

DOI: 10.31793/1680-1466.2025.30-2.119

Matrix metalloproteinase-2 level in blood plasma, thyroid tumors and metastases

N.Ya. Kobrynska,
V.M. Pushkarev,
N.I. Levchuk,
O.I. Kovzun,
I.I. Komisarenko,
B.B. Guda,
M.D. Tronko

State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»

Abstract. The metastatic process involves the exit of cancer cells from the primary tumor, their transition into the transport system, colonization and proliferation in a distant organs. Cells acquire invasive properties through the formation of actin-based invadopodia, along with the secretion of matrix metalloproteinases (MMPs) that can degrade extracellular matrix proteins. **The aim:** to compare the levels of MMP type 2 (MMP-2) in samples of follicular adenoma, goiter, papillary thyroid carcinoma (PTC), metastases (Mts), and conditionally normal tissue. **Material and methods.** Postoperative samples of tissue and blood plasma, obtained from the surgical department of the Institute's clinic, were used for research. The amount of MMP-2 was determined using enzyme immunoassay kits. **Results.** The level of MMP-2 in the goiter tissue exceeded the levels in conditionally normal tissue by approximately 2 times. A similar ratio was observed in PTC tissues without Mts. The concentration of MMP-2 in the tumor tissue of the PTC with Mts was higher than in the conditionally normal tissue by more than 6 times. It is important to note that the level of MMP-2 in Mts did not differ from the goiter tissue and tumor tissue of the PTC without Mts. In blood plasma of patients with PTC without Mts, the concentration of the MMP-2 significantly exceeded its level in control plasma. The concentration of MMP-2 in the blood of patients with PTC and Mts was more than 5 times higher than in conditionally normal tissue and more than 2 times higher than in tumor tissue of PTC without Mts. **Conclusions.** Our data indicate significant differences in the concentration of MMP-2 between tumor tissues of PTC without and with Mts. It should be emphasized the fact that in the blood plasma the level of MMP-2 was also significantly higher in PTC patients with Mts than in healthy people and PTC patients without Mts. The latter circumstance can become the basis for the preoperative prognosis of the development of Mts in PTC patients.

Keywords: papillary thyroid carcinoma, metastasis, matrix metalloproteinase-2.

Metastases are the leading cause of death from malignant tumors. The process of metastasis involves the exit of cancer cells from the primary tumor, their transition into the blood or other transport system and, finally, colonization and proliferation in a distant organs [1-6].

Cells acquire invasive properties through the formation of actin-based protrusions known as invadopodia, along with the secretion of MMPs

that can degrade extracellular matrix proteins [7]. Membrane MMP-1, MMP-2, and MMP-9 have been shown to be involved in extracellular matrix degradation in invadopodia. MMP-2 and MMP-9 are particularly associated with invasion and metastasis because they are able to degrade type IV collagen, a major component of the basement membrane. MMP-2 is a zinc-dependent endopeptidase that functions to digest gelatin and

Оригінальні дослідження

various collagens and is involved in the development of many tumors [8-11].

One of the most important tasks facing endocrine surgery is the determination of reliable markers of metastasis in the treatment of PTC. Of particular value are markers that can be determined at the stage of preoperative research. MMP-2 can be one of these markers.

The aim of the study was to determine level of MMP-2 in postoperative samples of follicular adenoma, goiter, multinodular goiter, PTC, metastases, and conditionally normal tissue.

Material and methods

The research protocol was approved by the Ethics Committee of the SI «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the NAMS of Ukraine». All patients signed informed consent for further diagnostic and scientific research on their biomaterials.

Postoperative samples of follicular adenoma, 2 types of goiter, PTC, metastases, and conditionally normal (non-tumor or morphologically unchanged tissue) tissue, obtained from the surgical department of the Institute's clinic, were used for research. Blood plasma were also analyzed. Blood was obtained by standard venipuncture and stored in EDTA tubes. Plasma was separated by centrifugation within 10 minutes after blood sampling. The concentration of protein in cell lysates was determined according to [12]. Blood controls were taken from healthy individuals without thyroid and comorbid diseases.

Samples were stored at -80°C until use. The amount of MMP-2 was determined using enzyme immunoassay kits EH0017 (FineTest®, China). Measurements were performed at an optical wavelength of 450/630 nm on an immunoenzymatic plate analyzer Stat Fax 3200 (Awareness Technology, USA).

Patients with PTC, PTC+Mts, follicular adenoma and goiters (89 samples in total) participated in the study. Group 1 included 8 samples with follicular adenoma, group 2 included 8 samples with nodular goiter, group 3 included 8 samples with multinodular goiter, groups 4 included 12 samples with PTC without Mts, group 5 included 24 samples with PTC and Mts. The concentration of MMP-2 in plasma of 9 patients with PTC without Mts and 10 patients with

PTC and Mts was also determined. Plasma from 4 individuals without thyroid disease and other chronic diseases, representative for age, was used as a control.

Statistical analysis and data presentation were performed using Origin 7.0 software. The results of the study are presented as $M \pm SE$. Student's *t*-test was used to compare data groups. Values of $p < 0.05$ were considered significant.

Results and discussion

The Fig. 1 presents the results of the MMP-2 detection in the postoperative tissue of patients with PTC, follicular adenoma and goiter. No significant differences were observed between the concentration of MMP-2 in adenoma tissue and in the corresponding conditionally normal tissue. The level of MMP-2 in the tissue of nodular and multinodular goiter exceeded the levels in conditionally normal tissue by approximately 2 times. A similar ratio was observed in PTC tissues without Mts. At the same time, the concentration of MMP-2 in the tumor tissue of the PTC with Mts was higher than in the conditionally normal tissue by more than 6 times. It is important to note that the level of MMP-2 in Mts did not differ from the goiter tissue and tumor tissue of the PTC without Mts (fig. 1).

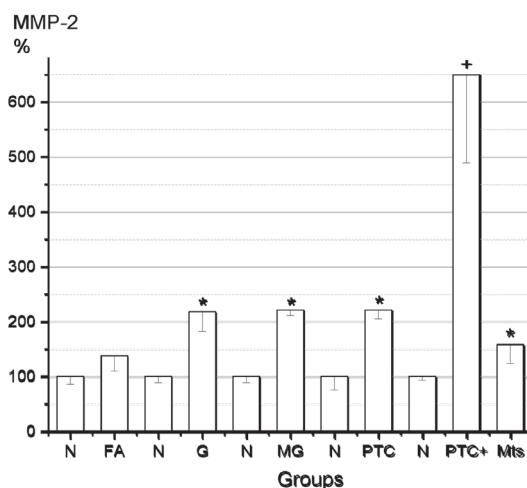


Fig. 1. MMP-2 quantity in the thyroid tissue of patients with PTC, follicular adenoma and goiter.

Note. N – conditionally normal (histologically unchanged) tissue; FA – follicular adenoma, G – nodular goiter, MG – multinodular goiter, PTC – tumor tissue, PTC+ – tumor tissue with Mts, Mts – metastases tissue. In each group, N was taken as 100%. * – significantly different from conditionally normal tissue, $p < 0.05$; + – significantly different from all other samples, $p < 0.05$.

In blood plasma of patients with PTC without Mts, the concentration of the MMP-2 significantly (~1.8 times) exceeded its level in control plasma (**Fig. 2**), whereas the concentration of MMP-2 in the blood of patients with PTC and Mts was more than 5 times higher than in of conditionally normal tissue and more than 2 times higher than in tumor tissue of PTC without Mts.

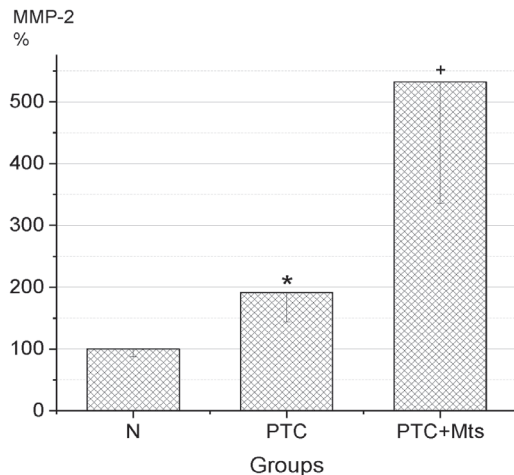


Fig. 2. MMP-2 quantity in the blood plasma of patients with PTC.

Note. * – significantly different from control samples, $p < 0.05$; + – significantly different from PTC samples.

An urgent task facing surgeons in the treatment of PTC is the search for specific markers of Mts. The number of such markers is already several dozen, but it is still difficult to determine whether Mts will form in thyroid carcinomas, as well as to predict the development of radioiodine resistance of Mts. According to our data, proliferating cell nuclear antigen [13, 14] and the expression of a rare isoform of ribosomal kinase S6K – p60S6K [15] are markers that can indicate the aggressiveness and metastatic potential of thyroid tumors. Other authors have shown that MMP-2 expression are closely related to PTC progression and invasion [9, 16-18].

Conclusions

1. Data obtained indicate significant differences (almost by 3 times) in the concentration of MMP-2 between tumor tissues of PTC without and tissues of PTC with metastasis.
2. The level of MMP-2 in Mts was significantly lower than in tumor tissue.

3. The level of MMP-2 in the blood plasma was significantly higher in patients with PTC and Mts than in healthy people and PTC patients without Mts.
4. The latter circumstance can become the basis for the preoperative prognosis of the development of Mts in PTC patients.

References

1. Nieto MA, Huang RY, Jackson RA, Thiery JP. EMT: 2016. Cell. 2016 Jun 30;166(1):21-45. doi: 10.1016/j.cell.2016.06.028.
2. Welch DR, Hurst DR. Defining the hallmarks of metastasis. Cancer Res. 2019;79(12):3011-27.
3. Зінич ПП, Пушкар'єв ВМ, Болгов МЮ, Гуда ББ, Пушкар'єв ВВ. Молекулярні механізми утворення метастазів. Маркери метастазування при карциномах щитоподібної залози (огляд літератури). Ендокринологія. 2020;25(3):249-64 (Zinich PP, Pushkarev VM, Bolgov MYu, Guda BB, Pushkarev VV. Molecular mechanisms of the formation of metastases. Markers of metastasis in thyroid carcinoma (review literary). Endokrynologia. 2020;25(3):249-64. Ukrainian). doi: 10.31793/1680-1466.2020.25-3.227.
4. Varun BR, Ramani P, Arya I, Palani J, Joseph AP. Epithelial-mesenchymal transition in cancer stem cells: Therapeutic implications. J Oral Maxillofac Pathol 2023;27:359-63. doi: 10.4103/jomfp.jomfp_308_22.
5. Кобринська НЯ, Пушкар'єв ВМ, Левчук НІ, Ковзун ОІ, Комісаренко ІІ, Тронько МД. Механізми та маркери метастазування при карциномах щитоподібної залози. Огляд літератури та власних даних (частина 1). Ендокринологія. 2024;29(3):283-93 (Kobrynska NYa, Pushkarev VM, Levchuk NI, Kovzun OI, Komisarenko II, Tronko MD. Mechanisms and markers of thyroid cancer metastasis. Review of literature and own data (part 1). Endokrynologia. 2024;29(3):283-93. Ukrainian). doi: 10.31793/1680-1466.2024.29-3.283.
6. Кобринська НЯ, Пушкар'єв ВМ, Левчук НІ, Ковзун ОІ, Комісаренко ІІ, Тронько МД. Механізми та маркери метастазування при карциномах щитоподібної залози. Огляд літератури та власних даних (частина 2). Ендокринологія. 2024;29(4):372-9 (Kobrynska NYa, Pushkarev VM, Levchuk NI, Kovzun OI, Komisarenko II, Tronko MD. Mechanisms and markers of thyroid cancer metastasis. Review of literature and own data (part 2). Endokrynologia. 2024;29(4):372-79. Ukrainian). doi: 10.31793/1680-1466.2024.29-4.372.
7. Ortiz MA, Mikhailova T, Li X, Porter BA, Bah A, Kotula L. Src family kinases, adaptor proteins and the actin cytoskeleton in epithelial-to-mesenchymal transition. Cell Commun Signal. 2021 Jun 30;19(1):67. doi: 10.1186/s12964-021-00750-x.
8. Jabłońska-Trypuć A, Matejczyk M, Rosochacki S. Matrix metalloproteinases (MMPs), the main extracellular matrix (ECM) enzymes in collagen degradation, as a target for anti-cancer drugs. J Enzyme Inhib Med Chem. 2016;31(sup1):177-83. doi: 10.3109/14756366.2016.1161620.
9. Wang W, Chang J, Jia B, Liu J. The blood biomarkers of thyroid cancer. Cancer Manag Res. 2020 Jul 6;12:5431-8. doi: 10.2147/CMAR.S261170.
10. Mustafa S, Koran S, AlOmair L. Insights into the role of matrix metalloproteinases in cancer and its various therapeutic aspects: a review. Front Mol Biosci. 2022 Sep 29;9:896099. doi: 10.3389/fmolb.2022.896099.
11. Reddy RA, Varshini MS, Kumar RS. Matrix Metalloproteinase-2 (MMP-2): as an essential factor in cancer progression. Recent Pat Anticancer Drug Discov. 2025;20(1):26-44. doi: 10.2174/0115748928251754230922095544.
12. Bradford MM. A rapid and sensitive methods for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem. 1976;72(1):248-54.

Оригінальні дослідження

13. Гуда ББ, Пушкар'єв ВВ, Журавель ОВ, Коваленко АЄ, Пушкар'єв ВМ, Журнаджи ЛЮ, та ін. Експресія ядерного антигену проліферуючих клітин (PCNA) в нормальних тканинах, доброякісних та високодиференційованих злоякісних (з наявністю метастатичного ураження та без метастазів) пухлинах щитоподібної залози людини. Допов Нац акад наук Укр. 2015;(10):94-8 (Guda BB, Pushkarev VV, Zhuravel OV, Kovalenko AY, Pushkarev VM, Zurnadzhi LY, et al. Proliferating cells nuclear antigen (PCNA) expression in normal tissues, benign and malignant (metastatic and not metastatic) differentiated human thyroid tumors. *Dopov Nac Akad Nauk Ukr.* 2015;(10):94-8. Ukrainian). doi: 10.15407/dopovidi2015.10.093.
14. Guda BB, Pushkarev VM, Pushkarev VV, Kovalenko AY, Taraschenko YM, Kovzun OI, et al. The expression and activation of extracellular signal-regulated kinase-1/2 and proliferating cell nuclear antigen content in normal tissue and human thyroid tumors. *SM J Endocrinol Metab.* 2015;1(1):1002.
15. Garifulin OM, Filonenko VV, Bdzhola AV, Pushkarev VV, Zinich PP, Pushkarev VM, et al. Expression of ribosomal protein S6 kinase (S6K1) isoforms in different types of papillary thyroid carcinoma. *Cytol Genet.* 2023;57(4):305-311. doi: 10.3103/S0095452723040059.
16. Niciporuka R, Nazarovs J, Ozolins A, Narbutis Z, Miklasevics E, Gardovskis J. Can we predict differentiated thyroid cancer behavior? Role of genetic and molecular markers. *Medicina (Kaunas).* 2021 Oct 19;57(10):1131. doi: 10.3390/medicina57101131.
17. Pan Q, Yuan T, Ding Q. Clinical value of matrix metalloproteinase-2 and -9 in ultrasound-guided radiofrequency ablation treatment for papillary thyroid carcinoma. *J Int Med Res.* 2020 Aug;48(8):300060520917581. doi: 10.1177/0300060520917581.
18. Zhang WJ, Song B, Yang T. MMP-2, MMP-9, TIMP-1, and TIMP-2 in the peripheral blood of patients with differentiated thyroid carcinoma. *Cancer Manag Res.* 2019 Dec 23;11:10675-81. doi: 10.2147/CMAR.S233776.

Abbreviations

MMPs – matrix metalloproteinases

MMP-2 – MMP type 2

Mts – metastases

PTC – papillary thyroid carcinoma

Рівень матричної металопротеїнази-2 у плазмі крові, пухлинах та метастазах щитоподібної залози

Н.Я. Кобринська, В.М. Пушкар'єв, Н.І. Левчук, О.І. Ковзун, І.І. Комісаренко, Б.Б. Гуда, М.Д. Тронько
ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України»

Резюме. Метастатичний процес передбачає вихід ракових клітин з первинної пухлини, перехід їх у транспортну систему, колонізацію і проліферацію у віддалених органах. Клітини набувають інвазивних властивостей через утворення інвадоподій на основі актину разом із секрецією матричних металопротеїназ (ММР), які можуть руйнувати білки позаклітинного матриксу (ЕСМ). **Мета.** Метою дослідження було порівняння рівнів ММР-2 у зразках фолікулярної аденоми, зоба, папілярної карциноми щитоподібної залози (РТС), метастазів та умовно нормальної тканини. **Матеріал і методи.** Для досліджень використовували післяопераційні

зразки тканин і плазму крові, отримані з хірургічного відділення клініки Інституту. Кількість ММР-2 визначали за допомогою наборів для імуноферментного аналізу. **Результати.** Рівень ММР-2 у тканині зобу перевищував рівень умовно нормальної тканини приблизно у 2 рази. Подібне співвідношення спостерігалось і в тканинах РТС без метастазів. Концентрація ММР-2 в пухлинній тканині РТС з метастазами була вищою, ніж в умовно нормальної тканині більш ніж у 6 разів. Важливо відзначити, що рівень ММР-2 у метастазах не відрізнявся від тканини зоба та пухлинної тканини РТС без метастазів. У плазмі крові хворих на РТС без метастазів концентрація ММР-2 значно перевищувала рівень у контрольній плазмі. Концентрація ММР-2 у крові пацієнтів із РТС і метастазами була більш ніж у 5 разів вищою, ніж в умовно нормальної тканині, і більш ніж у 2 рази вищою, ніж у пухлинній тканині РТС без метастазів. **Висновки.** Отримані нами дані свідчать про суттєві відмінності концентрації ММР-2 між пухлинними тканинами РТС без та з метастазами. Слід підкреслити той факт, що в плазмі крові рівень ММР-2 також був достовірно вищим у хворих на РТС з метастазами, ніж у здорових людей і хворих на РТС без метастазів. Остання обставина може стати основою для передопераційного прогнозу розвитку метастазів у хворих на РТС.

Ключові слова: папілярна карцинома щитоподібної залози, метастази, матрична металопротеїназа-2.

For citation: Kobrynska NYa, Pushkarev VM, Levchuk NI, Kovzun OI, Komisarenko II, Guda BB, Tronko MD. Matrix metalloproteinase-2 level in blood plasma, thyroid tumors and metastases. *Endokrynologia.* 2025;30(2):119-123. DOI: 10.31793/1680-1466.2025.30-2.119.

Correspondence address: Pushkarev Volodymyr Mykhaylovych, pushkarev.vm@gmail.com. State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the NAMS of Ukraine», 69, Vyshgorodska Str., Kyiv 04114, Ukraine.

Information about the authors: Kobrynska Nataliya Yaremivna, Cand. Sci. (Medicine), Head of the Consulting Polyclinic Department, ORCID: 0000-0001-8698-9793; Pushkarev Volodymyr Mykhaylovych, Dr. Sci. (Biology), Senior Research Fellow, Chief Researcher of the Department of Fundamental and Applied Problems of Endocrinology, ORCID: 0000-0003-0347-7771; Levchuk Nataliia Ivanivna, Cand. Sci. (Biology), Senior Scientist, Leading Research Fellow of the Department of Fundamental and Applied Problems of Endocrinology, ORCID: 0000-0003-0482-5176; Kovzun Olena Ihorivna, Dr. Sci. (Biology), Prof., Corresponding Member of the NAMS of Ukraine, Deputy Director of the Institute for Scientific Affairs, ORCID: 0000-0002-6906-6636; Komisarenko Ihor Ihorovych, Researcher of the Department of Orphan Endocrine Diseases and Endocrine Surgery, ORCID: 0000-0002-1808-667X; Guda Bohdan Bohdanovych, Dr. Sci. (Medicine), Head of the Scientific and Practical Department of Orphan Endocrine Diseases and Endocrine Surgery, ORCID: 0000-0002-9181-0679; Tronko Mykola Dmytrovych, Dr. Sci. (Medicine), Prof., Corresponding Member of NAS of Ukraine, Academician of NAMS of Ukraine, Head of the Department of Fundamental and Applied Problems of Endocrinology, Director of the Institute, ORCID: 0000-0001-7421-0981.

Personal contribution: Kobrynska N.Ya., Komisarenko I.I., Guda B.B. – collection of tumor tissues; Kobrynska N.Ya., Pushkarev V.M., Levchuk N.I. – conducting experiments; data analysis, writing the text; Kovzun O.I. – analysis of literary sources, editing the text;

Tronko M.D. – the idea of work and consultation during the editing of the article.

Funding: the article was prepared within the budget funding according to the plan of research work of the SI «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the NAMS of Ukraine».

Declaration of ethics: the authors have declared no conflicts of interest or financial obligations.

Article: received April 03, 2025; revised May 12, 2025; accepted June 27, 2025; published June 30, 2025.

Для цитування: Кобринська НЯ, Пушкарьов ВМ, Левчук НІ, Ковзун ОІ, Комісаренко ІІ, Гуда ББ, Тронько МД. Рівень матричної металопротеїнази-2 у плазмі крові, пухлинах та метастазах щитоподібної залози. *Ендокринологія*. 2025;30(2):119-123. DOI: 10.31793/1680-1466.2025.30-2.119.

Адреса для листування: Пушкарьов Володимир Михайлович, pushkarev.vt@gmail.com; ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», вул. Вишгородська, 69, Київ 04114, Україна.

Відомості про авторів: Кобринська Наталія Яремівна, канд. мед. наук, завідувачка консультативно-поліклінічного відділення, ORCID: 0000-0001-8698-9793; Пушкарьов Володимир Михайлович, д-р біол. наук, старш. наук. співроб., головний науковий співробітник відділу фундаментальних та прикладних проблем ендокринології, ORCID: 0000-0003-0347-7771; Левчук Наталія Іванівна, канд. біол. наук, старш. наук. співроб., провідна наукова співробітниця відділу фундаментальних та прикладних про-

blem ендокринології, ORCID: 0000-0003-0482-5176; Ковзун Олена Ігорівна, д-р біол. наук, проф., чл.-кор. НАМН України, заступниця директора Інституту з наукових питань, ORCID: 0000-0002-6906-6636; Комісаренко Ігор Ігорьович, науковий співробітник відділу ендокринних орфанних захворювань та ендокринної хірургії, ORCID: 0000-0002-1808-667X; Гуда Богдан Богданович – д-р мед. наук, керівник науково-практичного відділу орфанних ендокринних захворювань та ендокринної хірургії, ORCID: 0000-0002-9181-0679; Тронько Микола Дмитрович, д-р мед. наук, чл.-кор. НАН України, акад. НАМН України, завідувач відділу фундаментальних та прикладних проблем ендокринології, в.о. директора Інституту, ORCID: 0000-0001-7421-0981.

Особистий внесок: Кобринська Н.Я., Комісаренко І.І., Гуда Б.Б. – збір зразків пухлинної тканини; Кобринська Н.Я., Пушкарьов В.М., Левчук Н.І. – проведення експериментів; аналіз даних, аналіз літературних джерел, написання тексту; Ковзун О.І. – редагування тексту; Тронько М.Д. – ідея роботи й консультації під час редагування статті.

Фінансування: стаття підготовлена в рамках бюджетного фінансування за планом науково-дослідних робіт ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України».

Декларація з етики: автори задекларували відсутність конфлікту інтересів і фінансових зобов'язань.

Стаття: надійшла до редакції 04.03.2025 р.; перероблена 12.05.2025 р.; прийнята до друку 27.06.2025 р.; надрукована 30.06.2025 р.