جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله دانشکده پزشکی اصفهان | مقاله پژوهشی
سال بیست و هشتم/شماره ۱۱۸/هفته دوم بهمن ماه ۱۳۸۹
تاریخ دریافت: ۸۹/۸/۲۸ تاریخ پذیرش: ۸۹/۱۰/۲۵

مقایسه‌ی غلظت پروتئین ماتریکس متالو پروتئیناز-۹ در سرم و پلاسمای بیماران مبتلا به سرطان پستان و ارتباط آن با خصوصیات کلینیکی بیماری*

مجید متولی باشی[۱]، دکتر سیمین همتی[۲]، مرتضی صادقی[۳]

خلاصه

مقدمه: ماتریکس متالوپروتئیناز-۹ (MMP-9) به تازگی به عنوان یکی از ژن‌های مارکر برای بسیاری از سرطان‌ها گزارش شده است. با توجه به نقش مهم این ژن در تشخیص انواع سرطان‌ها در این مطالعه ما به مقایسه ارتباط غلظت پلاسمایی و سرمی این آنزیم با خصوصیات کلینیکی بیماران مبتلا به سرطان پستان پرداختیم.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی مورد شاهدی ۱۲۰ بیمار مبتلا به سرطان پستان و ۹۰ فرد سالم مورد مطالعه قرار گرفتند. برای بررسی غلظت MMP-9 در سرم و پلاسمای بیماران از روش زیموگرافی ژلاتین و کیت مخصوص استفاده شد و اثر هر یک از غلظت‌های پلاسمایی و سرمی بر وضعیت کلینیکی بیماران بررسی و مقایسه گردید.

یافته‌ها: غلظت MMP-9 پلاسمایی در بیماران بسیار بیشتر از افراد سالم بود ($P<0/00$). این در حالی بود که غلظت سرمی در دو گروه مشابه بود. به علاوه ارتباط معنی داری بین افزایش غلظت پلاسمایی MMP-9 و متاستاز به غدد لنفاوی (OR, 3.43; $P = 0.019$) و تهاجم وریدی (OR, 4.14; $P = 0.033$) بیماران دیده شد اما هیچ ارتباطی بین غلظت MMP-9 سرمی و متاستاز لنفاوی یا تهاجم وریدی مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: طبق یافته های این مطالعه غلظت پلاسمایی MMP-9 در مقایسه‌ی با غلظت سرمی آن فاکتور مناسبی جهت تشخیص زودهنگام و بررسی متاستاز به غدد لنفاوی و تهاجم وریدی در مبتلایان به سرطان پستان است.

واژگان کلیدی: سرطان پستان، ماتریکس متالو پروتئیناز-۹، غلظت پلاسمایی، غلظت سرمی.

مقدمه

ماتریکس متالو پروتئینازها خانواده‌ای از آنزیم‌های دارای فعالیت پروتئولیتیکی هستند که در هضم اتصالات خارج سلولی و بافت پایه‌ی نگهدارنده‌ی سلولها ایفای نقش می‌کنند و از این لحاظ می‌توانند بر روی عملکرد سلول‌ها در مراحل سرطانی شدن و تسریع این مراحل تاثیرگذار باشند (۱). تحقیقات نشان داده‌اند که این خانواده‌ی آنزیمی نه تنها در تغییرات فیزیکی بافت غشاء پایه و اتصالات خارج سلولی ایفای نقش می‌کنند بلکه در ایجاد شرایط پاتولوژیک شامل پیشرفت و رشد تومورها، متاستاز و بدخیمی بسیاری از سرطان‌ها نیز نقش دارند (۲-۵). از آنجائی که تغییرات بافت‌ها بیشتر بازتاب تغییرات آنزیمی مایعات بدن است، اندازه‌گیری غلظت ماتریکس متالوپروتئینازها در خون و ادرار به عنوان ابزاری مناسب برای بررسی تغیرات اتفاق افتاده در بافتها شناخته شده است و کیت‌های تجاری زیادی مانند کیت‌های ELIZA برای بررسی اختصاصی غلظت این آنزیم‌ها در خون و ادرار تهیه شده است (۶).

در بین اعضاء این خانواده MMP-9 تنها عضوی

---

* این مقاله حاصل پایان نامه دوره کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می‌باشد.

[۱] استادیار، گروه زیست شناسی بخش ژنتیک، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران.
[۲] استادیار، گروه رادیوتراپی و انکولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
[۳] کارشناس ارشد ژنتیک مولکولی، گروه زیست شناسی بخش ژنتیک، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران.
نویسنده‌ی مسؤول: مجید متولی باشی
Email: mbashi@sci.ui.ac.ir

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

است که قابلیت هضم ژلاتین را که یکی از مهم‌ترین ترکیبات بافت غشاء پایه است دارد و تا کنون به عنوان یک مارکر سرطانی امید بخش برای بررسی وضعیت بیماران و پیشگیری از چندین سرطان شناخته شده است (۶). افزایش غلظت این آنزیم در پلاسما یا سرم بیماران در بسیاری از سرطان‌ها از جمله سرطان‌های پستان، کولون، ریه، سر و گردن و معده گزارش شده است (۷-۱۳). اگرچه سودمندی MMP-9 به عنوان یک مارکر تشخیصی در این سرطان‌ها به اثبات رسیده است ولی چندین مطالعه که غلظت این آنزیم را در سرم و پلاسمای خون بیماران اندازه گرفته‌اند نتایج متفاوتی را گزارش کرده‌اند (۱۳-۱۵). به نظر می‌رسد اختلاف جمعیت‌های مورد مطالعه و همچنین روش‌های مورد استفاده برای اندازه‌گیری یکی از دلائل نتایج متفاوت باشد. همچنین فرایندهای صورت گرفته روی نمونه‌ی خون در طی مراحل اندازه‌گیری نیز می‌تواند نتایج را تحت تاثیر قرار دهد. در چندین مطالعه تفاوت‌های ژنتیکی جمعیت مورد مطالعه به عنوان عامل اصلی موثر در غلظت کلی MMP-9 خون گروه‌های مورد مطالعه معرفی شده‌اند (۱۶-۱۸). در بعضی از مطالعات غلظت MMP-9 سرمی افراد سه برابر بیشتر از غلظت MMP-9 پلاسمایی آنها گزارش شده است با این وجود بعضی محققین این غلظت را برای تشخیص وضعیت کلینیکی بیماران بی ارزش معرفی کرده و بیشتر بر روی غلظت پلاسمایی این آنزیم تاکید کرده‌اند (۱۹). با این وجود در بعضی از مطالعات از غلظت MMP-9 سرمی برای تشخیص وضعیت پیشرفت تومورهای سرطانی استفاده شده است (۲۰-۲۲). ما در مطالعات قبلی خود بر روی جمعیت ایرانی غلظت پلاسمایی این آنزیم را به عنوان فاکتوری مناسب برای ارزیابی وضعیت بهبودی بعد از درمان بیماران سرطان پستان معرفی کردیم(۲۳). با توجه با اهمیت بالای غلظت این آنزیم در سرطان‌ها و وجود بعضی نا همگونی‌ها در نتایج حاصل از اندازه‌گیری غلظت پلاسمایی و سرمی این آنزیم در مطالعه‌ی حاضر بر آن شدیم تا به طور همزمان غلظت سرمی و پلاسمایی این آنزیم را در دو گروه بیماران سرطانی و افراد سالم اندازه‌گیری کرده و ارتباط سطوح سرمی و پلاسمایی این آنزیم را با وضعیت کلینیکی بیماران بررسی کنیم.

روش‌ها

این مطالعه یک مطالعه‌ی مورد شاهدی بود که در آن غلظت MMP-9 در پلاسما و سرم ۱۱۴ بیمار مبتلا به سرطان پستان و ۸۷ فرد سالم اندازه گیری شد. بیماران از بین افراد مبتلا بع سرطانی پستان که به بیمارستان حضرت سیدالشهدای (امید) اصفهان و بیمارستان امام خمینی تهران مراجعه می‌کردند، انتخاب شدند و گروه کنترل از بین افرادی که برای انجام معاینات سلامتی و فشار خون به مرکز انتقال خون مراجعه کرده بودند. وجود سرطان پستان در بیماران، توسط متخصص رادیوتراپی انکولوژی با توجه به هیستوپاتولوژی آنان تائید شد. برای اندازه گیری غلظت آنزیم MMP-9 در سرم و پلاسمای افراد مورد مطالعه از زایموگرافی ژلاتین به صورت استفاده شد. نمونه‌ی سرم و پلاسمای هر فرد در بافر لودینگ (۵ درصد SDS ، ۲۰ درصد گلیسرول، در ۰/۴ درصد Tris دارای PH برابر ۶/۸ و حاوی۰/۰۲ درصد برومو فنول بولو) حل شد و در ژل اکریلامید ۱۰ درصد حاوی ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر ژلاتین قرار گرفت. بعد از اتمام الکتروفورز

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

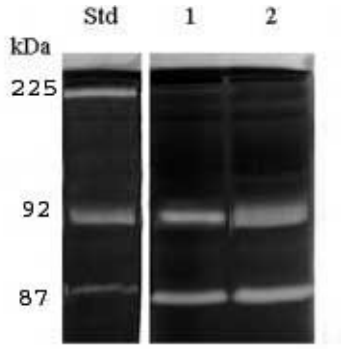
ژل برای مدت یک ساعت در بافر رناچوراسیون شامل (2.5% Triton X-100 in 50 mM Tris–HCl (pH 7.5)) در دمای آزمایشگاه انکوبه گردید و سپس ژل به مدت ۱۶ ساعت دردمای ۳۷ درجه در بافر زیربا PH=7.5 انکوبه شد (0.15 M NaCl, 10 mM CaCl2, 0.02% NaN3 in 50 mM Tris–HCl) و در نهایت ژل با کوماسی بولو ۰/۰۵ درصد رنگ آمیزی و با متانول ۳۰ درصد و استیک اسید ۱۰ درصد شستشو شد.

از آنجایی که غلظت کلی MMP-9 در خون افراد دارای دو حالت آنزیم فعال و پرو آنزیم غیر فعال است ما در این مطالعه برای اندازه گیری فرم فعال MMP-9 از زیموگرافی استفاده کردیم که یکی از تکنیک‌های حساس برای اندازه گیری فرم فعال MMP-9 است.

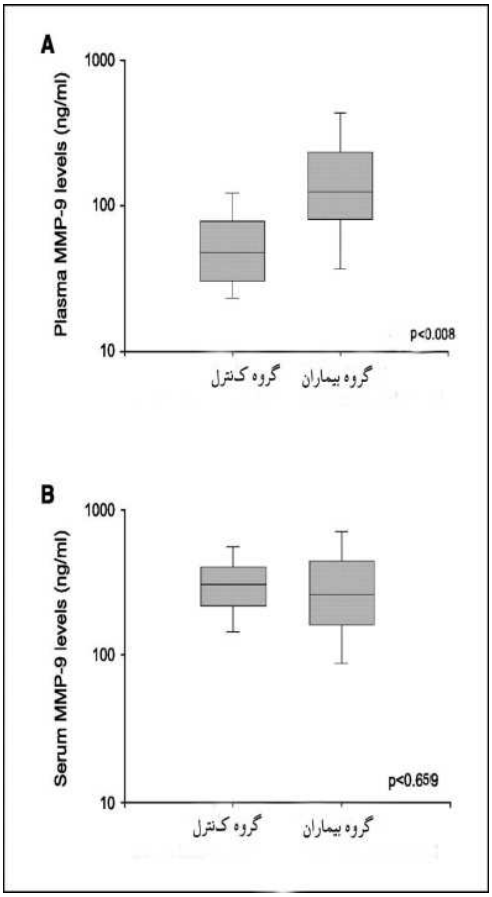
برای مقایسه‌ی ویژگی‌های دو جمعیت مورد مطالعه از آزمون $\chi 2$ استفاده شد و $P < ۰/۰۵$ در تمامی محاسبات معنی‌دار در نظر گرفته شد. برای مقایسه‌ی غلظت نسبی پروتئین در سرم و پلاسمای بیماران از آزمون Wilcoxon signed rank و برای تعیین میزان اثر غلظت این آنزیم در بروز بیماری و نیز متاستاز آن از آزمون رگرسیون لجستیک استفاده شد. غلظت استاندارد MMP-9 در سرم و پلاسمای افراد با اسکن باندهای حاصل توسط اسکنر دنسیتومتر (Epson GT-9500 scanner) و آنالیز توسط نرم افزار Scan Pack 3.0 (Biometra) انجام گردید و همچنین از کیت پروتئین بایورد (Bio-Rad, CA) برای اندازه گیری غلظت پروتئین هر نمونه استفاده شد.

یافته‌ها

میانگین سنی افراد مورد مطالعه در هر دو گروه ۴۷ سال بود. در این مطالعه برای بررسی غلظت فرم فعال MMP-9 در سرم و پلاسمای بیماران مورد مطالعه از زیموگرافی ژلاتین (شکل ۱) و کیت تشخیص پروتئین (Bio-Rad, CA) استفاده شد.



شکل ۱. زیموگرافی نمونه‌های پلاسما (۱) و سرم (۲) دو بیمار مورد مطالعه. در این شکل Std ژلاتیناز استاندارد با وزن مولکولی ۸۷، ۹۲ و ۲۲۵ کیلودالتن نشان داده شده است



شکل۲. مقایسه‌ی غلظت MMP-9 سرمی و پلاسمائی در دو گروه مورد مطالعه

جدول۱. ارتباط بین غلظت MMP-9 پلاسمایی افزایش و خصوصیات کلینیکی بیماران سرطان پستان

	غلظت پلاسمایی MMP-9 پلاسمایی			
	نرمال (<۸۰) (درصد) تعداد	افزایش یافته(≥۸۰) (درصد) تعداد	OR(95% CI)	P value
مرحله‌ی سرطان				
ابتدایی	۸(۴۲/۱)	۱۹(۲۱/۸)	۱	
پیشرفته	۱۱(۵۷/۹)	۶۸(۷۸/۲)	۲/۶ (۰/۹۲-۷/۳۹)	۰/۰۷۲
متاستاز به غدد لنفاوی				
منفی	۷(۳۶/۸)	۵۸(۶۶/۷)		
مثبت	۱۲(۶۳/۲)	۲۹(۳۳/۳)	۳/۴۳(۱/۲۲-۹/۶۴)	۰/۰۱۹
تهاجم وریدی				
منفی	۱۶(۸۴/۲)	۴۹(۵۶/۳)	۱	
مثبت	۳(۱۵/۸)	۳۸(۴۳/۷)	۴/۱۴	۰/۰۳۳

در بررسی ارتباط بین غلظت سرمی و پلاسمایی این آنزیم در دو گروه مورد مطالعه غلظت کلی سرمی این آنزیم بسیار بیشتر از غلظت پلاسمایی آن بود ولی ارتباط خاصی بین غلظت سرمی این آنزیم با ابتلابه بیماری و خصوصیات کلینیکی بیماران مانند متاستاز به غدد لنفاوی و یا تهاجم عروقی مشاهده نشد. میزان افزایش این آنزیم در گروه بیماران نسبت به گروه کنترل در سطح پلاسمایی بیشتر از سطح سرمی بود (شکل۲).

افزایش غلظت MMP-9 پلاسمایی در بیماران نسبت به گروه کنترل با متاستاز به غدد لنفاوی و تهاجم وریدی در ارتباط بود. غلظت پلاسمایی MMP-9 در ۱۹ نفر از افراد مبتلا به بیماری کمتر از ۸۰ بود. ۸۷ نفر از بیماران MMP-9 با غلظت بیشتر از ۸۰ داشتند. به طور کلی از میان مبتلایان به سرطان پستان ۷۹ نفر مبتلا به نوع پیشرفته بودند که از میان آنها ۴۱ نفر متاستاز غدد لنفاوی و تهاجم وریدی داشتند.(جدول ۱). همان گونه که در جدول مشاهده می‌شود غلظت بالای MMP-9 به طور معنی‌داری یک عامل خطر قوی در موارد متاستاز به غدد لنفاوی (OR=۳/۴۳) و یا تهاجم وریدی (OR=۴/۱۴) بود. مقدار OR در مورد سرطان‌ی پیشرفته نیز بالا بود اما با توجه به فاصله‌ی اطمینان این رقم معنی‌دار نبود.

بحث

با توجه به اهمیت بالای غلظت آنزیم MMP-9 در سرم و پلاسمای بیماران سرطانی و شناخته شدن این آنزیم به عنوان یک مارکر توموری در بسیاری از سرطان‌ها در مطالعه‌ی حاضر ما به بررسی هم‌زمان سطح سرمی و پلاسمایی این آنزیم در بیماران سرطان پستان و افراد کنترل پرداختیم. همان گونه که در نتایج گفته شد تفاوت معنی‌داری در میانگین غلظت سرمی این آنزیم در دو گروه دیده نشد. در حالی که غلظت پلاسمایی آن در بیماران به طور معنی‌دار بیشتر بود. به علاوه این آنزیم یک عامل خطر در بروز متاستازهای لنفاوی و یا تهاجم وریدی بود.

در مطالعات مشابه بر روی جمعیت‌های دیگر کشورها غلظت سرمی MMP-9 در افراد مورد

مطالعه بیشتر از غلظت پلاسمایی آن بود (۲۰;۱۹)). مطالعه‌ی ما نیز نتایج مشابهی را نشان داد، به طوری که غلظت سرمی MMP-9 در کل افراد مورد مطالعه ۳/۵ برابر غلظت سرمی بود. این رقم در افراد کنترل و افراد بیمار به ترتیب ۶/۵ برابر و ۲/۲ برابر بود.. از آنجایی که لکوسیت‌های خون و پلاکت‌ها دارای غلظت MMP-9 بالاتری نسبت به سایر سلول‌های خونی هستند به نظر می‌رسد علت افزایش مقدار در سطح سرمی این آنزیم ناشی از آزاد شدن آن در هنگام فعال شدن پلاکت‌ها است. علاوه بر این ممکن است این افزایش طی مراحل جمع‌آوری و فرایند تهیه‌ی نمونه رخ داده باشد(۲۵;۲۴).

در این مطالعه از مقایسه‌ی نتایج حاصل از غلظت MMP-9 در دو گروه مشخص شد که در بررسی متاستاز به غدد لنفاوی بیماران سرطان پستان و تهاجم وریدی این بیماران تغییرات غلظت پلاسمایی این آنزیم بیشتر است و به نظر می‌رسد برای بررسی وضعیت پیشرفت تومور در این بیماران و به خصوص برای مشخص کردن ریسک تهاجم به غدد لنفاوی غلظت پلاسمایی این آنزیم فاکتوری مناسب‌تر از سطح سرمی آن است. شاید این خود دلیلی بر این مطلب باشد که بعضی دانشمندان مشتاق مطالعه روی غلظت سرمی این آنزیم، دارای نتایج ناکافی هستند (۲۷;۲۶) و مطالعاتی که بر روی غلظت پلاسمایی این آنزیم و شرایط بیماران سرطانی انجام شده‌اند قابلیت استناد بیشتری دارند (۲۹;۲۸).

Ranuncolo در مطالعه‌ای مشابه بر روی جمعیت آرژانتین گزارش کرد که غلظت پلاسمایی MMP-9 برای بررسی وضعیت بهبود بیماران سرطان پستان بسیار بهتر از غلظت سرمی این آنزیم است (۳۰).

Rocca در مطالعه‌ای دیگر بر روی جمعیت ایتالیا نشان داد که افزایش غلظت پلاسمایی این آنزیم با افزایش بیان c-erbB-2 که یکی از اصلی‌ترین ژن‌های دخیل در سرطان پستان است در ارتباط است و می‌توان از غلظت پلاسمایی این آنزیم برای تقسیم بیماران سرطان پستان به زیرگروه‌های خاص استفاده کرد (۳۱).

نتایج مطالعه‌ای که توسط Somiari و همکارانش بر روی یک جمعیت هلندی انجام شد غلظت پلاسمایی این آنزیم برای یررسی بیماران ارزش بالاتری نسبت به غلظت سرمی آن داشت. در این مطالعه نشان داده شد که در زمان بهبودی در بیماران سرطان پستان غلظت پلاسمایی این آنزیم فاکتوری مناسب‌تر از غلظت سرمی آن جهت بررسی وضعیت درمان است (۳۲).

Mannello و همکارانش در مطالعه ای بر روی جمعیت ایتالیا گزارش کردند که غلظت پلاسمایی این آنزیم با بقای بیماران سرطان پستان در ارتباط است. این گروه در مطالعه ی خود تاکید بر روی اهمیت غلظت پلاسمایی این آنزیم داشتند زیرا معتقد بودند که اندازه گیری غلظت سرمی این آنزیم با رخ دادن فرایندهایی مانند کوراگولاسیون و فیبرینولایسیز با مشکل مواجه می‌شود (۳۳).

اگر چه در نتایج این مطالعه و اکثر مطالعات مشابه از غلظت پلاسمایی این آنزیم به عنوان فاکتوری مناسب‌تر برای بررسی وضعیت بیماران نام برده شده است ولی به نظر می‌رسد که هنوز دانشمندان بر سر این موضوع به یک اتفاق نظر نرسیده‌اند. به طوریکه Decock و همکارانش در مطالعه‌ی خود در نتایجی متناقض با نتایج دیگر

دانشمندان گزارش کردند که غلظت پلاسمایی این آنزیم با خصوصیات کلینیکی بیماران سرطان پستان در ارتباط نیست (۱۴). به نظر می‌رسد اختلافات ژنتیکی جمعیت‌ها و همچنین متفاوت بودن روش‌های اندازه گیری از مهم‌ترین دلایل چنین نتایجی باشند. در مطالعه‌ی حاضر ارتباط معنی‌داری بین متاستاز به غدد لنفاوی و غلظت پلاسمایی MMP-9 وجود داشت ولی این ارتباط در مورد غلظت سرمی این آنزیم مشاهده نشد.

طبق یافته های ما این اولین مطالعه‌ای است که درآن به بررسی هم‌زمان سطوح سرمی و پلاسمایی MMP-9 در بیماران مبتلا به سرطان پستان در جمعیت ایران پرداخته شده است. در یک نتیجه‌گیری کلی می‌توان گفت که غلظت پلاسمایی MMP-9 برای بررسی متاستاز به غدد لنفاوی و همچنین تهاجم وریدی بیماران مبتلا به سرطان پستان فاکتوری مناسب تر و بهتر از غلظت سرمی این آنزیم معرفی است. به دلیل محدودیت در تعداد نمونه‌های مورد استفاده در این مطالعه، برای اثبات قطعی این نظریه انجام یک مطالعه‌ی طولی آینده نگر بر روی گروه‌های مختلف از جمعیت ایران پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

از معاونت‌های پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشگاه اصفهان و دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به خاطر فراهم کردن تجهیزات و از همکاری‌های بیمارستان‌های حضرت سید الشهدا اصفهان و امام خمینی تهران و سازمان انتقال خون اصفهان برای جمع آوری نمونه‌ها صمیمانه تشکر می‌شود.

References

1. Nagase H, Woessner JF, Jr. Matrix metalloproteinases. J Biol Chem 1999 Jul 30; 274(31): 21491-4.
2. Ala-aho R, Kahari VM. Collagenases in cancer. Biochimie 2005 Mar;87(3-4):273-86.
3. Stamenkovic I. Matrix metalloproteinases in tumor invasion and metastasis. Semin Cancer Biol 2000 Dec;10(6):415-33.
4. Egeblad M, Werb Z. New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression. Nat Rev Cancer 2002 Mar;2(3):161-74.
5. Kahari VM, Saarialho-Kere U. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in tumour growth and invasion. Ann Med 1999 Feb;31(1):34-45.
6. 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 Jun 30; 878: 212-27.
7. 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 Jan 1; 53(1):140-6.
8. Hoikkala S, Paakko P, Soini Y, Makitaro R, Kinnula V, Turpeenniemi-Hujanen T. Tissue MMP-2 and MMP-9 [corrected] are better prognostic factors than serum MMP-2/TIMP-2--complex or TIMP-1 [corrected] in stage [corrected] I-III lung carcinoma. Cancer Lett 2006 May 8;236(1):125-32.
9. 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 Sep 1;116(3):422-7.
10. 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 Mar;20(2B):1307-10.
11. 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 Nov;24(5):1058-62.
12. 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 May;17(3C):2253-8.

13. 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 Jan;84(1):133-6.

14. Decock J, Hendrickx W, Wildiers H, Christiaens MR, Neven P, Drijkoningen M, et al. Plasma gelatinase levels in patients with primary breast cancer in relation to axillary lymph node status, Her2/neu expression and other clinicopathological variables. Clin Exp Metastasis 2005; 22(6): 495-502.

15. Kirman I, Jain S, Cekic V, Belizon A, Balik E, Sylla P, et al. Altered plasma matrix metalloproteinase-9/tissue inhibitor of matrix [corrected] metalloproteinase-1 concentration during the early postoperative period in patients with colorectal cancer. Surg Endosc 2006 Mar;20(3):482-6.

16. Jung K. Serum or plasma: what kind of blood sample should be used to measure circulating matrix metalloproteinases and their inhibitors? J Neuroimmunol 2005 May;162(1-2):1-2.

17. Mannello F, Luchetti F, Canonico B, Papa S. Effect of anticoagulants and cell separation media as preanalytical determinants on zymographic analysis of plasma matrix metalloproteinases. Clin Chem 2003 Nov;49(11):1956-7.

18. Mannello F. Effects of blood collection methods on gelatin zymography of matrix metalloproteinases. Clin Chem 2003 Feb;49(2):339-40.

19. Jung K, Laube C, Lein M, Lichtinghagen R, Tschesche H, Schnorr D, et al. Kind of sample as preanalytical determinant of matrix metalloproteinase 2 and 9 and tissue inhibitor of metalloproteinase 2 in blood. Clin Chem 1998 May;44(5):1060-2.

20. Dragutinovic VV, Radovanovic NS, Izrael-Zivkovic LT, Vrvic MM. Detection of gelatinase B activity in serum of gastric cancer patients. World J Gastroenterol 2006 Jan 7;12(1):105-9.

21. Rauvala M, Puistola U, Turpeenniemi-Hujanen T. Gelatinases and their tissue inhibitors in ovarian tumors; TIMP-1 is a predictive as well as a prognostic factor. Gynecol Oncol 2005 Dec;99(3):656-63.

22. Chen W, Abnet CC, Wei WQ, Roth MJ, Lu N, Taylor PR, et al. Serum markers as predictors of esophageal squamous dysplasia and early cancer. Anticancer Res 2004 Sep;24(5B):3245-9.

23. Motovali-bashi M, Hojati Z, Sadeghi M. Association between a Single Base Substitution at AP-1 Regulation REgion in MMP-9 gene and Tumor Creation in Breast Tissue. J.Rafsanjan University of Medical Sciences 9[1], 27-36. 2010.

24. Kodama S, Iwata K, Iwata H, Yamashita K, Hayakawa T. Rapid one-step sandwich enzyme immunoassay for tissue inhibitor of metalloproteinases. An application for rheumatoid arthritis serum and plasma. J Immunol Methods 1990 Feb 20;127(1):103-8.

25. Fujisawa T, Kato Y, Terada A, Iguchi K, Kamiya H. Matrix metalloproteinase-9 in peripheral blood eosinophils. Int Arch Allergy Immunol 1999; 120 Suppl 1:65-9.

26. Oberg A, Hoyhtya M, Tavelin B, Stenling R, Lindmark G. Limited value of preoperative serum analyses of matrix metalloproteinases (MMP-2, MMP-9) and tissue inhibitors of matrix metalloproteinases (TIMP-1, TIMP-2) in colorectal cancer. Anticancer Res 2000 Mar;20(2B):1085-91.

27. Hrabec E, Strek M, Nowak D, Hrabec Z. Elevated level of circulating matrix metalloproteinase-9 in patients with lung cancer. Respir Med 2001 Jan;95(1):1-4.

28. Yang SF, Hsieh YS, Lin CL, Hsu NY, Chiou HL, Chou FP, et al. Increased plasma levels of urokinase plasminogen activator and matrix metalloproteinase-9 in nonsmall cell lung cancer patients. Clin Chim Acta 2005 Apr;354(1-2):91-9.

29. Tamura M, Oda M, Matsumoto I, Tsunezuka Y, Kawakami K, Ohta Y, et al. The combination assay with circulating vascular endothelial growth factor (VEGF)-C, matrix metalloproteinase-9, and VEGF for diagnosing lymph node metastasis in patients with non-small cell lung cancer. Ann Surg Oncol 2004 Oct;11(10):928-33.

30. Ranuncolo SM, Armanasco E, Cresta C, Bal De Kier JE, Puricelli L. Plasma MMP-9 (92 kDa-MMP) activity is useful in the follow-up and in the assessment of prognosis in breast cancer patients. Int J Cancer 2003 Sep 20;106(5):745-51.

31. La RG, 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 Apr 5;90(7):1414-21.

32. Somiari SB, Shriver CD, Heckman C, Olsen C, Hu H, Jordan R, et al. Plasma concentration and activity of matrix metalloproteinase 2 and 9 in patients with breast disease, breast cancer and at risk of developing breast cancer. Cancer Lett 2006 Feb 20;233(1):98-107.

33. 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 Jul 1; 121(1): 216-8.

Journal of Isfahan Medical School Original Article

Vol 28, No 118, 2nd week, February 2011 Received: 19.11.2010 Accepted: 15.1.2011

Comparison of Serum and Plasma MMP-9 Level in Breast Cancer Patients and its Correlation with the Clinical f Features of the Patients*

Majid Motevali-bashi[1], Simin Hemmati[2], Morteza Sadeghi[3]

Abstract

Background: Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) has been reported as a new marker gene for several cancers. With respect to the significance function of this gene in diagnosis of cancers in the present study we compare the correlation between the plasma and serum MMP-9 levels and clinical features of breast cancer patients.

Methods: In this case-control study, 120 breast cancer patients and 87 healthy controls were studded. MMP-9 level was quantitatively measured by zymography and specific kit. The results were compared with clinical features of patients.

Finding: Plasma MMP-9 level was significantly elevated in breast cancer patients compared with the control subjects ($P < 0.001$). Also there was a correlation between the plasma MMP-9 level and lymph node metastasis (OR, 3.43; $P = 0.019$) and venous invasion (OR, 4.14; $P = 0.033$) of the patients. There was no correlation between the serum MMP-9 level and lymphatic metastasis or venous invasion.

Conclusion: according to our findings the plasma MMP-9 level in comparison with the serum MMP-9 level is a better determinant for early diagnosis, lymph node metastasis and venous invasion in patients with breast cancer.

Keywords: breast cancer, matrix mataloproteinase-9, plasma level, serum level.

*This paper drived from a MSc thesis in Isfahan University of Medical Sciences.

1 Assistant Professor, Biology Department, School of Sciences, Isfahan University, Isfahan, Iran.
[2] Assistant Professor, Oncology and Radiotherapy Department, Medicine School, Isfahan University of medical sciences, Isfahan, Iran.
[3] MSc of molecular genetic, Biology Deppartment, School of Sciences, Isfahan University, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Majid Motevali-bashi, Email: mbashi@sci.ui.ac.ir