, 2) la activación de factores de crecimiento, o bien 3) a través de su interacción con receptores para factores de crecimiento.^{170,171}

Sistema inhibidor de las catepsinas

Las catepsinas pueden ser reguladas también a través de la interacción con inhibidores endógenos. Los inhibidores de estas enzimas se dividen en tres grupos, estefinas, cistatinas y los cinógenos, todos ellos pertenecen a la familia de las cistinas.¹⁷² Se sabe que los inhibidores de las catepsinas bloquean el sitio activo de las proteasas en una forma no covalente y reversible. Las alteraciones en la relación proteasa/inhibidor contribuyen a la progresión maligna de los tumores. Una disminución en la concentración y/o la actividad de los inhibidores puede contribuir a este desbalance favoreciendo el fenotipo maligno.

Varios estudios han determinado la importancia de los inhibidores de estas proteasas en la progresión tumoral. Van der Stappen y colaboradores¹⁷³ han observado una correlación inversa entre la cantidad de inhibidor de catepsina secretada al medio y la tumorigenicidad de líneas celulares colorrectales. Estudios realizados en muestras de pacientes con carcinoma de mama también han mostrado que la actividad de los inhibidores de catepsina B, L y de estefin fue más baja comparadas con la del tejido normal.^{174,175} Por otro lado, estudios

utilizando muestras de carcinoma colorrectal, sólo detectaron pequeñas diferencias entre el tejido tumoral y el normal.¹⁷⁶

Boike y asociados¹⁷⁷ han aislado el estefin A de un sarcoma humano y han mostrado que la proteína tiene una menor capacidad inhibitoria hacia la catepsina B. Ellos señalan que esta actividad inhibitoria disminuida puede ser debida a una modificación en la estructura primaria de la proteína. De manera que, los inhibidores de catepsinas pueden jugar un papel directo en el fenotipo celular migrador, propio de la célula tumoral. La expresión de estefin también se ha observado disminuida en tumores malignos humanos, como el cáncer de cérvix uterino, pero no en el cérvix normal.¹⁷⁸ Aunque se han incrementado los conocimientos de la biología de las catepsinas y sus inhibidores, la participación de estos en la progresión del cáncer sigue siendo aún controversial.

CONCLUSIONES

Los avances en el campo de la biología molecular han incrementado nuestros conocimientos sobre los eventos moleculares involucrados en la invasión de la célula tumoral y la subsecuente metástasis. Esta información está permitiendo actualmente enfocar la intervención terapéutica hacia nuevos objetivos particulares como: el uso de péptidos análogos de las moléculas de adhesión para inhibir la adhesión de la célula tumoral, o bien el uso de inhibidores de proteasas, para limitar la proteólisis de la matriz extracelular, entre otros. Aunque hallazgos previos sugieren que las interacciones matriz-célula influyen en la expresión de genes y que el balance proteasa/inhibidor pueden influir de manera importante en las interacciones matriz-célula. Investigaciones recientes señalan que esos eventos operan, tanto en forma unida como de manera independiente, en el proceso invasivo. Quizás esa es la razón que complica el estudio de esos eventos en el cáncer. Por lo que, el estudio y comprensión de esas interacciones son el tema fundamental para el desarrollo de futuras investigaciones en cáncer.

BIBLIOGRAFÍA

- Shih MI, Herly M. Autocrine and paracrine roles for growth factors in melanoma. *In vivo* 1994; 8: 113-123.
- Bishop JM. Molecular themes in oncogenesis. *Cell* 1991; 64: 235-241.
- Cohen PL, Ellwein LB. Genetic errors, cell proliferation, and carcinogenesis. *Cancer Res* 1991; 51: 6493-6505.
- Weinberg RA. The molecular basis of oncogenes and tumor suppressor genes. *Annals New York Acad Sci* 1995; 758: 331-338.
- Quigley JP, Berkenpas MB, Aimes RT. Serine proteases and metalloproteinases cascade systems involved in pericellular proteolysis. *Cell Differ Dev* 1990; 32: 263-276.
- Saksela O, Rifkin DB. Cell-associated plasminogen activation: regulation and physiological functions. *Ann Rev Cell Biol* 1988; 4: 93-126.
- Matrisian LM, Hogan BLM. Growth factor-regulated proteases and extracellular matrix remodeling during mammalian development. *Curr Top Dev Biol* 1990; 24: 219-259.
- Fidler IJ, Naito S, Pathak S. Orthotopic implantation is essential for the selection, growth and metastasis of human renal cell cancer in nude mice. *Cancer Metastasis* 1990; 9: 149-165.
- Fidler IJ, Radinsky R. Genetic control of cancer metastasis. *J Natl Cancer Inst* 1990; 82: 166-168.
- Manzotti C, Audisio RA, Pratesi G. Importance of orthotopic implantation for human tumors model systems: relevance to metastasis and invasion. *Clin Exp Metastasis* 1993; 11: 5-14.
- Furukawa T, Fu X, Kubota T. Nude mouse metastatic models of human stomach cancer constructed using orthotopic implantation of histologically intact tissue. *Cancer Res* 1993; 53: 1204-1208.
- Nakajima M, Morikawa K, Fabra A. Influence of organ environment on extracellular matrix degradative activity and metastasis of human colon carcinoma cells. *J Natl Cancer Inst* 1990; 82: 1890-1898.
- Sage EH, Borstein P. Extracellular matrix proteins that modulate cell-matrix interactions. *J Biol Chem* 1991; 266: 14831-14834.
- Kerbel R. Expression of multicytokine resistance and multi-growth factor independence in advanced stage metastatic cancer. *Am J Pathol* 1992; 141: 519-524.
- Mareel MM, Van Roy FM, De Baetselier P. The invasive phenotypes. *Cancer Metastasis Rev* 1990; 9: 945-962.
- Fidler IJ, Hart R. Biologic diversity in metastatic neoplasms: origins and implications. *Science* 1982; 217: 998-1001.
- Liotta LA, Steeg PS, Stetler-Stevenson W.G. Cancer metastasis and angiogenesis: An imbalance of positive and negative regulation. *Cell* 1991; 64: 327-336.
- Behrens J. The role of cell adhesion molecules in cancer invasion and metastasis. *Breast Cancer Res Treat* 1993; 24: 175-184.
- Stetler-Stevenson WG, Aznavoorian S, Liotta LA. Tumor cell interactions with the extracellular matrix during invasion and metastasis. *Annu Rev cell Biol* 1993; 9: 541-573.
- Liotta LA, Kleinerman J. Quantitative relationships of intravascular tumor cells: Tumor vessels and pulmonary metastasis following tumor implantation. *Cancer Res* 1974; 34: 997-1003.
- Folkman J, and Shing Y. Angiogenesis. *J Biol Chem* 1992; 267: 10931-10934.
- Brem SS, Jensen HM. Angiogenesis as a marker of preneoplastic lesions of the human breast. *Cancer* 1978; 41: 239-244.
- Holmgren L, O'Really MS. Dormancy of micrometastasis: balanced proliferation and apoptosis in the presence of angiogenesis suppression. *Nature Med* 1995; 1: 149-153.
- Maria BL, Rehder K. Brainstem glioma: I. pathology, clinical features, and therapy. *J Child Neurol* 1993; 8: 112-128.
- Weidner KM, Hartman G. Properties and functions of scatter factor/hepatocyte growth factor and its receptor c-Met. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1993; 8: 229-237.
- Folkman J. The role of angiogenesis in tumor growth. *Semin Cancer Biol* 1992; 3: 65-71.
- Plow EF, Miles LA. Plasminogen receptors in the mediation of pericellular proteolysis. *Cell Differ Dev* 1990; 32: 293-298.
- Woessner JF. Matrix metalloproteinases and their inhibitor in matrix remodeling. *TIG* 1990; 6: 121-125.

29. Dano K, Andreasen PA, Grondahl-Hansen J. Plasminogen activators, tissue degradation, and cancer. *Adv Cancer Res* 1985; 44: 139-266.
30. He CS, Wilhelm SM, Pentland AP. Tissue cooperation in a proteolytic cascade activating human interstitial collagenase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 2632-2636.
31. Rifkin DB, Moscatelli D, Bizik J. Growth factor control of extracellular proteolysis. *Cell Dif Dev* 1990; 32: 313-318.
32. Ehrlich HJ, Keijer J, Preissner D. Functional interactions of plasminogen activator inhibitor type 1 (PAI-1) and heparin. *Biochemistry* 1991; 30: 1021-1028.
33. Estreicher A, Muhlhauser J, Carpentier L. The receptor for urokinase type plasminogen activator polarizes expression of the protease to the leading edge of migrating monocytes and promotes degradation of enzymes inhibitor complexes. *J Cell Biol* 1990; 111: 783-792.
34. Matrisian LM. Metalloproteinases and their inhibitors in matrix remodeling. *TIG* 1990; 6: 121-125.
35. DenBesten PK, Heffernan LM, Treadwell B. The presence and possible functions of the matrix metalloproteinase activator protein in developing enamel matrix. *Biochem J* 1989; 264: 917-920.
36. Gravidovic JR, Hembry JJ, Reynolds G. Tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP) regulates extracellular type I collagen degradation by chondrocytes and endothelial cells. *J Cell Sci* 1987; 87: 357-362.
37. Mignatti P, Tsuobi E, Robbin D. In vitro angiogenesis on the human amniotic membrane: requirement for basic fibroblast growth factor-induced proteinases. *J Cell Biol* 1989; 108: 671-682.
38. Ito & Nagase H. Evidence that human rheumatoid synovial matrix metalloproteinase 3 is an endogenous activator of procollagenase. *Arch Biochem Biophys* 1988; 267: 211-216.
39. Erickson LA, Hekman CM, Loskutoff DJ. The primary plasminogen activator inhibitor in endothelial cells, platelets, serum, and plasma are immunologically related. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82: 8710-8714.
40. Krystosek A, Seeds NW. Normal and malignant cells, including neurons, deposit plasminogen activator on the growth substrata. *Exp Cell Res* 1986; 166: 31-46.
41. Flaumenhaft R, Rifkin D. Extracellular matrix regulation of growth factor and proteases activity. *Curr Opin Cell Biol* 1991; 3: 817-823.
42. Will H, and Hinzmann B. cDNA sequence and mRNA tissue distribution of a novel human matrix metalloproteinase with potential transmembrane segment. *Eur J Biochem* 1995; 231: 602-618.
43. Birkedal-Hansen H. Proteolytic remodeling of extracellular matrix. *Curr Opin Cell Biol* 1995; 7: 728-735.
44. Liotta LA. Cancer cell invasion and metastasis. *Sci Am* 1992; 2: 34-41.
45. Cao J, Sato H, Takino T. The C-terminal region of membrane type matrix metalloproteinase is a functional transmembrane domain required for progelatinase A activation. *J Biol Chem* 1996; 270: 801-805.
46. Takino T, Sato H, Shinagawa A. Identification of the second membrane-type matrix metalloproteinase (MT-MMP-2) gene from a human placenta cDNA library. *J Biol Chem* 1995; 270: 23013-23020.
47. Basset P, Okada A, Chenard MP. Matrix metalloproteinases as stromal effectors of human carcinoma progression: therapeutic implications. *Matrix Biol* 1997; 15: 535-541.
48. Hepper KJ, Matriciam LM, Jensen RA. Expression of most matrix metalloproteinase family members in breast cancer represents a tumor-induced host response. *Am J Pathol* 1996; 149: 273-282.
49. Okada A, Bellocq JP, Rouyer N. Membrane type matrix metalloproteinase (MT-MMP) gene is expressed in stromal cells of human colon, breast, and head and neck carcinomas. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 2730-2734.
50. Grant GM, Cobb JK, Castill B. Regulation of matrix metalloproteinases following cellular transformation. *J Cell Physiol* 1996; 167: 177-183.
51. Fessler LI, Duncan KG, Fessler J.H. Characterization of the procollagen IV cleavage products produced by a specific tumor collagenase. *J Biol Chem* 1984; 259: 9783-9789.
52. Birkedal-Hansen H, Moore WG. Matrix metalloproteinases: a review. *Crit Rev Oral Biol Med* 1993; 4: 197-250.
53. Sánchez-López R, Alexander CM. Role of zinc-binding-and hemopexin domain-encoded sequences in the substrate specificity of collagenase and stromelysin-2 revealed by chimeric proteins. *J Biol Chem* 1993; 268: 7238-7247.
54. Lohi J, Lehti K, Westermarck. Regulation of membrane type matrix metalloproteinase-1 expression by growth factor and phorbol 12-miristate acetate. *Eur J Biochem* 1996; 239: 239-247.
55. Panagakos FS, Kumar S. Modulation of proteases and their inhibitors in immortal human osteoblast-like cells by tumor necrosis factor-alpha in vitro. *Inflammation* 1994; 18: 243-265.
56. Schontal A, Herlich P., Rahmsdorf HJ. Requirement for fos gene expression in the transcriptional activation of collagenase by others oncogenes and phorbol ester. *Cell* 1988; 54: 325-334.
57. Springman EB, Angleton EL, Birkedal-Hansen H. Multiple modes of activation of latent human fibroblast collagenase: evidence for the role of a cys 73 active site zinc complex in latency and a cysteine switch mechanism for activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 364-368.
58. Becker JW, Marcy AL, Rokosz L. Stromelysin-1: Three dimensional structure of the inhibited catalytic domain and the c-truncated proenzyme. *Protein Sci* 1995; 4: 1966-1995.
59. Howard EW, Bullen EC, Banda MJ. Regulation of the auto-activation of human 72 kDa progelatinase by tissue inhibitor or metalloproteinases-2. *J Biol Chem* 1991; 266: 13064-13069.
60. Brown PD, Kleiner DE, Unsworth EJ. Cellular activation of the 72 kDa type IV procollagenase/TIMP-2 complex. *Kidney Int* 1993; 43: 163-170.
61. Browner MF, Smith WW, Castelano AL. Matrilysin inhibitor complexes: Common themes among metalloproteinases. *Biochemistry* 1995; 34: 6602-6610.
62. Golberg GI, Strongin A, Collier A. Interaction of 92 kDa type IV collagenase with the tissue inhibitor of metalloproteinase prevents dimerisation complex formation with interstitial collagenase, and activation of the proenzyme with stromelysin. *J Biol Chem* 1992; 267: 4583-4591.
63. VanWart HE, Birkedal-Hansen H. The cysteine switch: A principle of regulation of metalloproteinase activity with potential applicability to the entire matrix metalloproteinase gene family. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 5578-5582.
64. Liotta LA, Goldfarb RH, Brundage R. Effect of plasminogen activator (urokinase, plasmin, and thrombin on glycoprotein and collagenase components of base membrane. *Cancer Res* 1981; 41: 4629-4636.
65. Murphy GR, Ward J, Gavrilovic S. Physiological mechanisms for metalloproteinases activation. *Matrix* 1991; 1: 224-230.
66. Okada Y, Nakanishi I. Activation of matrix metalloproteinase-3 (stromelysin) and matrix metalloproteinase-2 (gelatinase) by human neutrophil elastase and cathepsin G *FEBS Lett* 1989; 249: 353-356.
67. Eeckhout Y, Vaes G. Further studies on the activation of procollagenase, the latent precursor of bone collagenase. Effects of lysosomal cathepsin B, plasmin and kallikrein, and spontaneous activation. *Biochem J* 1977; 166: 21-31.

68. Murphy G, Segain JP. The 28-kDa N-terminal domain of mouse stromelysin-3 has the general properties of a weak metalloproteinase. *J Biol Chem* 1993; 268: 15435-15441.
69. Sato H, Takino T. A matrix metalloproteinase expressed on the surface of invasive tumor cells. *Nature* 1994; 370: 61-65.
70. Yamamoto M, Mohanan S. Differential expression of membrane-type matrix metalloproteinase and its correlation with gelatinase A activation in human malignant brain tumors *in vivo* and *in vitro*. *Cancer Res* 1996; 56: 384-392.
71. Barkakoti M. Matrix metalloproteases: Variations of a theme. *Progr Biophys Molec Biol* 1998; 70 (1): 73-94.
72. Will H, Hinzmann B. cDNA sequence and mRNA tissue distribution of a novel human matrix metalloproteinase with a potential transmembrane segments. *Eur J Biochem* 1995; 231: 602-608.
73. Takino T, Sato H, Shinagawa A. Identification of the second membrane-type matrix metalloproteinase (MT-MMP-2) gene from a human placenta cDNA library. *J Biol Chem* 1995; 270: 23013-23020.
74. Yoshizaki T, Sato H. Increased expression of membrane type 1-matrix metalloproteinase in head and neck carcinoma. *Cancer* 1997; 79: 139-144.
75. Yoshizaki T, Sato H, Kurukawa M., Pagano ST. The expression of matrix metalloproteinase 9 is enhanced by Epstein Barr virus latent membrane protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95 (7): 3621-3626.
76. Okada A, Bellocq JP, Rouyer N, Chenard MP. Membrane-type matrix metalloproteinase (MT-MMP) gene is expressed in stromal cells of human colon, breast, and head and neck carcinomas. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 2730-2734
77. Murphy G, Willenbrock F. Tissue inhibitors of matrix metallo-endopeptidases. *Methods Enzymol* 1995; 248: 496-510.
78. Tanaka K, Iwamoto Y. Cyclic AMP-regulated synthesis of the tissue inhibitors of metalloproteinases suppresses the invasive potential of the human fibrosarcoma cell line HT1080. *Cancer Res* 1995, 55: 2927-2935.
79. Kawamata H, Kawai K. Over-expression of tissue inhibitor of matrix metalloproteinases (TIMP-1 and TIMP-2) suppresses extracellular of pulmonary metastasis of a rat bladder carcinoma. *Int J Cancer* 1995; 63: 680-687.
80. Nguyen Q, Willenbrock F, Cockett MI. Different domain interactions are involved in the binding of tissue inhibitors of metalloproteinases to stromelysin-1 and gelatinase A. *Biochemistry* 1994; 33: 2089-2095.
81. Taylor KB, Windsor LJ, Caterina NCM. The mechanism of inhibition of collagenase by TIMP-1. *J Biol Chem* 1996; 271: 23938-23945.
82. Will H, Atkinson SJ, Butler G. The soluble catalytic domain of membrane type 1 matrix metalloproteinase cleaves the propeptide of progelatinase A and initiates autoproteolytic activation-regulation by TIMP2 and TIMP-3. *J Biol Chem* 1996; 271: 17119-17123.
83. Carmichael DF, Sommer A, Thompson RC, Anderson DC. Primary structure and cDNA cloning of human fibroblast collagenase inhibitor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 2407-2411.
84. Murray GI, Duncan ME, Arbuckle E, Melvin WT, Fothergell JE. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in gastric cancer. *Gut* 1998; 43 (6): 791-797.
85. Perry JK, Scott GK, Tse CA. Modulation of proliferation of cultured human cells by urinary trypsin inhibitor. *Biochem Biophys Acta* 1994; 1221: 145-152.
86. Ohmachi Y, Murata A, Matsuura N. Overexpression of pancreatic secretory trypsin inhibitor in pancreatic cancer. Evaluation of its biological function as growth factors. *Intl J Pancreatol* 1994; 15: 65-74.
87. Hayakawa T, Yamashita K, Ohuchi E. Cell growth-promoting activity of tissue inhibitor of metalloproteinase-2 (TIMP-2). *J Cell Sci* 1994; 107: 2373-2379.
88. Kikkawa F, Nawa A, Shibata K, Obata NH, Tamakoshi K, Suzuki J, Mizutani J. The different stimulatory effect of normal tissue on the secretion of matrix metalloproteinase and their inhibitors by human ovarian cancer cells. *Anti-cancer Res* 1998, 18 (6): 4323-4328.
89. Corcoran ML, Stetler-Stevenson WG. Tissue inhibitor of metalloproteinase-2 Stimulates fibroblast proliferation via a cAMP-dependent mechanism. *J Chem Biol* 1995; 270: 13453-13459.
90. Willenbrock F, Murphy G. Structure-function relationships in the tissue inhibitors of metalloproteinases. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150: S165-S170.
91. Khokha R. Suppression of the tumorigenic and metastatic abilities of murine B16-F10 melanoma cells *in vivo* by the overexpression of the tissue inhibitor of the metalloproteinase-1. *J Natl Cancer Inst* 1994; 86: 299-304.
92. Martin DC, Ruther U. Inhibition of SV40 T antigen-induced hepatocellular carcinoma in TIMP-1 transgenic mice. *Oncogene* 1996; 13: 569-576.
93. Gravidovic J, Murphy G. The role of plasminogen activator in cell-mediated collagen degradation. *Cell Biol Int* 1989; 13: 367-375.
94. Knudsen BS, Silverstein R, Leung LK. Binding of plasminogen to extracellular matrix. *J Biol Chem* 1986; 104: 1085-1096.
95. Andrade-Gordon P, Strickland S. Interactions of heparin with plasminogen activator and plasminogen: effects on the activation of plasminogen. *Biochemistry* 1986; 25: 4033-4040.
96. Roldan AL, Cubellis MV, Masucci MT. Cloning and expression of the receptor for human urokinase plasminogen activator, a central molecule in cell surface, plasmin dependent proteolysis. *EMBO J* 1990; 9: 467-474.
97. Ichinose AK, Fujikawa K, Suyama T. The activation of pro-urokinase by plasma kallikrein and its inactivation by thrombin. *J Biol Chem* 1986; 261: 3486-3489.
98. Liotta LA, Goldfarb RH, Brundage R. The effect of plasminogen activators (urokinase), plasmin and thrombin on glycoprotein and collagenous components of basement membrane. *Cancer Res* 1991; 41: 4629-4636.
99. Summaria L, Hsieh B. The specific mechanism of activation of human plasminogen to plasmin. *J Biol Chem* 1967; 242: 4279-4283.
100. Saksela O, Rifkin DB. Cell-associated plasminogen activation: regulation and physiological functions. *Ann Rev Cell Biol*. 1988; 4: 93-126.
101. Blasi F. Molecular mechanisms of protease-mediate tumor invasiveness. *J Surg Oncol S* 1993; 3: 21-23.
102. Bachmann F, Kruithof EK. Tissue plasminogen activator: chemical and physiological aspects. *Semin. Thromb Haemost* 1984; 10: 6-17.
103. Gething MJ, Adler B, Boose A. Variants of tissue-type plasminogen activator that lack specific structural domains of heavy chain. *EMBO J* 1988; 7: 2731-2740.
104. Hsueh AJW, Liu YX, Cajander S. Gonadotropin releasing hormone induces ovulation in hypophysectomized rats: studies on ovarian tissue-type plasminogen activator activity, messenger ribonucleic acid content, and cellular localization. *Endocrinology* 1988; 122: 1486-1495.
105. Verral S, Seed NW. Characterization of 125-I-tissue plasminogen activator binding to cerebellar granule neurons. *J Cell Biol* 1989; 109: 265-271.

106. Hajjar KA, Hamel NM. Identification and characterization of human endothelial cell membrane binding sites for tissue plasminogen activator and urokinase. *J Biol Chem* 1990; 265: 2908-2916.
107. Saito K, Nagashima M, Iwata M. The concentration of tissue plasminogen activator and urokinase in plasma and tissue patients with ovarian and uterine tumors. *Thromb Res* 1990; 58: 355-366.
108. Gottesman M. The role of proteases in cancer. *Sem Cancer Biol* 1990; 1: 97-100.
109. Conese M, Blasi F. The urokinase/urokinase receptor system and cancer invasion. *Bullieres Clin Haematol* 1995; 8: 365-389.
110. Cubelis MV, Noll ML, Canass G. Binding of single-chain pro urokinase to the urokinase receptor of human U937 cells. *J Biol Chem* 1986; 261: 15819-15822.
111. Quax PH; Pedersen N, Masucci MT. Complementation between urokinase-producing and receptor producing cells in extracellular matrix degradation. *Cell Regulation* 1991; 2: 793-803.
112. Lund LR, Ronne E, Ellis V. Urokinase-receptor biosynthesis, messenger RNA levels and gene transcription are increased by transforming growth factor beta-1 in human A549 lung carcinoma cells. *EMBO J* 1991; 10: 3399-3407.
113. Solberg H, Lober D, Eriksen J. Identification and characterization of the murine cell surface receptor for urokinase type plasminogen activator. *Eur J Biochem* 1992; 67: 890-899.
114. Ellis V, Behrendt N, Dano K. Plasminogen activation by receptor-bound urokinase: a kinetic study with both cell-associated and isolation receptor. *J Biol Chem* 1991; 266: 12752-12758.
115. De Clerck YA, Laug WE. Cooperation between matrix metalloproteinases and plasminogen activator-plasmin system in tumor progression. *Enzyme Protein* 1996; 49: 72-84.
116. Potempa J, Korzus E. The serpin superfamily of proteases inhibitor: Structure, function, and regulation. *J Biol Chem* 1994; 269: 15957-15960.
117. Laiho M, Saksela O, Andreasen PA. Enhanced production and extracellular deposition of the endothelial-type plasminogen activator inhibitor in cultured human lung fibroblast by transforming growth factor-?. *J Cell Biol* 1986; 103: 2403-2410.
118. Knudsen BS, Harpel PC. Plasminogen activator inhibitor is associated with the extracellular matrix of cultured bovine smooth muscle cells. *J Clin Invest* 1987; 80: 1082-1089.
119. Cubellis MV, Andreasen P, Ragno P. Accessibility of receptor-bound urokinase to type-1 plasminogen activator inhibitor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 4828-4832.
120. Kirchheimer JC, Remold HG. Functional characteristic of receptor-bound urokinase on human monocytes: catalytic efficiency and susceptibility to inactivation by plasminogen activator inhibitors. *Blood* 1989; 74: 1396-1402.
121. Ellis V, Wun TC, Behrendt N. Inhibition of receptor-bound urokinase by plasminogen activator inhibitors. *J Biol Chem* 1990; 265: 9904-9908.
122. Scott GK. Inhibition of plasminogen activators and the growth of cultured human tumor cells. *Int J Biochem* 1988; 20: 817-822.
123. Ciambrone GJ, McKeown-Longo PJ. Plasminogen activator inhibitor type 1 stabilizes vitronectine-dependent adhesions in HT-1080 cells. *J Cell Biol* 1990; 11: 2183-2195.
124. Andreasen PA, Georg B, Lund LR. Plasminogen activator inhibitors: hormonally regulated serpins. *Mol Cell Endocrinol* 1990; 68: 1-19.
125. Kristensen P, Pyke C, Lund LR. Plasminogen Activator inhibitor-type 1 in the Lewis lung carcinoma. *Histochemistry* 1990, 93: 559-566.
126. Janicke F, Schmitt M, Graeff H. Clinical relevance of urokinase type plasminogen activator and its type 1 inhibitor in breast cancer. *Semin Thromb Hemostasis* 1991; 17: 303-312.
127. Grondahl-Hanse J, Christense IJ, Rosenquist C. High levels of urokinase-type plasminogen activator and its inhibitor PAI-1 in cytosolic extracts of breast carcinomas are associated with poor prognosis. *Cancer Res* 1993; 53: 2513-2521.
128. Ito H, Yonemura Y. Prognostic relevance of urokinase type plasminogen activator (uPA) and plasminogen activator inhibitors PAI-1 and PAI-2 in gastric cancer. *Virchows Arch* 1996, 427: 487-496.
129. Schmitt M, Wilhelm O. Urokinase type plasminogen activator (uPA) and its receptor (CD87): A new target in tumor invasion and metastasis. *J Obstet Gynaecol* 1995; 21: 151-165.
130. Hasui Y, Marutsuka K, Nishi S. The content of urokinase-type plasminogen activator and tumor recurrence in superficial bladder cancer. *J Urol* 1994; 151: 16-20.
131. Gris JC, Schved JF, Marty-Double C, Mauboussin JM. Immunohistochemical study of tumor cell-associated plasminogen activator and plasminogen activator inhibitors in lung carcinomas. *Chest* 1991; 138: 111-117.
132. Nagayama M, Sato A, Hayakawa H. Plasminogen activators and their inhibitors in non-small cell lung cancer. *Cancer* 1994; 73: 1398-405.
133. Pappot H, Brunner N. The plasminogen activator system and its role in lung cancer. A review. *Lung Cancer* 1995; 12: 1-12.
134. Nekarda H, Siewrt R, Schmitt M. Tumor associated proteolytic factors uPA and PAI-1 and survival in totally resected gastric cancer. *Lancet* 1994; 343: 117-121.
135. Pedersen H, Grondhal-Hansen J, Francis D. Urokinase and plasminogen activator inhibitor type 1 in pulmonary adenocarcinoma. *Cancer Res* 1994; 54: 120-122.
136. Janicke F, Schmitt M, Graeff H. Clinical relevance of the urokinase-type and tissue-type plasminogen activator and their type 1 inhibitor in breast cancer. *Semin Thromb Hemostasis* 1991; 17: 303-312
137. Ballance DJ, Marshall JM, Cottingham IR. A hybrid protein of urokinase growth-factor domain and plasminogen activator inhibitor type 2 inhibits urokinase activity and binds to the urokinase receptor. *Eur J Biochem* 1992; 207: 177-185.
138. Schwartz BS. Differential inhibition of soluble and cell surface receptor-bound single-chain urokinase by plasminogen activator inhibitor type 2. A potential regulatory mechanism. *J Biol Chem* 1994; 269: 8319-8325.
139. Tamaki S, Ohno T, Kageyama S. Plasminogen activator and their inhibitors in leukemic cell homogenates. *Am J Hematol* 1993; 42: 166-74.
140. Jensen PH, Cressey LI, Gjertse BT. Cleaved intracellular plasminogen activator inhibitor-2 in human myeloid leukemia cells is a marker of apoptosis. *Br J Cancer* 199; 70: 834-840.
141. Gleeson NC, Gonsalves R, Bonnar J. The plasminogen activator inhibitor in endometrial adenocarcinoma. *Cancer* 1993; 72: 1670-1678.
142. Gleeson NC, Gonsalves R, Bonnar J. The plasminogen activator urokinase and its inhibitor PAI-2 in endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 1992; 47: 58-64.
143. Chamber SK, Gertz RE, Ivins CM. The significance of urokinase-type plasminogen activator, its inhibitor and its receptor in ascitis of patient with epithelial ovarian cancer. *Cancer* 1995; 75: 1627-1635.
144. Nakamura M, Konno H. Possible role of plasminogen activator inhibitor 2 in the prevention of the metastasis of gastric cancer tissue. *Thromb Res* 1992; 65: 709-719.

145. Takeuchi Y, Nakao A. Expression of plasminogen activators and their inhibitor in human pancreatic carcinoma: Immunohistochemical study. *Am J Gastroenterol* 1993; 88: 1928-1933.
146. Sugiura Y, Ma L, Sun B, Shimada H, Laug WE, Seiger RC, De Clerk YA. The plasminogen-plasminogen activator (PA) system in neuroblastoma: Role of PA-inhibitor in metastasis.
147. Baker MS, Bleakley P. Inhibition of cancer cell urokinase plasminogen activator by its specific inhibitor PAI-2 and subsequent effects on extracellular matrix degradation. *Cancer Res* 1990; 50: 4676-4684.
148. Reich R, Thompson EW. Effects of inhibitor of plasminogen activator, serine proteinases, and collagenase IV on the invasion of basement membranes by metastatic cells. *Cancer Res* 1988; 48: 3307-3312.
149. Shinfield MNF, Burnand K.G. The effect of recombinant plasminogen activator inhibitor 2 (PAI-2) on the growth of a human tumor cell line in vitro and in vivo. *Fibrinolysis* 1992; 6: 59-67.
150. Billstrom A, Lecander L. Differential expression of uPA in an aggressive (DU 145) and non aggressive (1013L) human prostate cancer xenograft. *Prostate* 1995; 26: 94-104.
151. Sloane BF, Honn KV. Cathepsin B activity in B16 melanoma cells: A possible marker for metastatic potential. *Cancer Res* 1982; 42: 980-986
152. Chinni SR, Falchetto B, Geral-Taylor C. Humoral immune responses to cathepsin D and glucose-regulated protein 78 in ovarian cancer patients. *Clin Cancer Res* 1997; 3 (9): 1557-1564.
153. Kobayashi H, Schitt M. Cathepsin B efficiently activates the soluble and the tumor cell receptor-bound form of the proenzyme urokinase-type plasminogen activator (pro-uPA). *J Biol Chem* 1991; 266: 5147-5152.
154. Falcon O, Cherino B, Leon L, Lopez-Bonilla A et al. Low levels of cathepsin D are associated with a poor prognostic in endometrial cancer. *Br J Cancer* 1999; 79 (3-4): 570-576.
155. Pietras RJ, Szego CM. Elevated serum cathepsin B1-like activity in women with neoplastic disease. *Gynecol Oncol* 1979; 7: 1-17.
156. Shuja S, Murnane MJ. Marker increases in cathepsin B and L activities distinguish papillary carcinoma of the thyroid with non-neoplastic disease. *Int J Cancer* 1996; 66: 420-426.
157. Van der Stappen JW, Williams AC. Activation of cathepsin B, secreted by a colo-rectal cell line requires low pH and is mediated by cathepsin D. *Int J Cancer* 1996; 67: 547-554.
158. Chauhan SS, Golstein LJ. Expression of cathepsin L in human tumors. *Cancer Res* 1991; 51: 1478-1481.
159. Goretzki L, Schmitt M. Effective activation of the proenzyme form of the urokinase-type plasminogen activator (pro-uPA) by cysteine protease cathepsin L. *FEBS Lett* 1992; 297: 112-118.
160. Joseph L J, Chang LC. Complete nucleotide and deduced amino acid sequences of human and murine preprocathepsin L. An abundant transcript induced by transformation of fibroblasts. *J Clin Invest* 1988; 81: 6121-6129.
161. Shuja S, Murnane MJ. Marked increases in cathepsin B and L activities distinguish papillary carcinoma of the thyroid from normal thyroid or thyroid with non-neoplastic disease. *Int J Cancer* 1996; 66: 420-426.
162. Foucre D, Bouchet C, Haceme N. Relationship between cathepsin D, urokinase, and plasminogen activator in malignant vs benign breast tumours. *Br J Cancer* 1991; 64: 926-932.
163. Rochefort H, Capony F. Cathepsin D: A protease involved in breast cancer metastasis. *Cancer Metastasis Rev.* 1990; 9: 321-331.
164. Rochefort H, Capony F. Estrogen-induced lysosomal proteases secreted by breast cancer cell: A role in carcinogenesis? *J Cell Biochem* 1987; 35: 17-19.
165. Losch A, Kohlberger J. Lysosomal protease cathepsin D is a prognostic marker in endometrial cancer. *Br J Cancer* 1996; 73: 1525-1528.
166. Kristensen GB, Holm R. Evaluation of the prognostic significance of cathepsin D, epidermal growth factor receptor, and c-erbB-2 in early cervical squamous cell carcinoma an immunohistochemical study. *Cancer* 1996; 78: 433-440.
167. Rochefort H. Cathepsin D in breast cancer: A tissue marker associated with metastasis. *Eur J Cancer* 1992; 28^º: 1780-1783.
168. Johnson MD, Torri JA. The role of cathepsin D in the invasiveness of human breast cancer cell. *Cancer Res* 1993; 53: 873-877.
169. Liaudet E, Derocq D. Transfected cathepsin D stimulates high density cancer cell growth by inactivating secreted growth inhibitors. *Cell Growth Differ* 1995; 6: 1045-1052.
170. Garcia M. Biological and clinical significance of cathepsin D in breast cancer metastasis. *Stem Cells* 1996; 14: 642-650.
171. Jiang WG, Puntis MC. Molecular and cellular basis of cancer invasion and metastasis: implications for treatment. *Br J Surg* 1994; 81: 1576-1590.
172. Jarvinen M, Rinne A. Human cystatins in normal and diseased tissues - a review. *Acta Histochem* 1987; 82: 5-18.
173. Jiang WG, Hallet MB. Hepatocyte growth factor/scatter factor, liver regeneration and cancer metastasis. *Br J Surgery* 1993; 80: 1368-1373.
174. Lah TT, Kokalj-Kunovar M. Cystatins and cathepsins in breast carcinoma. *Biol Chem Hoppe Seyler* 1992; 373: 595-604.
175. Lah TT, Kokalj-Kunovar M. Stefins and lysosomal cathepsins B, L, and D in human breast carcinoma. *Int J Cancer* 1992; 50: 36-44.
176. Sheahan K, Shuja S. Cysteine proteases activities and tumor development in human colorectal carcinoma. *Cancer Res* 1989; 49: 3809-3814.
177. Boike K, Lah T. A possible role for cysteine proteinase and its inhibitors in motility of malignant melanoma and other tumor cells. *J Cell Biol* 1992; 100: 327-332.
178. Eide TJ, Jarvinen M. Immunolocalization of cystatin A in neoplastic, virus and inflammatory lesions of the uterine cervix. *Acta Histochem* 1992; 93: 241-248.

Dirección para correspondencia:

Dra. Lourdes Rodríguez Fragoso
 Universidad Panamericana
 Escuela de Medicina
 Donatello núm. 59
 Col. Insurgentes Mixcoac
 03920 México, D.F.
 Tel: 5563-1343. Fax: 5611-3585
 E-mail: mlrodrig@mixcoac.upmx.mx