Archive of SID

مقاله‌ی پژوهشی

دانش و تندرستی، دوره ۳، شماره ۳ و ۴، پاییز و زمستان ۱۳۸۷
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شاهرود

# اندازه‌گیری میزان بیان ژن MMP-9 برای ارزیابی بهبودی بیماران مبتلا به سرطان پستان

مرتضی صادقی[۱*] (M.Sc.)، دکتر سیمین همتی[۲] (M.D.)

۱- ، دانشگاه اصفهان- دانشکده علوم- بخش ژنتیک. ۲- دانشگاه علوم پزشکی اصفهان- دانشکده پزشکی- استادیار گروه رادیولوژی و انکولوژی.

**تاریخ دریافت:** ۸۷/۹/۹، **تاریخ پذیرش:** ۸۷/۱۰/۴

## چکیده

***مقدمه:*** *ماتریکس متالو پروتئینازها-۹ (MMP-9) آنزیمی با فعالیت پروتئازی است که تاکنون عملکرد آن در ایجاد چندین سرطان گزارش شده است. با توجه به رابطه مقدار فعال این آنزیم و سرطانی شدن سلول‌ها در این مطالعه ما به بررسی میزان پلاسمایی این آنزیم در بهبود یا پیشرفت و متاستاز بیماری سرطان پستان پرداختیم.*

***مواد و روش‌ها:*** *در این مطالعه میزان بیان MMP-9 در پلاسمای نمونه خون گرفته شده از ۹۸ بیمار دارای سرطان پستان در دو مرحله تشخیص بیماری و بعد از درمان از طریق زیموگرافی کمی ژلاتین (Gelatin quantitative zymography) بررسی شد.*

***نتایج:*** *از کل ۸۰ بیماری که به درمان پاسخ مثبت نشان دادند در ۷۶ نفر غلظت پلاسمایی MMP-9 فعال بعد از درمان کاهش محسوسی نسبت به زمان تشخیص بیماری نشان داد و در ۴ نفر از این بیماران هیچ تغییر در میزان MMP-9 پلاسمایی قبل و بعد از درمان مشاهده نشد. هم‌چنین در ۱۸ نفر از بیماران که عود مجدد بیماری را نشان دادند (۶ نفر سرطان پستان اولیه و ۱۲ نفر متاستاز به دیگر نواحی) این میزان نسبت به قبل از درمان افزایش یافته بود.*

***نتیجه‌گیری:*** *یافته‌های ما نشان‌دهنده وجود ارتباط بسیار مثبت بین سطح پلاسمایی این آنزیم و بهبود یا بدخیمی سرطان پستان در گروه مورد مطالعه است و طبق یافته‌های ما میزان MMP-9 فعال پلاسمایی می‌تواند به‌عنوان عاملی سودمند برای بررسی وضعیت پاسخ بیماران سرطان پستان به درمان، مورد استفاده قرار گیرد.*

**واژه‌های کلیدی:** بیان MMP-9، پیشرفت تومور، سرطان پستان.

**Original Article** **Knowledge & Health 2008;3(3-4):20-24**

# Measurement of MMP-9 Expression Level for Treatment Assessment in Breast Cancer Patients

**Morteza Sadeghi[1*], Simin Hemmati[2]**

1- M.Sc., Dept. of Genetics, Isfahan University, Isfahan, Iran. 2- Assistant Professor, Dept. of Radiology & Oncology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

## Abstract:

***Introduction:*** *MMP-9 (matrix metalloproteinase-9) is an enzyme with protease activity the performance of which in creating several cancers has been reported up to now. With respect to the relationship between the active form of this enzyme and occurrence of cancer, in the present study, we decided to assay the plasma level of this enzyme in recuperating or aggravating and metastasis of the breast cancer.*
***Methods:*** *In this study, MMP-9 activity was measured by gelatin quantitative zymography in the euglobulin plasma of 98 patients in two steps of diagnosis and after treatment of cancer.*
***Results:*** *From the 80 patients with positive response to treatment, in 76 persons, the MMP-9 significantly decreased after treatment compared to the time of diagnosis. Whereas in 4 patients, the MMP-9 plasma level did not show any change before and after the treatment. Also in 18 patients with recurrence, (6 persons with early breast cancer and 12 persons with metastasis to other tissues) this enzyme level increased, compared with the time of diagnosis.*
***Conclusion:*** *Our results show a positive correlation between plasma MMP-9 activity and the treatment or metastasis to the other tissues. According to our findings, plasma MMP-9 level can be used as a useful factor for investigating the reaction status of breast cancer patients to the treatment.*

**Keywords:** Plasma MMP-9 level, Tumor progression, Breast cancer.

Received: 29 November 2008 Accepted: 24 December 2008

***Corresponding author:** M. Sadeghi**, Email:** m.sadeghi@biol.ui.ac.ir*

***نویسنده مسوول:** اصفهان- دانشگاه اصفهان- دانشکده علوم- گروه زیست شناسی- بخش ژنتیک. **تلفن:** ۰۹۱۳۲۳۰۹۷۱۸، **نمابر:** ، **E-mail:** m.sadeghi@biol.ui.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID



## مقدمه

سرطان بیماری بسیار پیچیده‌ای است که اغلب با به هم خوردن و از تنظیم خارج شدن تنظیمات هموستاتیک داخل سلولی و بین سلولی شروع می‌شود در مراحل بعدی و پیشرفته شدن سرطان و متاستاز دادن آن علاوه بر به هم خورن این مسیرهای مولکولی، هضم ترکیبات ماتریکس سلولی و بر هم‌کنش سلول مهاجم با بافت هدف برای جایگزینی آن و متاستاز به بافت جدید لازم است (۱). پیشرفت سرطان به‌طور بسیار شدیدی بقاء بیمار را به خطر می‌اندازد و استراتژی‌های درمانی را با شکست مواجه می‌کند. برای تهاجم سلول‌های سرطانی اپیتلیال باید به داخل بافت پایه (Basement membrane) نفوذ کنند و سد ماتریکس خارج سلولی (Extracellular matrix) را از بین ببرند. در این مرحله آنزیم‌های پروتئاز دارای نقش بسیار مهمی هستند که با هضم ماتریکس خارج سلولی و ترکیبات آن باعث تسهیل متاستاز دادن سلول-های سرطانی به بافت‌های دیگر می‌شوند (۱). تاکنون به خوبی روشن شده است که سلول‌های توموری نسبت به سلول‌های سالم میزان پروتئاز بیش‌تری تولید می‌کنند و ارتباط مثبت بین میزان تهاجم سلول‌ها و سطح پروتئاز آن‌ها هم در مدل‌های تومور آزمایشگاهی و هم در تومورهای بالینی انسانی ثابت شده است (۲ و ۳). نقش کلی پروتئازها و به خصوص ماتریکس متالوپروتئینازها (MMPs) در متاستاز و تهاجم سلول‌های توموری کاملاً اثبات شده و مشخص شده که این آنزیم‌ها با تسهیل کردن شکستن اتصالات بافت پیوندی (Connective tissue) و هضم ترکیبات ماتریکس خارج سلولی به این فرآیند کمک می‌کنند (۳، ۴، ۵ و ۶). ماتریکس متالو پروتئینازها خانواده‌ای از آنزیم‌های پروتئولیک هستند که در هضم بسیاری از ترکیبات ماتریکس خارج سلولی و بافت غشاء پایه ایفای نقش می‌کنند و از این لحاظ در فرآیندهای فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی دارای اهمیت هستند. از بین این گروه MMP-9 (Matrix metalloproteinase-9) تنها عضو این خانواده است که به خاطر دارا بودن ساختار ۳ تائی فیبرونکتین قادر به اتصال و هضم کلاژن به‌عنوان مهم-ترین ترکیب غشاء پایه است و از این نظر تغییرات بیانی این ژن می‌تواند در سرطانی شدن سلول‌ها و تغییر رفتار آن‌ها دارای عملکردهای مهمی باشد ( ۷، ۸ و ۹).

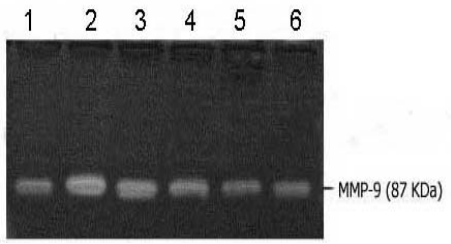
افزایش غلظت پلاسمایی MMP-9 در انواعی از تومورهای بدخیم مانند سرطان پستان، سرطان کولون، سرطان ریه، سرطان‌های سر و گردن، کارسینومای هپاتوسل‌ها و سرطان معده مشاهده شده است (۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۴، ۱۵ و ۱۶). در تحقیقات قبلی ما گزارش کردیم که وجود الل T که با بیان این ژن در ارتباط است باعث افزایش شروع سرطان پستان می‌شود (۱۷). با توجه به اهمیت موضوع، در این مطالعه به بررسی میزان بیان ژن MMP-9 به‌عنوان عاملی برای اطلاع از وضعیت پاسخ بیماران مبتلا به سرطان پستان به درمان پرداخته‌ایم. در این راستا میزان این آنزیم را در بیماران سرطانی قبل و بعد از درمان مقایسه نموده‌ایم.

## مواد و روش‌ها

در این مطالعه ۹۸ بیمار زن با تشخیص وجود سرطان پستان مورد مطالعه قرار گرفتندکه از هر فرد مورد مطالعه، مقدار ۳ میلی‌لیتر خون وریدی در مرحله اولیه تشخیص بیماری (S1) ، ۳ میلی‌لیتر بعد از درمان یا جراحی (S2) و ۳ میلی‌لیتر در طول دوره بعدی درمان (S3) گرفته شد و برای استخراج پلاسما در لوله‌های فاقد مواد ضد انعقاد نگهداری شد. برای استخراج پلاسما تیوپ حاوی نمونه خون نیم ساعت بعد از لخته شدن خون با دور g ۱۶۰ برای ۱۲ دقیقه سانتریفیوژ شد و لخته خون دور ریخته شد و پلاسمای تهیه شده از هر فرد تا زمان مطالعه در ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای تهیه یوگلوبین (Euglobulin)، ۰/۱ میلی-لیتر پلاسما با ۰/۹ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر مخلوط شد و با استفاده از استیک اسید یک درصد pH آن به ۵/۵ رسانده شد و سپس این مخلوط برای یک دقیقه در صفر درجه نگهداری شد و ۱۰ دقیقه با دور g ۱۲۰۰ سانتریفیوژ شد. یوگلوبین حاصل در یک میلی‌لیتر محلول بافر فسفات سالین دارای pH ۷/۴ حل شد.

در این مطالعه بیماران ۲۴ ماه تحت بررسی بودند در این مدت وضعیت توموری آن‌ها بررسی شد و هم‌چنین در زمان شروع این مطالعه هیچ کدام از افراد درمان خاصی را شروع نکرده بودند. زیموگرافی ژلاتین جهت مشاهده میزان MMP-9 پلاسمایی فعال به روش زیر صورت گرفت:

ژل اکریلامید ۱۰ درصد به‌طور همزمان با ۱ درصد ژلاتین (Sigma) به-عنوان سوبسترا پلی‌مر شد و از پلاسمای هر نمونه ۲۵ میکرولیتر در هر چاهک ژل لود شد و الکتروفورز با ولتاژ ۱۵۰ ولت تا زمان رسیدن رنگ لودینگ بافر به ته ژل صورت گرفت بعد از اتمام الکتروفورز ژل برای مدت یک ساعت در بافر رناچوراسیون شامل (2.5% Triton X-100 in 50 mM Tris–HCl (pH 7.5)) در دمای آزمایشگاه انکوبه گردید و سپس ژل به مدت ۱۶ ساعت در دمای ۳۷ درجه در بافر زیر با pH=۷/۵ انکوبه گردید.




**شکل ۱- ژیموگرام ژلاتین پلاسمای ٦ بیمار که به‌طور تصادفی انتخاب شده‌اند (بیماران ۲،۳و ٤ از مرحله S1 و بیماران ۱، ٥ و ٦ از مرحله S2 ).**



www.SID.ir

Archive of SID



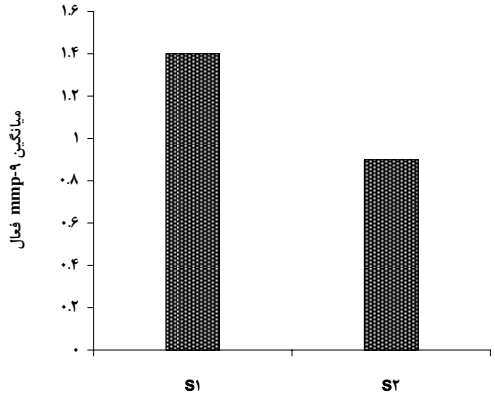
(0.15 M NaCl, 10 mM CaCl2, 0.02% NaN3 in 50 mM Tris–HCl) و نهایتاً ژل با کوماسی بولو ۰/۰۵ درصد رنگ‌آمیزی و با متانول ۳۰٪ و استیک اسید ۱۰٪ شستشو شد. ناحیه حاصل MMP-9 فعال به ترتیب در منطقه ۸۷ کیلو دالتن با استفاده از مارکر قابل شناسائی است (۱۸ و ۲۸) (شکل ۱).

میزان فعالیت پلاسمایی استاندارد MMP-9 با اسکن باندهای حاصل توسط اسکنر(Epson GT-9500 scanner) و آنالیز توسط نرم‌افزار Scan Pack 3.0 (Biometra) تعیین شد.

در شکل ۱ زیموگرام ژلاتین پلاسمای ۶ بیمار که به‌صورت تصادفی انتخاب شده اند نمایش داده شده است. میزان شارپ بودن هر باند نشانگر میزان MMP-9 فعال موجود در پلاسمای آن فرد است.

## نتایج

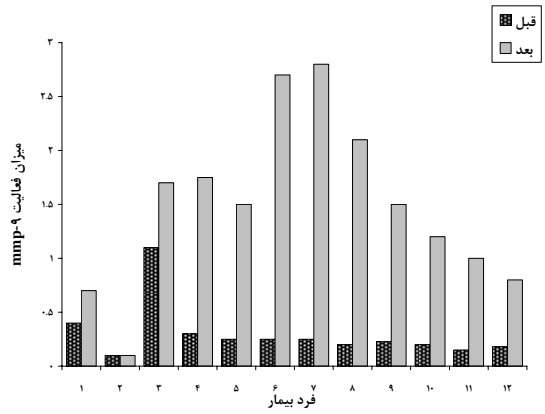
میزان MMP-9 پلاسمایی فعال این بیماران قبل و بعد از درمان و جراحی اندازه گیری شد. از بین ۹۸ بیمار مورد مطالعه ۷۸ نفر تحت جراحی قرار گرفتند (۶۲ نفر جراحی مستقیم و ۱۶ نفر جراحی بعد از شیمی درمانی) میزان بیان MMP-9 پلاسمایی خون گرفته شده این بیماران در زمان بعد از عمل جراحی (S2) با میزان MMP-9 خون گرفته شده در قبل از عمل جراحی (S1) از طریق زیموگرافی مقایسه شد (نمودار ۱). میزان MMP-9 فعال در ۷۴ نفر از این افراد در خون زمان S2 حدود ۵۰ درصد نسبت به میزان خون زمان S1 کاهش یافته بود و در چهار بیمار رو به بهبود، هیچ تفاوتی در میزان قبل و بعد از درمان مشاهده نشد.




**نمودار ۱- مقایسه MMP-9 فعال پلاسمایی قبل و بعد از درمان (S1 میزان فعالیت MMP-9 درخون گرفته شده قبل از درمان و S2 میزان فعالیت آنزیم در خون همان افراد در زمان بعد از درمان).**

بعد از زمان S2 ما هر شش ماه از بیماران خونگیری کردیم (S3) و میزان MMP-9 فعال را در این بیماران که تحت درمان دارویی بودند، اندازه گرفتیم. به‌طور بسیار جالبی میزان این آنزیم در ۱۸ بیماری که عود مجدد بیماری در آن‌ها مشاهده شد، نسبت به بعد از درمان افزایش یافته بود که از این بیماران، ۱۲ نفر دارای متاستاز به دیگر نواحی و شش نفر عود مجدد سرطان پستان اولیه داشتند (متاستاز این بیماران توسط تست اشعه X ، اسکن استخوان‌ها و اولتراسونوگرافی کبد توسط پزشک مشخص شد).

میزان فعالیت پلاسمایی MMP-9، در ۱۲ فرد بیمار که بعد از درمان پیشروی مجدد سرطان و متاستاز در آن‌ها مشخص شد در نمودار ۲ ارایه شده است. نمودار S1 نشان‌گر میزان فعالیت این آنزیم در خون گرفته شده از این افراد در هنگام تشخیص اولیه بیماری و S2 نشان‌گر این میزان در خون گرفته شده همان افراد بعد از درمان است. میزان فعالیت آنزیم در پلاسمای این بیماران در مرحله S2 نسبت به مرحله S1 حدود ۱/۵ واحد آنزیم در هر میلی‌لیتر پلاسما (1.5 AU/ml plasma) افزایش یافته بود.




**نمودار ۲- فعالیت پلاسمایی MMP-9 در ۱۲ بیمار با پیشروی مجدد سرطان و متاستاز قبل و بعد از شروع درمان**

## بحث

سرطان پستان بدترین بدخیمی زنان است که هر ساله بیش‌تر آمار مرگ ناشی از سرطان زنان را به خود اختصاص می‌دهد (جز بعضی کشورها که سرطان ریه اولین عامل است) (۲۰). تومورهای این بیماری در بسیاری از موارد بعد از شروع مرحله اول درمان تغییر رفتار می‌دهند و حتی با جراحی کامل نمی‌توان ادعا کرد که دیگر خطر این بیماری بیمار را تهدید نمی‌کند از این لحاظ یک پیگیری طولانی مدت بعد از بیماری می‌تواند برای بررسی نتیجه درمان و مهار بهتر این بیماری بسیار مفید باشد (۲۱ و ۲۲). به‌خاطر همین موضوع، امروزه پیدا کردن مارکرهایی که برای ردیابی و پیگیری وضعیت درمان مفید باشند برای دانشمندان به‌عنوان یک هدف مطرح است. همان‌طور که ما در مطالعه قبلی خود گزارش کرده بودیم میزان MMP-9 فعال در بیماران سرطان پستان نسبت به افراد شاهد افزایش داشت (۱۷). در این مطالعه میزان بیان این



www.SID.ir

Archive of SID



ژن را قبل و بعد از جراحی و خارج کردن تومور سرطانی پستان در یک گروه ۹۸ نفری بیماران سرطان پستان در طول ۲ سال بررسی کردیم. ما در این مطالعه دریافتیم که از میزان MMP-9 پلاسمایی این افراد می‌توان به‌عنوان شاخصی ارزشمند برای پیگیری وضعیت بهبودی این بیماران استفاده کرد. به‌عبارت دیگر می‌توان از میزان MMP-9 فعال موجود در خون این بیماران وضعیت بیماری را قبل از ظهور علایم بالینی پیش‌بینی کرد و نسبت به درمان یا پیش‌گیری آن اقدام کرد.

طبق یافته‌های این مطالعه میزان MMP-9 پلاسمایی بیماران سرطان پستان در ۱۲۰–۶۰ روز بعد از درمان بیمارانی که پاسخ مثبت به درمان می‌دهند کاهش معناداری نسبت به قبل از انجام درمان نشان می‌دهد. هم‌چنین ما مشاهده کردیم که این میزان در کل ۱۸ بیماری که دچار عود مجدد بیماری بعد از عمل شده‌اند (۶ نفر ایجاد مجدد سرطان پستان اولیه و ۱۲ نفر متاستاز به دیگر نواحی) نسبت به قبل از عمل (S1) افزایش نشان می‌دهد و در چهار نفر از بیماران درمان شده هیچ تغییری در میزان این آنزیم مشاهده نشد که این یافته‌ها نشان‌دهنده تطابق بسیار زیاد میزان فعالیت پلاسمایی این آنزیم با واکنش افراد مختلف به درمان سرطان پستان است.

با وجود تعداد مقالات زیادی که در مورد پیدا کردن مارکرهایی برای ردیابی وضعیت تومورها منتشر شده به نظر می‌رسد که هنوز بحث‌ها و جدال‌های دانشمندان بر سر این موضوع ادامه دارد و آن‌ها هنوز به یک اتفاق واحد در مورد چنین مارکرهایی نرسیده‌اند و باید به ترکیبی از چند مارکر توجه شود تا حساسیت و ویژگی این موضوع را افزایش دهد (۲۲).

زوکر و همکارانش در مطالعه‌ای بر روی اثر درمان دارویی دوره‌ای بر روی بیماران سرطان پستان و اثر آن بر روی میزان MMP-9 پلاسمایی این بیماران از طریق تکنیک حساس ELISA پرداختند، توانستند ارتباط مثبتی بین افزایش MMP-9 و پیشرفت این بیماری یا کاهش این آنزیم و مهار بیماری را در نمونه‌های خود گزارش کنند (۲۳). فاریاس و همکاران در مطالعه‌ای نشان دادند که میزان فرم فعال این آنزیم می‌تواند با ایجاد سرطان پستان و ریه در ارتباط باشد. (۱۸). روکا با مطالعه‌ای بر روی جمعیت ایتالیا نشان داد که میزان MMP-9 فعال در پلاسمای بیماران سرطان پستان نسبت به افراد سالم به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد (۲۴). مانیلو و همکاران در مطالعه‌ای دیگر با نتیجه مشابه میزان MMP-9 را یکی از بهترین مارکرها برای گروه‌بندی بیماران سرطان پستان معرفی کردند (۲۵).

به‌طورکلی عوامل اصلی برای بررسی وضعیت بیماری سرطان پستان عبارتند از اندازه تومور، درگیری غدد لنفاوی، بیماری‌های متاستازی، بیان گیرنده‌های استروژن و پروژسترون در بافت تومور و میزان erbB-2 به همراه عوامل تکثیر و تمایز سلولی (۲۶، ۲۷ و ۲۸). در این مطالعه ما دریافتیم که میزان MMP-9 فعال پلاسمای بیماران نیز می‌تواند به‌عنوان عاملی برای پیش‌بینی و بررسی وضعیت بیماران و پاسخ آن‌ها به درمان صورت گیرد. بیان MMPها و مهارکننده‌های آن‌ها تا کنون در تومورهای انواع بافت‌های بدن اندازه‌گیری شده است (۲۸). کارهای کم‌تری به بررسی وضعیت آنزیمی و میزان MMP-9 فعال پلاسمایی به‌عنوان عاملی دخیل در بهبود بیماری‌ها پرداخته‌اند (۲۹ و ۳۰).

این مطالعه برای اولین بار در ایران انجام شد و یافته‌های آن با یافته‌های محققین پیشین درکشورهای دیگر در یک راستا قرار دارد و با توجه به افزایش محسوس میزان MMP-9 فعال در بیمارانی که بعد از درمان دچار پیشرفت بیماری یا متاستاز شده‌اند و کاهش این آنزیم در افرادی که به درمان دارویی و جراحی بعد از تشخیص پاسخ مثبت داده‌اند، ما میزان فرم فعال MMP-9 در پلاسمای بیماران سرطان پستان را به‌عنوان عاملی ارزشمند برای بررسی وضعیت بهبودی این بیماران بعد از دوره درمان و پیش‌بینی پاسخ آن‌ها به درمان دارویی دوره بعد از جراحی معرفی می‌کنیم.

## تشکر و قدردانی

در این قسمت از بخش انکولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه اصفهان و بخش تحصیلات تکمیلی دانشکده علوم دانشگاه اصفهان به خاطر فراهم کردن تجهیزات، از بیمارستان امید اصفهان به خاطر فراهم کردن نمونه و هم‌چنین از پروفسور ماریس استاد انسیتو انکولوژی دانشگاه Buenos Aires آرژانتین برای راهنمایی‌هایشان در اجرای تکنیک‌ها صمیمانه تشکر می‌شود.

## References

1. Crowe DL, Tsang KJ, Shemirani B. Jun N-terminal kinase 1 mediates transcriptional induction of matrix metalloproteinase 9 expression. Neoplasia 2001;3(1):27-32.
2. Martinella-Catusse C, Polette M, Noel A, Gilles C, Dehan P, Munaut C, et al. Down-regulation of MT1-MMP expression by the alpha 3 chain of type IV collagen inhibits bronchial tumor cell line invasion. Lab Invest 2001;81(2):167-75.
3. Gruss C, Herlyn M. Role of cadherins and matrixins in melanoma. Curr Opin Oncol 2001;13(2):117-23.
4. Jurasz P, Sawicki G, Duszyk M, Sawicka J, Miranda C, Mayers I, et al. Matrix metalloproteinase 2 in tumor cell-induced platelet aggregation: regulation by nitric oxide. Cancer Res 2001;61(1):376-82.
5. Sheu BC, Hsu SM, Ho HN, Lien HC, Huang SC, Lin RH. A novel role of metalloproteinase in cancer-mediated immunosuppression. Cancer Res 2001;61(1):237-42.
6. Egeblad M, Werb Z. New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression. Nat Rev Cancer 2002;2(3):161-74.
7. Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. Circ Res 2003;92(8):827-839.
8. Murphy G, Nguyen Q, Cockett MI, Atkinson SJ, Allan JA, Knight CG, et al. Assessment of the role of the fibronectin-like domain of gelatinase A by analysis of a deletion mutant. J Biol Chem 1994;269(9):6632-6636.



www.SID.ir

Archive of SID



9. Stetler-Stevenson WG. Type IV collagenases in tumor invasion and metastasis. Cancer Metastasis Rev 1990;9(4):289-303.

10. Zucker S, Lysik RM, Zarrabi MH, Moll U. M(r) 92,000 type IV collagenase is increased in plasma of patients with colon cancer and breast cancer. Cancer Res 1993;53(1):140-6.

11. Hoikkala S, Paakko P, Soini Y, Makitaro R, Kinnula V, Turpeenniemi-Hujanen T. Tissue MMP-2/TIMP-2-complex are better prognostic factors than serum MMP-2, MMP-9 or TIMP-1 in stage I-III lung carcinoma. Cancer Lett 2005;236(1):125-32.

12. Ruokolainen H, Paakko P, Turpeenniemi-Hujanen T. Serum matrix metalloproteinase-9 in head and neck squamous cell carcinoma is a prognostic marker. Int J Cancer 2005;116(3):422-7.

13. Shen KH, Chi CW, Lo SS, Kao HL, Lui WY, Wu CW. Serum matrix metalloproteinase-9 level associated with stromal reaction in patients with gastric cancer. Anticancer Res 2000;20(2B):1307-10.

14. Hayasaka A, Suzuki N, Fujimoto N, Iwama S, Fukuyama E, Kanda Y, et al. Elevated plasma levels of matrix metalloproteinase-9 (92-kd type IV collagenase/gelatinase B) in hepatocellular carcinoma. Hepatology 1996;24(5):1058-62.

15. Endo K, Maehara Y, Baba H, Yamamoto M, Tomisaki S, Watanabe A, et al. Elevated levels of serum and plasma metalloproteinases in patients with gastric cancer. Anticancer Res 1997;17(3C):2253-8.

16. Torii A, Kodera Y, Uesaka K, Hirai T, Yasui K, Morimoto T, et al. Plasma concentration of matrix metalloproteinase 9 in gastric cancer. Br J Surg 1997;84(1):133-6.

17. Sadeghi M, Motovali-Bashi M, Hojati Z. MMP-9 promoter polymorphism associated with tumor progression of breast cancer in Iranian population. IJIB 2009;6(1): 33-37.

18. Farias E, Ranuncolo S, Cresta C, Specterman S, Armanasco E, Varela M, et al. Plasma metalloproteinase activity is enhanced in the euglobulin fraction of breast and lung cancer patients. Int J Cancer 2000;89(4):389-94.

19. Ranuncolo SM, Matos E, Loria D, Vilensky M, Rojo R, Bal de Kier Joffé ED, et al. Circulating 92-Kilodalton matrix metalloproteinase (MMP-9) activity is enhanced in the euglobulin plasma fraction of head and neck. Cancer Res 2002;36:127-122.

20. Duffy MJ. Biochemical markers in breast cancer: which ones are clinically useful? Clin Biochem 2001;34(5):347-52.

21. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. Nature 2000;406(6797):747-52.

22. Lumachi F, Brandes AA, Boccagni P, Polistina F, Favia G, D'Amico DF. Long-term follow-up study in breast cancer patients using serum tumor markers CEA and CA 15-3. Anticancer Res 1999;19(5C):4485-90.

23. Zucker S, Hymowitz M, Conner C, Zarrabi HM, Hurewitz AN, Matrisian L, et al. Measurement of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in blood and tissues:Clinical and experimental applications. Ann N Y Acad Sci 1999;878:212-27.

24. La Rocca G, Pucci-Minafra I, Marrazzo A, Taormina P, Minafra S. Zymographic detection and clinical correlations of MMP-2 and MMP-9 in breast cancer sera. Br J Cancer 2004;90(7):1414-21.

25. Mannello F, Tonti GA. Gelatinase concentrations and zymographic profiles in human breast cancer: Matrix metalloproteinases circulating in plasma are better markers for the subclassification and early prediction of cancer: The coagulation/fibrinolysis pathways alter the release, activation and recovery of different gelatinases in serum. Int J Cancer 2007;121(1):216-218.

26. Ferno M. Prognostic factors in breast cancer: A brief review. Anticancer Res 1998;18(3C):2167-71.

27. Souhami RL, Tannock I, Hohenberger P, Horiot JC. Oxford textbook of oncology. 2nd ed. New York: Oxford University Press; 2002.p.1725-34.

28. Fitzgibbons PL, Page DL, Weaver D, Thor AD, Allred DC, Clark GM, et al. Prognostic factors in breast cancer: College of American Pathologists Consensus Statement 1999. Arch Pathol Lab Med 2000; 124(7):966-78.

29. Hashimoto N, Kobayashi M, Tsuji T. Serum Type IV collagen-degrading enzyme in hepatocellular carcinoma with metastasis. Acta Med Okayama 1998;42(1):1-6.

30. Durkan GC, Nutt JE, Rajjayabun PH, Neal DE, Lunec J, Mellon JK. Prognostic significance of matrix metalloproteinase-1 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in voided urine samples from patients with transitional cell carcinoma of the bladder. Clin Cancer Res 2001;7(11):3450-6.



www.SID.ir