

## التعبير الساييتوبلازمي للانزيمات المحللة للبروتين (MMP-9, MMP-2) في سرطان الخلايا الانتقالية للمثانة البولية

غنيمة صادق محمد\*

مي خليل اسماعيل\*

خالد طارق النائب\*\*

استلام البحث 30، ايار، 2010  
قبول النشر 25، تشرين الاول، 2010

### الخلاصة:

صممت هذه الدراسة باستخدام 36 نموذجاً نسيجياً مطموراً بشمع البرافين مأخوذاً من مرضى مصابين بسرطان الخلايا الانتقالية في المثانة (TCC) Transitional cell carcinoma 27 مريضاً كانوا من الذكور و 9 من الإناث تراوحت اعمارهم بين 35 و 97 سنة، ووفقاً الى التقارير المرضيه النسيجية صنفنا الانسجة السرطانية الى درجات (I, II, III) وكل درجة ضمت 12 خزعة سرطانية، كما صنفنا الى مراحل stages (T1, T2, Ta) تحتوي كل مرحلة على (3, 25, 8) خزعة سرطانية على التوالي بالإضافة إلى 10 نماذج نسيجية طبيعية مأخوذة من معهد الطب العدلي تعود لـ 6 ذكور و 4 اناث تراوحت اعمارهم بين 36 و 65 سنة. خضعت جميع النماذج لتقنية التلوين الكيميائي النسيجي المناعي Immunohistochemistry للتحري عن التعبير الساييتوبلازمي لانزيمات MMP-2 و MMP-9.

أظهرت نتائج هذه الدراسة إن نسبة إصابة الذكور إلى الإناث بسرطان الخلايا الانتقالية هي 1:3 وأن معدل أعمار المصابين كان 60 سنة. واعتماداً على نتائج التلوين الكيميائي النسيجي المناعي أظهرت النتائج وجود زيادة معنوية في التعبير الساييتوبلازمي عن MMP-2 في الانسجة السرطانية مقارنة بالانسجة الطبيعية ( $P < 0.05$ ).

وعندما صنفنا النماذج السرطانية اعتماداً على التغيرات النسيجية المرضية وجد ان كلاً من انزيمي MMP-2 و MMP-9 يملكان علاقة ايجابية بتطور درجات الورم Tumor grades إذ يزداد التعبير الساييتوبلازمي عن هذين الانزيمين كلما ازدادت درجة الورم ( $p < 0.05$ )، ( $p < 0.05$ ) بالتتابع.

**الكلمات المفتاحية:** المثانة البولية، سرطان الخلايا الانتقالية، MMP-2، MMP-9، التلوين الكيميائي النسيجي المناعي.

### المقدمة:

والحصيلة النهائية لهذه العملية تعتمد على خواص الخلايا السرطانية من جهة واستجابة الثوى host من جهة اخرى [7] ولكي تحصل عملية غزو الورم واجتياحه لا بد من تحطيم مكونات الغشاء القاعدي Basement membrane والمادة الخارج خلوية Extarcelluar matrix وهذا ينجز بمساعدة مجموعة فريدة من الانزيمات المحللة للبروتين تدعى (MMPs) Matrix metalloproteinase [8].

تعتبر MMPs من الإنزيمات المحللة للبروتينات الداخلية المعتمدة على الزنك Zinc-dependent endopeptidases لها قدره على هضم المكونات الأساسية للـ ECM جميعها [9, 10, 11]. تلعب هذه الانزيمات دوراً حيوياً في إعادة هيكلة الانسجة في الحالة الفسلجية الطبيعية كالنمو والتأم الجروح والتغيرات الرحمية خلال الدورة الحيضية وما بعد الولادة، وتكوين أو عيه دموية جديدة [12] كما تلعب هذه

يعد سرطان المثانة البولية Urinary bladder cancer خامس ورم خبيث مسبب للوفاة في العراق وفي العالم [1, 2] بينما يحتل المرتبة الرابعة كأكثر سرطان أصابة للذكور في العالم بعد سرطان البروستات والرئة والسرطان القولوني المستقيمي [3] والثالث بين الذكور في العراق [1] وهو مرض خبيث يصيب فئات عمرية مختلفة لاسيما كبار السن خصوصاً في العقدين السادس والسابع من العمر [4, 5] ويدعى أحياناً بمرض المسنين Disease of the elderly. إن أحد أشكال سرطان المثانة البولية وأكثرها شيوعاً هو سرطان الخلايا الانتقالية (TCC) Transitional cell carcinoma إذ يشكل أكثر من 90% من حالات سرطان المثانة؛ وهو يصنف إلى درجات Grades ومرحلة Stages وفقاً إلى أنظمة تصنيف عالمية تعكس درجة اجتياح الورم لطبقات نسيج المثانة [6]. إن عملية تقدم الورم هي عملية متعددة الخطوات Multisteps process

\*جامعة بغداد / كلية العلوم / قسم علوم الحياة

\*\*جامعة النهرين / كلية الطب / فرع الاحياء المجهرية

الانزيمات دورا مهما في الحالات المرضية مثل التهاب المفاصل الرثوي Rheumatoid arthritis ؛ التهاب المفاصل العظمي Osteoarthritis التصلب العصيدي Atherosclerosis ، تضخم القلب aneurysms التهاب النسيج حول السن Pseudomonas Tumor فضلا عن عملية غزو الورم وانتشاره Tumor invasion and metastasis. [16-13].

### طرائق العمل:

أجريت هذه الدراسة خلال المدة بين شهر آب 2005 وآيار 2006 في مختبرات قسم علم الأمراض في كلية الطب / جامعة النهرين. جمعت 36 خزعة سرطانية مطبورة بشمع البرافين paraffin embedded biopsies تعود لمرضى مصابين بسرطان الخلايا الانتقالية في المثانة بالإضافة إلى التقارير المرفقة مع كل نموذج من مختبر الدكتور لؤي أدور خوري للتحاليل النسيجية في بغداد. كان 27 مريضا من الذكور و9 من الإناث تراوحت أعمارهم بين 35 و97 سنة؛ ووفقا إلى التقارير المرضية النسيجية صنفت الأنسجة السرطانية إلى درجات I وII وIII وكل درجة ضمت 12 خزعة سرطانية، كما صنفت إلى مراحل (T2, T1, Ta) stages ، تحتوي كل مرحلة على (8, 25, 3) خزعة سرطانية على التوالي. كما جمعت 10 خزعة طبيعية Autopsies من معهد الطب العدلي ببغداد. كانت هذه النماذج العشرة تعود لـ 6 ذكور و 4 إناث تراوحت أعمارهم بين 36 و65 سنة.

قطعت الخزعة المطبورة بشمع البرافين إلى شرائح بسماك  $4 \mu m$  ؛ وضعت هذه الشرائح على شرائح زجاجية موجهة الشحنة ثم صُغبت بصبغتي Hematoxylin & Eosin وفحصت من قبل طبيب متخصص في الأمراض النسيجية لغرض انتخاب أفضل المقاطع النسيجية ولتأكيد تشخيص درجة الورم Tumor grade ومرحلته Tumor stage . خضعت المقاطع النسيجية جميعها للفحوصات الكيميائية النسيجية المناعية immunohistochemistry للتحري عن MMP-2 و MMP-9 وذلك وفقا للخطوات الموجودة في النشره المرفقة مع عدة التشخيص (Chemicon, USA).

### مبدأ الاختبار

يرتبط الضد الأولي primary antibody بالمتضد النوعي antigen الموجود في النسيج ؛ يليه ارتباط الضد الثانوي المُعَلَّم بالبايوتين secondary antibody labeled with biotin بالضد الأولي ؛ ثم يضاف streptavidin-HRP (streptavidin)

### التحليل الإحصائي:

تم اختبار الفروق المعنوية بين المعدلات في الأنسجة السرطانية والأنسجة الطبيعية باستخدام اختبار t عند مستوى معنوية 0.05، بينما أُختبرت معنوية الفروق بين المجاميع (درجات الورم ومراحله) باستخدام اختبار ANOVA عند مستوى معنوية 0.05.

### النتائج:

1- التلوين الكيميائي النسيجي المناعي لـ MMP-2 و 9 - MMP في أنسجة مرضى TCC والأنسجة الطبيعية

أظهرت نتائج هذه الدراسة وكما موضح في الجدول رقم (1) التعبير الايجابي لكل من MMP-2 و MMP-9 في سايبتوبلازم خلايا الأنسجة السرطانية والأنسجة الطبيعية إلا إن معدل التعبير عنها كان أعلى في الأنسجة السرطانية وهذه الزيادة كانت معنوية بالنسبة لـ MMP-2 ( $P < 0.05$ ) ولم تكن معنوية إحصائيا في حالة التعبير عن MMP-9 ( $P > 0.05$ ).

جدول (1): التعبير السايبتوبلازمي لـ MMP-2 ، MMP-9 ، في أنسجة مرضى TCC والأنسجة الطبيعية

المعنوية	المعدل % ± الانحراف المعياري	الأنسجة	البروتين
P < 0.05	24.08 ± 61.17	TCC	MMP-2
	6.29 ± 6.70	NT	
P > 0.05	16.96 ± 83.56	TCC	MMP-9
	22.87 ± 74.80	NT	

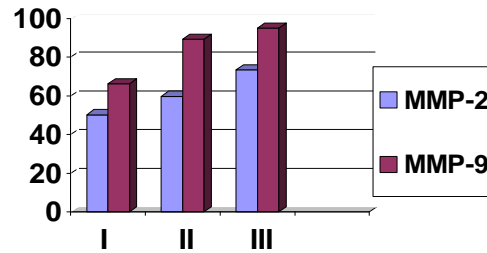
الانزيمات وكبح البعض الآخر ، فقد لاحظ Gohji وجماعته ان انتاج MMP-2 ينظم من قبل عوامل النمو bFGF و VEGF و TGF-B في الخلايا السرطانية للكلية Renal cell Carcinoma (RCC) [ 21,20,19] كما ان فرط التعبير عن VEGF قد اقترن بسرطان المثانة [ 22 ] فالـ VEGF هو احد اهم عوامل النمو المحفزة لعملية تكوين الاوعية الدموية Angiogenesis ووجد انه يؤدي الى تحفيز انتاج MMP-2 ، هذا بالإضافة لقدرته على تنشيط الشكل الخامل للانزيم المذكور MMP-2 Pro- [23] كما ان بعض الدراسات اثبتت قدرة الخلايا الاندوثيلية في التعبير عن انزيمات MMPs وتنشيطها والـ MMP-2 احد هذه الانزيمات [15] وما ينطبق على VEGF ينطبق على عامل النمو bFGF كونه يلعب الدور ذاته [24] اما TGF -B فيعمل على تحفيز انتاج MMP-2 في الخلايا المولدة للاليف Fibroblasts [9] .

من جانب اخر فان ( Interleukin-8 IL-8 ) وهو أحد الحركيات الكيميائية Chemokines الذي يلعب دورا مهما في العملية الالتهابية وينتج من قبل انواع مختلفة من الخلايا ، وجد انه ينتج بصورة طبيعية في الخلايا الطلائية المبطنة للمثانة Urothelium الا انه يفرز الى الادرار فقط كاستجابة لحدوث اصابة Infection او عند تحول الخلايا الى النمط الخبيث Malignant phenotype [25] . ان زيادة التعبير عن mRNA لـ IL-8 قد لوحظت في انسجة سرطان المثانة وهي ذات علاقة بعملية نشوء الاوعية الدموية Angiogenesis وبالتالي يتقدم الورم ؛ كذلك فقد وجد ان مستوى التعبير عن MMP-2 يزداد في الخلايا السرطانية المصابة تجريبيا بـ IL-8 وهذه اشارة الى اشتراك IL-8 في تحفيز انتاج MMP-2 [ 27,26 ] .

لقد ساد مفهوم انتاج انزيمات MMPs من الخلايا المولدة للاليف Fibroblasts الموجودة في الستروما المحيطة بالورم واغلبها في الواقع لاينتج من قبل الخلايا السرطانية نفسها [28] ؛ وتفسير ذلك جاء اثر اكتشاف محفزات MMPs في المادة الخارج خلوية (EMMPRIN) Extracellular matrix metalloproteinases inducers ؛ فالـ EMMPRIN بروتينات سكرية glycoproteins تقع داخل الاغشية البلازمية وتنتج بكميات كبيرة في الخلايا السرطانية محفزة بذلك خلايا fibroblasts لتصنيع MMPs [ 29,19 ] . وقد بنيت التجارب في الزجاج in vitro ان المزرعة الحاوية على خلايا سرطانية منتجة الـ EMMPRIN مع خلايا Fibroblast ينتج عنها تحفيز الاخيرة على انتاج MMP-2 و MMP-9 و EMMPRIN ايضا ؛ كما ان

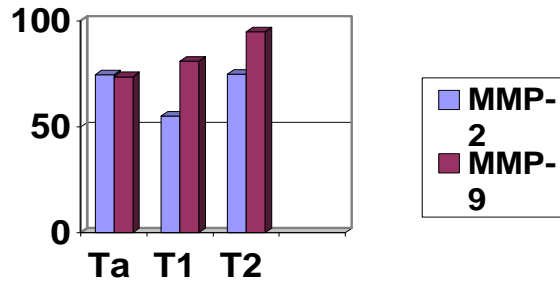
## 2- التعبير السايبتوبلازمي لـ MMP-2 و MMP-9 وعلاقته بدرجات المرض grades ومرحلة stages

لوحظ ارتفاعاً معنوياً في مستوى التعبير عن MMP-2 في الدرجة الثالثة grade III عما هو عليه في الدرجة الأولى grade I ( P<0.05 ) . كذلك فقد اظهر MMP-9 ارتفاعاً معنوياً في الدرجة الثالثة grade III عما هو عليه في الدرجة الثانية grade II ( P<0.05 ) (شكل رقم 1)



شكل (1) التعبير السايبتوبلازمي لـ MMP-2، MMP-9 خلال تطور درجات الورم (I, II, III).

وعلى الرغم من الارتفاع البسيط لـ MMP-2 والارتفاع الواضح لـ MMP-9 في المرحلة المتقدمة T2 عن المراحل الأولية Ta و T1 إلا ان الفروق غير معنوية إحصائياً (p>0.05). (شكل رقم 2).



شكل (2) التعبير السايبتوبلازمي لـ MMP-2 و MMP-9 وعلاقته بمراحل الورم الثلاث (T2، T1، Ta)

## المناقشة:

في الواقع يتأثر إنتاج إنزيمات MMPs بشكل عام بوجود مختلف الحركيات الخلوية Cytokines وعوامل النمو Growth factors ؛ إذ من المعروف إن بيئة الورم المجهرية Microenvironment تضم العديد من الخلايا الالتهابية Inflammatory cells ومنتجات هذه الخلايا ربما لها الأثر في تحفيز التعبير عن هذه

الخارج خلوية واللذان يتكونان اساساً من الكولاجين الذي يعد المادة الاساس Substrate للانزيمين MMP-2 و MMP-9 وقد اثبتت ايجابية علاقتها بعملية غزو الورم وانتشاره والذي يتطلب هجرة الخلايا السرطانية وحرية حركتها وذلك من خلال فك الروابط بين خلايا الورم نفسه لتسهيل حركتها . إن جزيئات E-cadherin و B-Catenin والتي تحافظ على التماسك بين الخلايا وبالتالي الحفاظ على ديمومة Maintenance وتنظيم Organization وتكوين شـكل Morphogenesis الانسجة الطلائية يعبر عنها في اغشية الخلايا الطلائية الطبيعية المبطنة للمثانة Urothelium و أن انخفاض التعبير عن هذه الجزيئات أو فقدانه له صلة وثيقة بزيادة القابلية الاجتياحية لسرطان الخلايا الانتقالية في المثانة وهي تتناسب طردياً مع درجة ومرحلة الورم [39] . كما أن زيادة معدل التعبير عن MMP-9 في المرحلة المتقدمة T2 على معدلات التعبير في المراحل الاولى Ta و T1 ربما تعكس دور هذا الانزيم في عملية اجتياح الورم وانتشاره Tumor invasion and Metastasis ويمكن استخدام MMP-9 كمؤشر للتكهن بمستقبل المرض افضل من استخدام MMP-2 لهذا الغرض

#### المصادر :

- 1- Iraqi cancer registry, 2004. Haynes, M.D.; Martin, T.A.; Jenkins, S.A.; Kynaston, H.G. Matthews, P. N. and Jiang, W.G. [2005]. Tight junctions and bladder cancer [Review]. *Inter. mol.* 16 : 3-9
- 2- Roomi, M.W. ;Ivanov, V.; Niedzwiecki and Rath, M. 2004 . Antitumor effect of nutrient synergy on human bladder cancer cell lines T-24 .Dr. Mathias Rath research . Sep . 23-25 .
- 3- Clayson, D.B. 1986 . Epidemiology of bladder Cancer . In Cooper, H.E. and Williams, R.E.[eds.] : the biology and Clinical management of bladder Cancer . Blackwell, Scientific Publication, Oxford . PP:65-86 .
- 4- Kadhim, H.S. 2004 . Molecular and immunopathogenesis of bladder cancer with and without schistosomiasis . Academic dissertation . AL- Nahrain

EMMPRIN تزيد انتاج عامل النمو VEGF شانها في ذلك MMP-9 محفزة بذلك عملية نشوء الاوعية Angiogenesis؛ وان تثبيط VEGF يتطلب اما تثبيط EMMPRIN في الخلايا السرطانية من خلال معادلة فعاليتها Neutrilization او تثبيط فعالية MMPs [30,29].

وفي سياق تلييل فرط التعبير عن MMP-2 و MMP-9 لابد من ذكر دور بعض افراد عائلة MMPs في تنشيط بعضها الآخر فالـ MMP-7 مثلاً ينشط MMP-1, MMP-2, MMP-9, وقد اشارت بعض الدراسات الى ان MMP-7 المنتج من قبل خلايا السرطان القولوني المستقيمي يشترك في تنشيط كل من MMP-2 و MMP-9 وان وجود هذه الانزيمات الثلاثة يكسب الورم امكانية هائلة في تحطيم المادة الخارج خلوية وبالتالي تيسير اجتياح الورم وانتشاره [32,31] كما تميزت الخلايا السرطانية الانتقالية المثانة بفرط التعبير السايوتوبلازمي عن MMP-7 دالة على دور هذا الانزيم في تطور العملية الاجتياحية للورم [17] . وبالمثل فقد يكون النمط العشوائي MMP-1 MT-1 ذا علاقة في زيادة انتاج MMP-2 كونه مسؤولاً عن تنشيط هذا الانزيم بالاشتراك مع TIMP-2 من خلال ارتباط الاول بغشاء الخلية السرطانية ؛ هذا بالإضافة الى دوره في تحطيم المادة الخارج خلوية شأنه في ذلك شأن باقي انزيمات MMPs مثبتاً دوره في زيادة القابلية الاجتياحية للورم [16,29,33,34]. فقد بين Kitagawa ان MMP-1 MT1 يلعب دوراً اساسياً في تطور سرطان المثانة وانتشاره [35] ولما كان هذا الانزيم وثيق الصلة بـ MMP-2 فان وجود احدهما لابد ان يقترن بوجود الآخر .

ولربما يكون فرط التعبير عن MMP-2 له علاقة بطريقة علاج الورم ؛ فمن المعروف أن احد وسائل علاج الأورام الخبيثة في المثانة هو الاشعاع Radiation ولعل بعض المرضى الذين خضعت انسجتهم السرطانية لهذه الدراسة قد خضعوا لعلاج بهذه الطريقة مما اسهم في تحفيز انتاج MMP-2 في الخلايا السرطانية إذ تشير الدراسات الحديثة ان الاشعاع يعمل على زيادة التعبير عن هذا الانزيم بالية بتوسطها P 35 [12] . وعلى الرغم من تطور ادلة العلاج على اساس موقع الورم tumor site ودرجته tumor grade ومرحلته tumor stage والتشخيص النسيجي ؛ الا انها لا تتنبأ بدقة دائماً عن الحصيلة النهائية للمرض وعلى ضوء نتائج دراستنا الحالية يمكننا القول بان MMP-2 قد يستخدم كمؤشر للإصابة بسرطان المثانة .

إن تطور الورم وانتشاره عملية متعددة الخطوات اساسها هضم الغشاء القاعدي والمادة

- affects plaque growth .Circulation . 109:1408-1414 .
- 13- Nagase, H. and Woessner, J.F. 1999. Matrix metalloproteinases .J.Biol. Chem.. 274:21491-21494.
  - 14- John , A . and Tuzynski , G.2001 . The role of MMPs in tumor angiogenesis and tumor metastasis . Patholo. Oncol. Res. 7[1]:14-22 .
  - 15- Reunanen , N.and Kähäri , V.M.2002 . Matrix metalloproteinases in cancer cell invasion . cell invasion . chapter one , edited by Jyky Heino and Veli-Matti kähäri .
  - 16- Sumi ,T. ; Yoshida , H. ; Hyun , Y. ; Yasui , T. ; Matsumoto , Y. ; Hattori , K. ; Sugimura , K. ; kawashima , H. ; Nakatani ,T. and Ishiko ,O. 2003 . Expression of matrix metalloproteinases in human transitional cell carcinoma of the urinary bladder . Oncology Reports . 10:345-349.
  - 17- Djonov ,V.; Cresto , N.; Aebersold , D.M.;Burri, P. ; Altermatt ,H.J. ; Hristic , M.;Berclaz , G. ; Ziemiecki , A.and Andres ,A.C.2002 . Tumor cell specific expression of MMP-2 correlates with tumor vascularisation in breast Cancer . International journal of oncology 21:25-30.
  - 18- Abdel- Wahed ,M.M. ; Asaad,N.Y.and Aleskandarany , M2004 .Expression of MMP-2 in renale cell carcinoma .J.of the Egyptian Nat .cancer Inst 16[3];sep :168-177 .
  - 19- Behrens , P.;Mathiak,M ; Mangold , E. ; Kirdorf , S. ;Wellmann , A. ; Fogt ,F . ; Rothe , M.; Florin , A. and Wernert , N.2003 . Stomal expression of invasion – promoting , matrix – degrading proteases MMP-1 and -9 and the Ets 1 transcription factor in HNPCC carcinomas and sporadic colorectal cancer . Int .J.Cancer .107: 183 - 188 .
  - university . College of medicine . Baghdad .
  - 5- Rosai ,J.1996 . Ackerman's surgical pathology . 8th[ed]. Vol.1 . PP:11 85-1211 .
  - 6- Kanayama , H.O. 2001. Matrix metalloprotenases and bladder cancer . J. Med . Invest . 48:31-43 .
  - 7- Mareel , M.and Leroy ,A2003 .Clinical , cellular and molecular aspects of cancer invasion . Physiol .Rev.83:337-76.
  - 8- Kalembeiy , I.; Inada , H.; Nishiura R.; Yoshida , K.I.; Sakakura , T.; and Yoshida ,T .2003 .Tenascin – C upregulates MMP-9 in breast cancer cells : Direct and synergistic effects with transforming growth factor B-1 .Int .J. cancer . 105 : 53-60.
  - 9- Yorioka, C.W. ;Coletta , R.D. ; ALVES, F. ;Nishimoto , I.N. ; Kowalski, L.P. and Graner ,E. 2002 .Matrix metalloproteinase-2 and -9 activities correlate with the disease – free survival of oral squamous cell carcinoma patients. Int. J. Oncol. 20:189-194.
  - 10- Tutton , M. G. ; George , M.L. ; Ecclees ,S.A. ; Burton , S. ; Swift , R.I. ; and Abulafi , A.2003 .Use of plasma MMP-2 and MMP-9 levels as a surrogate for tumor expression in colorectal cancer Patients . Int .J. cancer . 107 :541-550 .
  - 11- Sharma , R. ; Chattopadhyay , T.K.; Mathur , M. ; and Ralhan ,R. 2004 . Prognostic significance of stromely sin-3 and TIMP-2 in esophageal cancer . Oncology . 67: 300-309 .
  - 12- Luttun , A.; Lutgens , E.; Manderveld ,A.; Maris , K.; Collen , D.; Carmeliet , P. and Moons, L. 2004. Loss of Matrix metalloproteinase -9 or Matrix metalloproteinase -12 protects apolipoprotein E-deficient mice against atherosclerotic media destruction but differentially

- M. 2000. Matrix metalloproteinase's inhibitors : biologic activity and clinical implications .J.Clin .Oncol.18:1135-9.
- 28- Yoshizaki, T. ; Sato , H. and Furukawa, M. 2002 Recent advances in the regulation of Matrix metalloproteinase 2 activation :from basic research to clinical implication. *Oncology Reports* 9: 607-611.
- 29- Tang, Y.; Nakada, M.T. ; Kesavan, P.; McCabe ,F. ; Millar, H. ; Rafferty ,P. ; Bugelski ,P. and Yan , L. 2005 .EMMPRIN stimulates tumor angiogenesis by elevating VEGF and MMPs. *Cancer Res.*65[15]:3193-3199.
- 30- Zeng .Z. ; Shu ,W.P ;Cohen , A.M. ;and Guillem ,J.G. 2002.MMP-7 expression in colorectal cancer liver metastases . *Clin. Cancer Res.*8:144-148.
- 31- Bendardaf , R. ; Lamlum , H. Vihinen , P.; Ristamäki , R.; Laine , J. and Pyrhönen ,S. 2003.Low Collagenase -1 [MMP-1] and MT1-MMP expression levels are favourable survival markers in advanced colorectal carcinoma . *Oncology* .65 :337-346 .
- 32- Munaut , C .; NoEL , A .; Hougrand , O .; Foidart , J .M .; Boniver, . j. and Deprez , M. 2003 . Vascular endothelial growth factor expression correlates with matrix metalloproteinases MT-1MMP ,MMP-2 and MMP-9 in human glioblastomas . *Int . J. Cancer* . 106:848-855 .
- 33- Mattila , A. 1999 .MMP-2 immunoreactivity protein in breast carcinoma and ceroplastic cervical lesions .Academic dissertation . University of Oulu .
- 34- Kitagawa , Y.; Kunimi ,K.; Ito, H; Sato , H .; Uchibayashi , T .; Okada , Y .;Seiki,M. of membrane and Namiki,M. 1998. Expression and
- 20- Gohji , K.; Fujimoto , N.;Ohkawa , J.; Fujii , A.; and Nakajima , M. 1998 . Imbalance between serum MMP-2 and its inhibitor as a predictor of recurrence of urothelial cancer .*Br.J.cancer* .77:650-655.
- 21- Buscarini , M. ; Quek , M.L. ; Gill , P.; Xia , G. ; Quinn, D.I. and Stein ,J.P.[2005]. Molecular prognostic factors in bladder cancer . *BJU international* . 95: 739-742 .
- 22- Yagasaki, H.;Kawata, N. , Kakimoto, Y. and Nemoto,A. 2003.Histopathological analysis of angiogenic factor in renal cell carcinoma . *Int.J. Urol.* 10:220-7.
- 23- Zhang , X.H. ;Yamashita , M.; Uetuki, H. and Kakehi , Y. 2002. Angiogenesis in renal cell carcinoma :Evaluation of microvessel density , VEGF, and MMPs. *Int.J.Urol.*9:509-14.
- 24- Hang ,L.; Wullt ,B.; Shen ,Z.; Karpman ,D. and Svanborg , C. 1998. Cytokine repertoire of epithelial cells lining the human urinary tract . *J. Urol* .159: 2185-2192 .
- 25- Bar-Eli, M. 1999 . Role of interleukin -8 in tumor growth and metastasis of human melanoma pathobiology . 67: 12-18.
- 26- Kitadai, Y.; Takahashi , Y.; Haruma , K.; Naka , K.; Sumii, K.; Yokozaki , H.; Yasui , W.; Mukaida , N .; Ohmoto , Y .; Kajiyama , G .; Fidler , I.J. and Tahara , E. 1999 . Transfection of interleukin -8 increases angiogenesis and tumorigenesis of human gastric carcinoma cells in nude mice .*Br.J. Cancer* .81:647 - 653 .
- 27- Nelson , A.R.; Fingleton , B.; Rothenberg, M.L. and Matrisian ,L. tissue localization type 1,2 and 3 MMPs in human urothelial carcinomas . *J . Urol* . 160 : 1540 – 1545 .

35- Slaton , J.W ; Karashima , T.; Perrotte , P.; Inoue , K. ; Kim , S.J; Izawa, J. ; Kedar , D. ; McConkey , D.J; Millikan , R.; Sweeney , P. ; Yoshikawa, Ch. ; Shuin , T. and Dinney , C.P.2001 . Treatment with

low dose interferon alpha restores the balance between MMP-9 and E-cadherin expression in human transitional cell carcinoma of the bladder . Clin. Cancer Res.7 :2840-2853 .

## **Cytoplasmic expression of matrix metalloproteinases (MMP-2, MMP-9) in transitional cell carcinoma of the urinary bladder**

*May K. Ismail \**      *Ghanema S. Mohammed\**      *Kalid T. AL-Naib\*\**

\*Dept. of Biology College of Science/Baghdad university

\*\*Dept. of Microbiology/College of Medicine/AL-Nahrain university

### **Abstract:**

This study was designed by using 36 paraffin embedded tumor tissues obtained from TCC patients , 27 patients were males and 9 were females with male to female ratio of 3:1 . the mean patients age was 60 years (range between 35 and 97 years ) .

According to the histopathological reports; malignant tissues were classified in to grades( I , II , III ) each one consist of 12 biopsies; and stages (Ta,T1,T2) each one consist of (3,25,8) biopsies respectively. 10 normal bladder tissues (autopsies) obtained from forensic medicine institute of 6 males and 4 females their age ranged between 36 and 65 years .

All specimens undergone to Immunohistochemistry technique to investigate the cytoplasmic expression of MMP-2, MMP-9 which showed a significant increase in malignant tissues compared with the normal tissues (P<0.05).

According to the histopathological criteria of malignant tissues ; MMP-2 and MMP-9 showed a positive relation with tumor grade progression ; so cytoplasmic expression of there enzymes was increased with tumor grade increase (p<0.05) , (p<0.05) respectively

From this study we conclude that overexpression of MMP-2 , MMP-9 are correlated with TCC invasion and progression .