

# Przydatność metaloproteinazy 9 (MMP-9) w diagnostyce raka jajnika

## The utility of metalloproteinase 9 (MMP-9) in diagnostics of ovarian cancer

Aleksandra Kicman<sup>1</sup>, Julita Kołos<sup>2</sup>, Joanna Motyka<sup>2</sup>, Monika Kulesza<sup>2</sup>, Marek Niczyporuk<sup>1</sup>, Maciej Szmitkowski<sup>3</sup>, Sławomir Ławicki<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Zakład Medycyny Estetycznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, Białystok, Polska

<sup>2</sup>Zakład Medycyny Populacyjnej i Prewencji Chorób Cywilizacyjnych Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, Białystok, Polska

<sup>3</sup>Zakład Diagnostyki Biochemicznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, Białystok, Polska

### Streszczenie

Raka jajnika cechuje rosnąca zachorowalność i wysoka śmiertelność, co przekłada się na konieczność poszukiwania i wdrażania nowych metod, umożliwiających wczesne wykrywanie i skuteczne leczenie tego nowotworu. Do takich metod można zaliczyć oznaczanie markerów nowotworowych, którymi mogą być np. metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej (MMPs; ang. *matrix metalloproteinases*). W diagnostyce raka jajnika szczególnym zainteresowaniem cieszy się metaloproteinaza 9 (MMP-9), której przypisuje się istotne znaczenie w procesie karcynogenezy, szczególnie podczas migracji i inwazji komórek nowotworowych, tworzeniu odległych przerzutów oraz angiogenezie. Wstępne wyniki badań wykazały, że ekspresja tkankowa oraz surowicze stężenie MMP-9 wzrasta u pacjentek z nowotworami jajnika, dodatkowo korelując ze stopniem zaawansowania i występowaniem przerzutów. Konieczne jest przeprowadzenie większej ilości badań oceniających przydatność MMP-9, jednak uzyskane już wyniki pokazują, że może być ona pomocnym parametrem również w łącznej analizie z markerami standardowo oznaczanymi w diagnostyce raka jajnika, tj. z CA 125 i HE-4. Celem pracy jest przedstawienie, opierając się na danych literaturowych, potencjalnej przydatności MMP-9 w diagnostyce i monitorowaniu raka jajnika.

**Słowa kluczowe:** karcynogeneza, markery nowotworowe, metaloproteinaza-9, metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej, rak jajnika

### Abstract

Ovarian cancer is characterized by increasing morbidity and high mortality, which translates into the necessity of searching and implementing new methods enabling early detection and effective treatment of this cancer. Such methods may include the determination of tumour markers, such as extracellular matrix metalloproteinases. In the diagnosis of ovarian cancer, metalloproteinase 9 (MMP-9) is of particular interest. MMP-9 is important in the process of carcinogenesis through its involvement in, among other things, tumour cell migration and invasion, metastasis formation, and angiogenesis. Preliminary results showed that tissue expression and serum levels of MMP-9 increase in patients with ovarian cancer, further correlating with stage and presence of metastases. However, more studies are needed to assess the usefulness of MMP-9, but the results already obtained show that it can be a useful parameter also in a combined analysis with markers standardly determined in the diagnosis of ovarian cancer, i.e. CA 125 and HE-4. The aim of this study is to present, based on literature data, the potential usefulness of MMP-9 in the diagnosis and monitoring of ovarian cancer.

**Keywords:** carcinogenesis, extracellular matrix metalloproteinases, metalloproteinase-9, ovarian cancer, tumour markers

**Received:** 13.01.2022

**Accepted:** 27.04.2022

**Published:** 23.06.2022

**DOI:** 10.5604/01.3001.0015.8844

#### Corresponding author:

prof. dr hab. n. med. Sławomir Ławicki, Zakład Medycyny Populacyjnej i Prewencji Chorób Cywilizacyjnych Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, 15-269 Białystok, ul. Waszyngtona 13a, tel.: +48 85 68 65 371, e-mail: slawicki@umb.edu.pl

#### Cite the article as:

Kicman A., Kołos J., Motyka J., Kulesza M., Niczyporuk M., Szmitkowski M., Ławicki S.: The utility of metalloproteinase 9 (MMP-9) in diagnostics of ovarian cancer. *Diagn Lab.* 2021; 57(3): 179–187



#### Open access

The content of the journal is available in Open Access formula which means free access to scientific data for researchers and readers.



#### Copyright

This material is available under the Creative Commons – Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0). The full terms of this license are available on: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/legalcode>

#### Licence

Some right reserved: Polish Society of Laboratory Diagnostics. Published by Index Copernicus Sp. z o.o.

#### Conflict of interests

The authors declare that they have no competing interests.

## RAK JAJNIKA – EPIDEMIOLOGIA, OBJAWY I CZYNNIKI RYZYKA

Jednym z najczęściej występujących złośliwych nowotworów układu rozrodczego jest rak jajnika, zajmując trzecie miejsce, zaraz po rakach szyjki macicy oraz endometrium. Szacuje się, że prawdopodobieństwo zachorowania na raka jajnika wynosi około 2,7% [1]. W 90% przypadków nowotwory jajnika mają pochodzenie nabłonkowe (rak jajnika).

Raki jajnika stanowią zróżnicowaną pod względem molekularnym grupę nowotworów, co jest podstawą ich podziału na 2 typy:

Typ I – rak jajnika o niskiej złośliwości (*low-grade*) stanowi 25% nowotworów tego narządu. Typ ten stanowią dojrzałe raki surowicze i endometrioidalne, raki śluzowe i raki jasnokomórkowe. Wywodzą się z nabłonka jajnika. Rak ten rozwija się na podłożu łagodnych nowotworów jajnika lub nowotworów o granicznej złośliwości (*borderline tumours*). Prekursorem raków Typu I może być endometrioza. Raki jajnika Typu I charakteryzują się dobrym rokowaniem i wolnym wzrostem. 5-letnie przeżycie obserwowane się u ok 55% chorych.

Typ II – rak jajnika o niskim stopniu dojrzałości i wysokim stopniu złośliwości (*high-grade*) – stanowi 75% nowotworów tego narządu. Wywodzą się najprawdopodobniej z dystalnego lub strzępkowego odcinka jajowodu. Przeżycie 5-letnie nie przekracza 30% [2-4]. Międzynarodowa Federacja Ginekologii i Położnictwa (FIGO) sklasyfikowała poziom zaawansowania raka jajnika w czterostopniowej skali: I – guz obejmujący jajniki, II – guz obejmujący 1 lub 2 jajniki naciekający tkanki miednicy mniejszej, III – guz zajmujący 1 lub 2 jajniki, potwierdzony mikroskopowo, przerzutujący poza miednicę mniejszą i/lub z zajęciem sąsiadujących węzłów chłonnych, IV – występujące przerzuty odległe [5, 6].

Niekorzystne rokowania w przebiegu raka jajnika wynikają przede wszystkim z bezobjawowego przebiegu choroby. Z tego względu często nazywany jest on „cichym zabójcą”. Większość chorych diagnozowana jest w momencie powstania przerzutów nowotworowych, najczęściej w obrębie wątroby, mózgu, płuc i kości – w III lub IV stadium, zgodnie z klasyfikacją FIGO. Do mało specyficznych objawów zgłaszanych przez chore zaliczyć można ból pleców i miednicy, dyskomfort i ból w jamie brzusznej – zwykle mylone przez chorą z dolegliwościami menstruacyjnymi – oraz objawy ze strony układu moczowego, takie jak nadmierne parcie na mocz czy też wielomocz. Część chorych zgłasza również ból lub krwawienie podczas stosunku płciowego oraz nieprawidłowe krwawienia postmenopauzalne. Wraz z rozwojem nowotworu i powstawaniem przerzutów u pacjentek mogą wystąpić objawy dodatkowe, takie jak niedrożność jelit czy też moczowodu oraz wodobrzusze [2-4, 7].

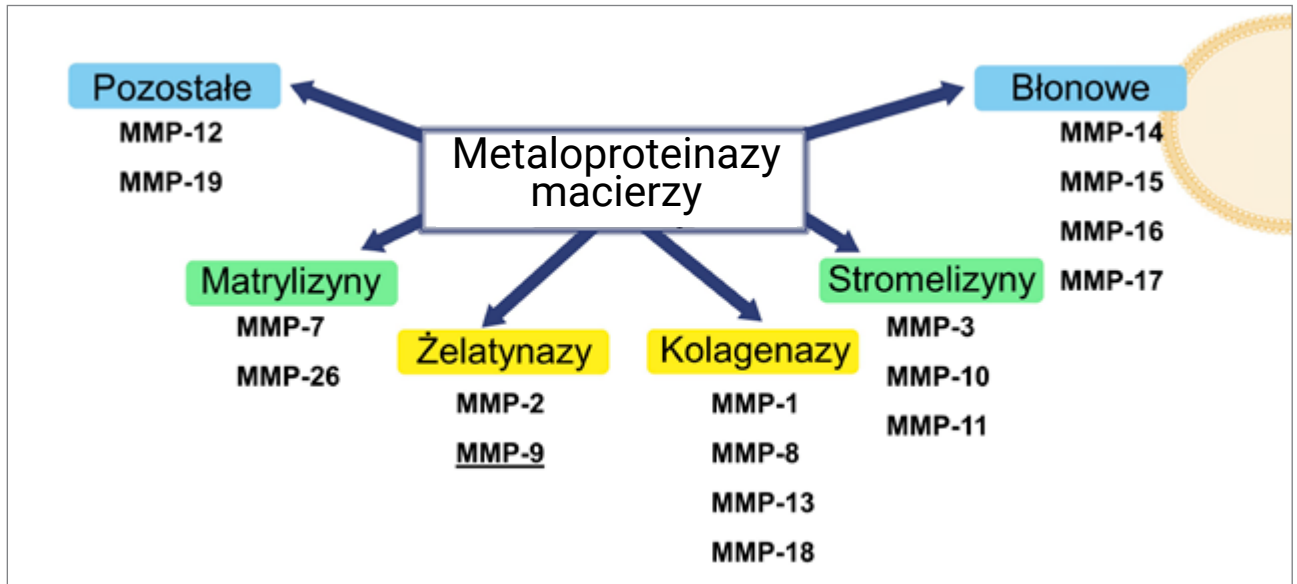
Patogeneza raka jajnika jest złożonym procesem, na który nakłada się szereg czynników ryzyka oraz ochronnych. Do dwóch najsilniejszych czynników ryzyka zaliczane są wiek oraz uwarunkowania genetyczne. Ryzyko wystąpienia raka jajnika rośnie

wraz z wiekiem kobiety, a nowotwór ten najczęściej występuje po 65. roku życia, przed 40. rokiem jest diagnozowany rzadko. W Polsce przedział wiekowy wystąpienia raka jajnika wynosi 45-59 lat [1, 3, 8, 9].

Predyspozycja genetyczna do wystąpienia raka jajnika ujawnia się przede wszystkim jako dziedziczny rak jajnika, dziedziczny rak jajnika i piersi (HBOC; ang. *hereditary breast-ovarian cancer*) oraz zespół Lyncha (dziedziczny rak jelita grubego niezwiązany z polipowatością, HNPCC; ang. *hereditary non-polyposis colorectal cancer*) [9]. Szczególnie narażone są kobiety, których matki lub siostry chorowały na raka jajnika. Należy nadmienić, że również inne nowotwory, takie jak rak endometrium lub rak piersi zwiększają ryzyko wystąpienia raka jajnika u danej kobiety [1]. Szacuje się, że ponad 50% przypadków uwarunkowanego genetycznie raka jajnika jest związana z mutacjami w genach supresorowych *BRCA1* i *BRCA2*. Geny te zaangażowane są w naprawę pęknięć podwójnej helisy DNA, a utrata ich funkcji prowadzi do niestabilności genomu i w konsekwencji do transformacji nowotworowej komórki [1, 10]. Co ciekawe, u kobiet ze stwierdzonymi mutacjami *BRCA1/BRCA2*, stosowanie doustnej antykoncepcji hormonalnej ma działanie protekcyjne na potencjalne wystąpienie raka jajnika [8]. Zespół Lyncha opowiada za około 10-15% przypadków genetycznie uwarunkowanego raka jajnika i związany jest z mutacjami genów odpowiedzialnych za naprawę błędnie sparowanych zasad DNA. Zwykle związany jest ze wzrostem ryzyka zachorowania na raka jelita grubego, jednak chore z tym zespołem mają również tendencję do zwiększonej zachorowalności na raka jajnika [1, 11].

Do innych dobrze udokumentowanych czynników ryzyka zaliczyć można endometriozę. Kobiety z endometriozą, zwłaszcza zlokalizowaną w obrębie jajników, są w grupie podwyższonego ryzyka rozwoju raka jajnika [12]. Patogeneza raka jajnika związanego z endometriozą (EAO; ang. *endometriosis-associated ovarian cancer*) jest skomplikowanym procesem, obejmującym między innymi: działanie stresu oksydacyjnego, stanu zapalnego, hiperestrogenizmu oraz zaburzeń genetycznych [13]. Również wpływ otyłości na ryzyko wystąpienia raka jajnika został dokładnie zbadany. Zgodnie z danymi literaturowymi, kobiety z wyższym BMI (ang. *body mass index*) należą do grupy podwyższonego ryzyka wystąpienia raka jajnika, co związane jest z konwersją androgenów w tkankach obwodowych, a dodatkowo otyłość pacjentek ze zdiagnozowanym rakiem jajnika wpływa niekorzystnie na rokowania w porównaniu do chorych z prawidłową masą ciała [1]. Rola innych czynników, takich jak: alkohol, palenie papierosów, nadmierna konsumpcja kofeiny, stan zapalny w obrębie narządów miednicy mniejszej, wiek pierwszej miesiączki, późniejsza menopauza, kontakt z azbestem i talkiem nie został dokładnie przebadany, jednak sugeruje się ich negatywny wpływ na potencjalny rozwój raka jajnika [1, 8, 9, 14].

W równie niewielkim stopniu przebadano wpływ czynników protekcyjnych. Wykazano, że wspomniane wcześniej doustne środki antykoncepcyjne, nawet przyjmowane w niskich dawkach, zmniejszają ryzyko wystąpienia raka jajnika [1, 9, 14, 15].



Rycina 1. Podział metaloproteinaz (opracowanie własne).

Badania wskazują również na protekcyjne działanie ciąży. U nieródek wzrasta prawdopodobieństwo rozwoju raka jajnika w porównaniu do wieloródek, a każda kolejna ciąża dodatkowo wpływa na dalszy spadek ryzyka. Co ciekawe, zajście w ciążę w późniejszym wieku również wykazało działanie protekcyjne w rozwoju tego typu nowotworu [1, 9, 16, 17]. Do innych czynników ochronnych zaliczyć można także karmienie piersią. Zgodnie z szacunkami, laktacja zmniejsza o 22% ryzyko wystąpienia raka jajnika, zwłaszcza typu endometrioidalnego [1, 9, 18]. U kobiet ze stwierdzonymi mutacjami w genach *BRCA1/BRCA2* lub chorujących na zespół Lyncha ryzyko rozwoju raka jajnika maleje po wykonaniu profilaktycznej operacji usunięcia jajników i jajowodów, ponadto należy podkreślić, że sam zabieg podwiązania jajowodów zdecydowanie zmniejsza ryzyko rozwoju raka u tych kobiet [1, 19]. Zapobiegawczo działa także stosowanie zbilansowanej diety z małą ilością cholesterolu oraz aktywność fizyczna [1, 9, 20].

Mimo dostępnych metod diagnostycznych, takich jak badania obrazowe lub laboratoryjne, rak jajnika wciąż zajmuje jedno z czołowych miejsc jako przyczyna zgonów kobiet z diagnozowaną chorobą nowotworową [1]. Jedną z dostępnych metod, wspomagających wcześniejsze wykrycie raka jajnika, jest algorytm ROMA, wyznaczany na podstawie oceny stężeń dwóch markerów nowotworowych – CA 125 i HE-4, przy jednoczesnym uwzględnieniu statusu menopauzalnego pacjentki. Czulość algorytmu ROMA dla kobiet przed menopauzą wynosi 76%, zaś dla kobiet po menopauzie – 92,3% [21, 22]. Zarówno ROMA, jak i inne indeksy wskazują nam tylko ryzyko wystąpienia u badanej kobiety raka. Stąd nadal poszukuje się bardziej czułych i swoistych markerów, które umożliwiłyby wykrycie raka jajnika we wcześniejszym stadium choroby, które pozwoliłoby na szybsze wdrożenie leczenia, co przekładałoby się z kolei na się na lepsze rokowania chorych. Obiecujące wyniki przedstawiają oznaczenia stężeń metaloproteinaz macierzy (MMPs), a zwłaszcza metaloproteinazy 9 (MMP-9).

## FUNKCJE METALOPROTEINAZ W WARUNKACH FIZJOLOGICZNYCH I PATOLOGICZNYCH

Metaloproteiny macierzy to grupa enzymów proteolitycznych, których aktywność jest zależna od jonów cynku. W organizmie człowieka zidentyfikowano 23 metaloproteiny, a na podstawie ich budowy można je podzielić na następujące grupy: stromelizyny, matrylizyny, kolagenazy, żelatynazy, błonowe MMPs i pozostałe typy MMPs. Podział MMPs wraz z przykładami został przedstawiony na rycinie 1. Metaloproteiny produkowane są przez różne typy komórek, m.in.: komórki mięśni gładkich, leukocyty, fibroblasty, komórki endothelium oraz komórki nowotworowe. Do środowiska pozakomórkowego MMPs wydzielane są w formie nieaktywnych zymogenów, a właściwości enzymatycznych nabierają po ograniczonej proteolizie przy udziale endopeptydaz. Proteolityczna aktywność MMPs jest regulowana przez tkankowe inhibitory metaloproteinaz (TIMPs; ang. *tissue inhibitors of metalloproteinases*). TIMPs, które łącząc się kowalencyjnie z daną metaloproteinazą lub jej formą prekursorową (proMMPs), hamują jej aktywność. W organizmie człowieka zidentyfikowano 4 rodzaje TIMPs. Wykazano, że aktywność metaloproteinaz może być również kontrolowana przez niespecyficzne inhibitory –  $\alpha$ 1-antytrypsynę i  $\alpha$ 2-makroglobulinę [23-28].

Podstawową funkcją enzymów z grupy metaloproteinaz jest degradacja składowych macierzy pozakomórkowej, ponadto biorą udział w rozkładzie innych enzymów proteolitycznych, czynników wzrostu, cytokin oraz receptorów. Fizjologiczna rola MMPs obejmuje również regulację procesów związanych z gojeniem ran, *remodelingiem* tkanek, różnicowaniem i proliferacją komórek oraz apoptozą. Wykazano istotną rolę tych enzymów w okresie prenatalnym, gdzie uczestniczą w przebiegu embriogenezy i organogenezy, ze szczególnym uwzględnieniem rozwoju układu sercowo-naczyniowego oraz oddechowego [25, 27-29].

Rola MMPs nie ogranicza się wyłącznie do procesów fizjologicznych, gdyż wykazano, że dysregulacja aktywności tych enzymów związana jest z wielokierunkową progresją chorób układu sercowo-naczyniowego (tętniaki aorty i wewnątrzczaszkowe, miażdżycza tętnic, choroba niedokrwienna serca, patologiczny *remodeling* mięśnia sercowego, nadciśnienie tętnicze) [26, 28, 30, 31], nerwowego (choroba Parkinsona, choroba Alzheimera, stwardnienie zanikowe boczne, stwardnienie rozsiane, choroba Huntingtona) [26, 32, 33], układu wydalniczego (fibroza nerek, przewlekła choroba nerek, nefropatia cukrzycowa) [26, 34, 35], układu oddechowego (astma, przewlekła obturacyjna choroba płuc, włóknienie płuc, rozedma płuc) [26, 36, 37] i wątroby (włóknienie wątroby) [26, 38].

Metaloproteinazy odgrywają istotną rolę we wszystkich stadiach procesu karcynogenezy.

W obrębie zmiany nowotworowej enzymy te produkowane są przez komórki nowotworowe oraz komórki tworzące podścielisko guza. MMPs oddziałują między innymi na proliferację, różnicowanie, migrację i inwazję komórek nowotworowych oraz stymulują angiogenezę w obrębie nowotworu. W początkowym etapie choroby nowotworowej indukują uszkodzenia DNA i wynikającą z nich niestabilność genomową. Na etapie progresji szczególnie istotną rolę MMPs jest wspomniana stymulacja angiogenezy, umożliwiającą dalszy przyrost masy guza [39]. W późniejszych stadiach choroby działanie MMPs związane jest z powstawaniem ognisk przerzutowych, co wynika głównie z ich właściwości proteolitycznych, umożliwiających trawienie macierzy pozakomórkowej [26, 27, 40, 41].

## METALOPROTEINAZA 9 – SYNTEZA, BUDOWA I FUNKCJE FIZJOLOGICZNE

Metaloproteinaza 9 (żelatynaza B, kolaganeaza IV) należy do grupy żelatynaz i jest obecnie jednym z najlepiej poznanych enzymów z grupy MMPs. Do substratów MMP-9 zaliczyć można: kolagen typu IV, V oraz XI, elastynę, agrekan, lamininę, fibronektynę, kazeinę, chemokiny, a także intereuliny 1 i 8 [28].

Gen kodujący MMP-9 znajduje się na chromosomie 20 w *locus* q13.12 i zbudowany jest z 13 eksonów oraz 12 intronów [42, 43]. Ludzkie białko MMP-9 składa się z: sygnałowego peptydu N-końcowego, prodomeny, domeny katalitycznej, regionu zawiasowego oraz domeny podobnej do hemopeksyny. Sygnałowy peptyd N-końcowy odpowiada za transport enzymu do miejsca sekrecji. Prodomena utrzymuje MMP-9 w formie nieaktywnej, a w wyniku aktywacji enzymu fragment ten jest usuwany. Za proteolityczne właściwości MMP-9 odpowiada domena katalityczna, zawierająca centrum aktywne, miejsce wiążące cynk oraz 3 domeny fibronektyny. Aktywność enzymatyczna MMP-9 jest zależna od jonów  $Zn^{2+}$ . Domena katalityczna łączy się z domeną podobną do hemopeksyny za pomocą regionu zawiasowego, który dzięki swojej elastycznej strukturze warunkuje prawidłowe funkcjonowanie domeny katalitycznej. Domena podobna do hemopeksyny odpowiada głównie za rozpoznawanie i wiązanie

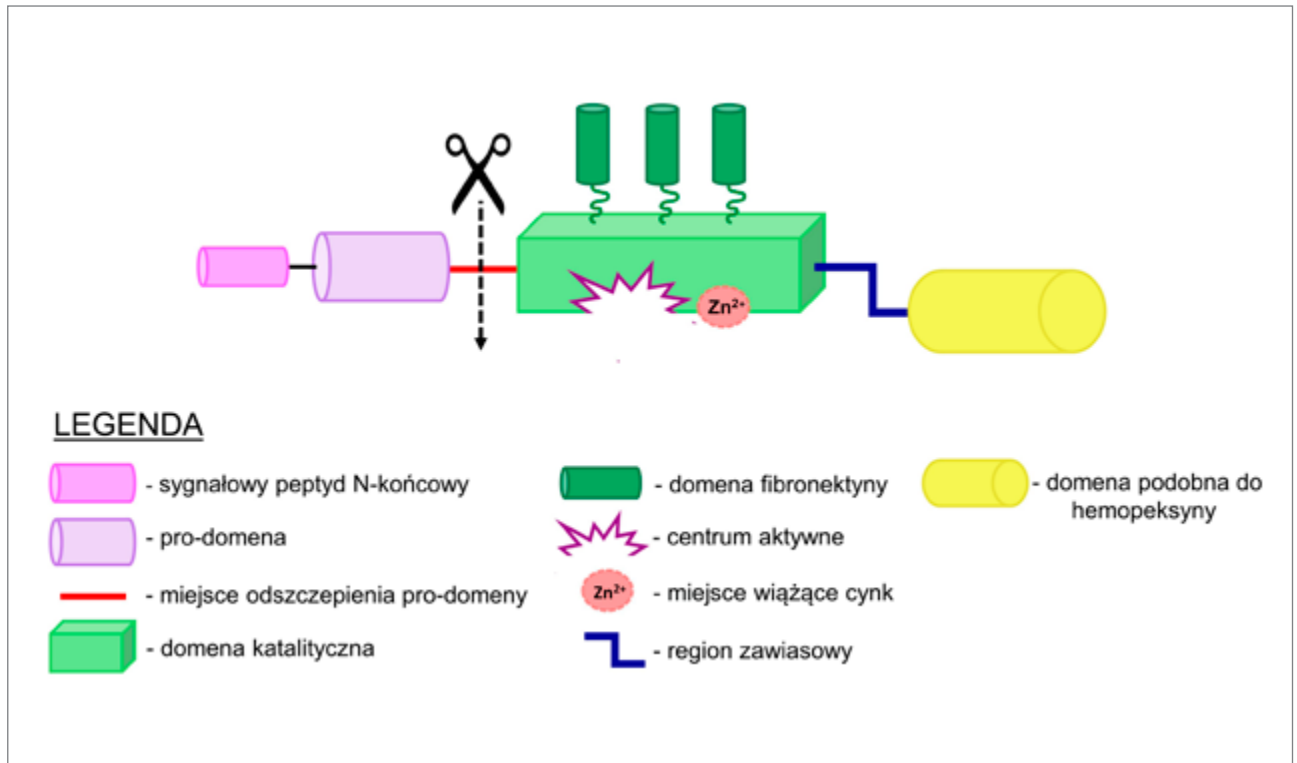
substratów MMP-9. Ponadto TIMPs, wiążąc się z MMP-9 poprzez domenę podobną do hemopeksyny, hamuje jego aktywność enzymatyczną. Dowiedziono, że najwyższe powinowactwo do MMP-9 wykazuje TIMP-1. MMP-9 może występować w różnych formach, m.in. monomerów, oligomerów lub w połączeniu z innymi cząsteczkami, takimi jak np. lipokaina, związaną z żelatynazą neutrofilii. W ludzkich tkankach najczęściej występującą postacią MMP-9 jest forma monomeru, która została schematycznie przedstawiona na rycinie 2 [26, 28, 42-44].

W komórkach MMP-9 syntetyzowana jest jako preproenzym, a następnie uwalniany do środowiska pozakomórkowego jako nieaktywny proenzym (proMMP-9). Aktywna forma MMP-9 powstaje w wyniku aktywności innych enzymów, takich jak: metaloproteinaza-2 (MMP-2; ang. *matrix metalloproteinase-2*), metaloproteinaza-3 (MMP-3; ang. *matrix metalloproteinase-3*), urokinazowy aktywator plazminogenu lub plazmina, które odszczepiają wspomnianą wcześniej prodomenę od cząsteczki proMMP-9 [42-44]. Metaloproteinaza-9, w formie proenzymu, produkowana jest przez liczne typy komórek, m.in.: granulocyty, makrofagi, limfocyty T, osteoblasty, keratynocyty, fibroblasty, komórki nabłonkowe oraz dendrytyczne [28, 42].

MMP-9 zaangażowana jest w różnorodne fizjologiczne i patologiczne procesy biologiczne. Ze względu na proteolityczne właściwości, MMP-9 bierze udział w degradacji macierzy pozakomórkowej oraz innych białek, a także regulacji oddziaływania komórka–komórka oraz komórka–składowe macierzy pozakomórkowej [42]. Podobnie jak inne enzymy z tej grupy, MMP-9 uczestniczy w: gojeniu ran, organogenezie i embriogenezie, implantacji zarodka, a także w obkurczaniu się macicy po porodzie oraz wyrzynaniu zębów [25, 27-29, 42].

## ROLA METALOPROTEINAZY-9 W PROCESIE KARCINOGENEZY

Podobnie jak inne MMPs, również MMP-9 jest szeroko zaangażowana w wszystkie etapy karcynogenezy, przyczyniając się do rozwoju i progresji nowotworu. Zwiększoną ekspresję i/lub stężenie MMP-9 obserwuje się w nowotworach różnego typu, w tym w raku piersi [45, 46], raku płuc [47] oraz glejaku [48]. Wiązało się to z gorszym rokowaniem dla pacjentów. Co ciekawe, w raku okrężnicy, związanym z stanem zapalnym, MMP-9 wykazuje właściwości protekcyjne i antytumorigenne [49, 50]. Wykazano negatywną rolę MMP-9 już na etapie inicjacji nowotworowej, gdzie indukowała niestabilność genomową [51-53]. Obecnie dokładny mechanizm uszkodzenia DNA przez MMP-9 nie został poznany, jednak inny enzym z grupy żelatynaz – MMP-2 – lokalizuje się w jądrze komórkowym i degraduje białka odpowiedzialne za naprawę uszkodzeń DNA [54]. Możliwe, że również MMP-9 indukuje niestabilność genomową w podobny sposób, jednak wymaga to dalszych badań. Na etapie progresji guza rola MMP-9 związana jest głównie z indukcją angiogenezy oraz proliferacji komórek, co przekłada się na wzrost masy guza [42]. Proangiogenne właściwości MMP-9 wykazano m. in. w modelach raka trzustki [55] i skóry [56]. Co ważne,



**Rycina 2.** Schematyczne przedstawienie budowy cząsteczki MMP-9 (opracowanie własne).

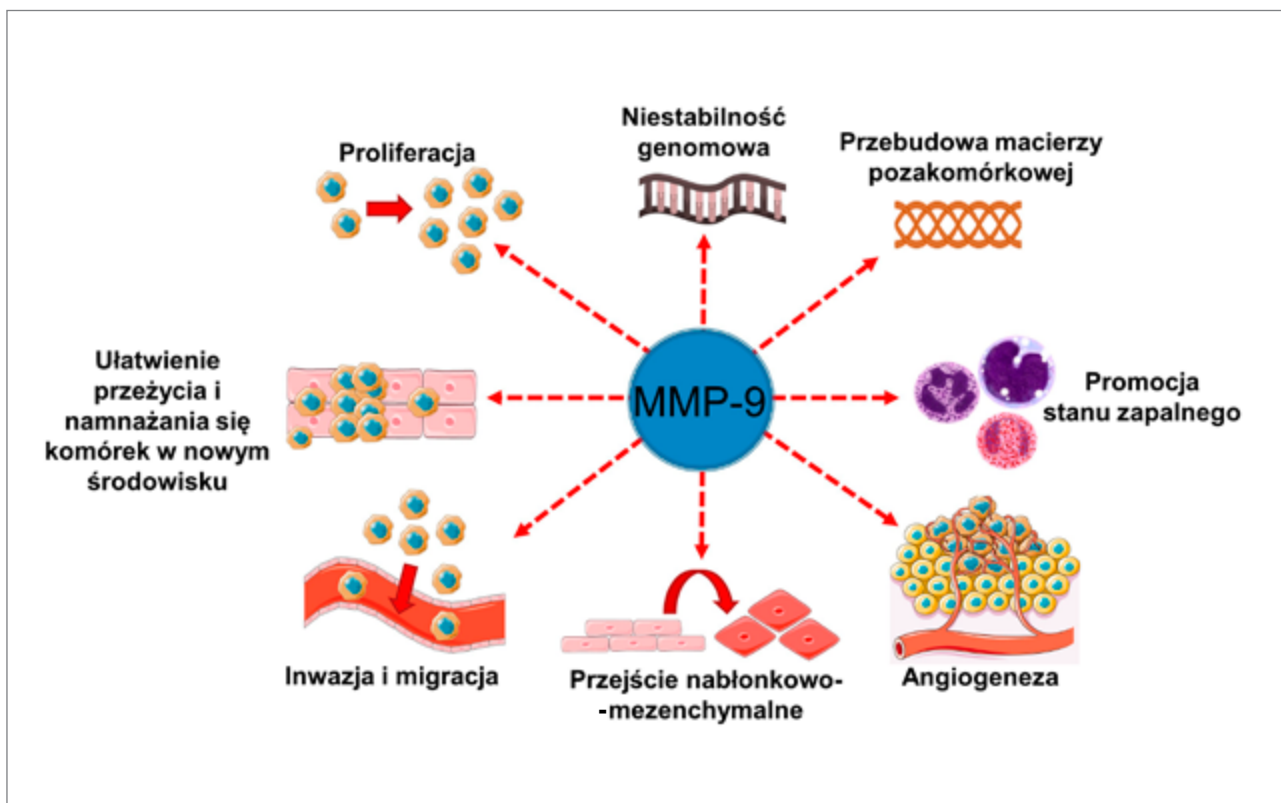
MMP-9 zwiększa biodostępność czynnika wzrostu śródbłonna naczyniowego (VEGF; ang. *vascular endothelial growth factor*), który również stymuluje procesy tworzenia naczyń krwionośnych [55, 57]. Wpływ MMP-9 na progresję zmiany nowotworowej wiązał się głównie z indukcją powstawania ognisk przerzutowych. MMP-9 stymuluje migrację i inwazję komórek nowotworowych co, przy jednoczesnej przebudowie macierzy pozakomórkowej, indukcji przejścia nabłonkowo-mezenchymalnego (EMT; ang. *Epithelial-Mesenchymal Transition*) oraz stanu zapalnego, a także ułatwieniu przeżycia i namnażania się komórek nowotworowych w nowym mikrośrodkowisku, zwiększa ryzyko powstania przerzutów [42, 53, 58]. Podsumowanie właściwości MMP-9 w procesach karcynogenezy przedstawiono na rycinie 3.

## ROLA METALOPROTEINAZY-9 W RAKU JAJNIKA

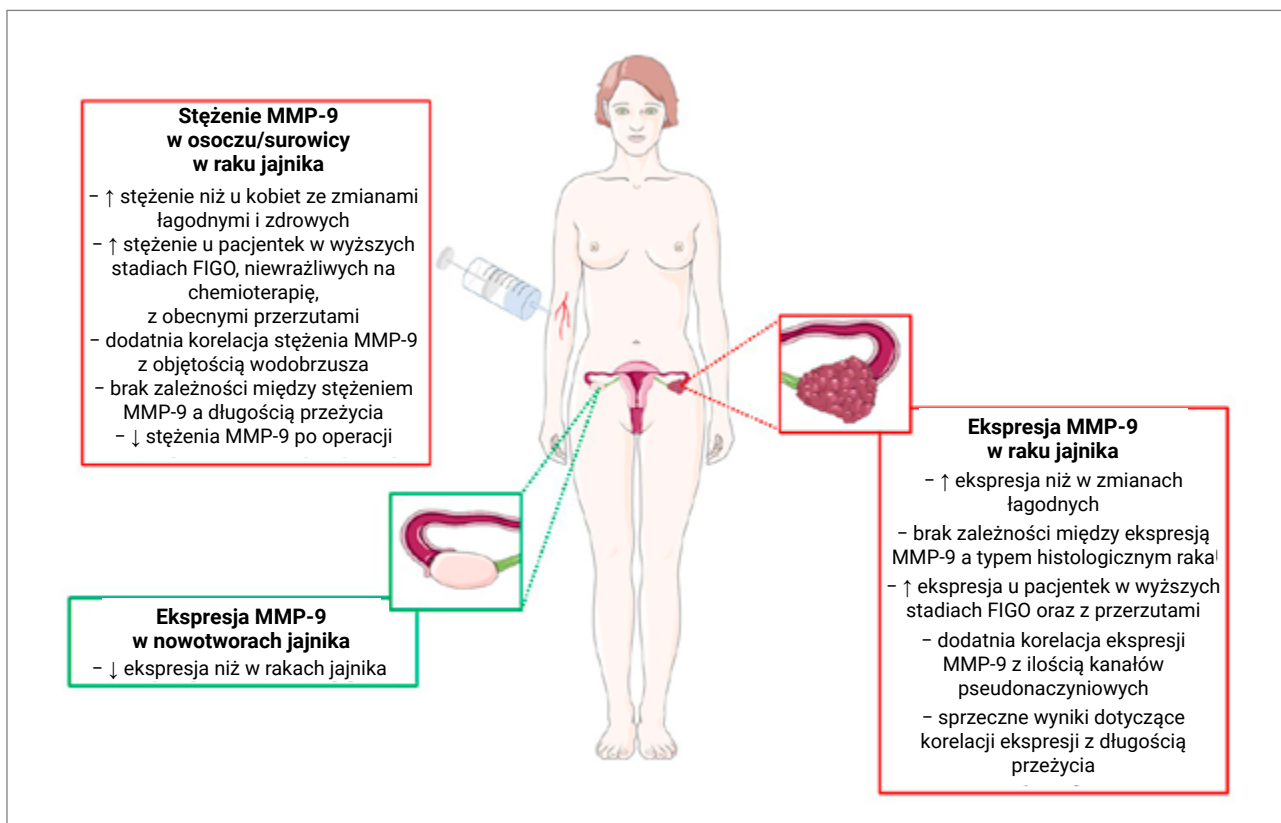
W prawidłowej tkance jajnika nie stwierdza się ekspresji MMP-9 [61, 64] lub jest ona niska [59, 61], natomiast komórki zrębu – otaczającego zmianę nowotworową – wykazują ekspresję MMP-9 [62, 63]. U pacjentek z rakiem jajnika wykazano większą ekspresję MMP-9 w porównaniu do chorych ze zmianami łagodnymi [60, 61]. W większości prac badawczych nie stwierdzono zależności między ekspresją MMP-9 a typem histologicznym raka jajnika [59, 61], w pojedynczych badaniach wykazano, że najwyższą ekspresją MMP-9 cechowały się komórki raka surowicznego nisko zróżnicowanego [62]. Natomiast obserwowano ścisłą zależność pomiędzy nasileniem ekspresji MMP-9 a stadium zaawansowania choroby – w III i IV stadium zaawansowania według FIGO ekspresja MMP-9 była wyższa niż w stadiach mniej zaawansowanych

[59, 61, 64]. Ponadto u pacjentek ze stwierdzonymi ogniskami przerzutowymi ekspresja MMP-9 była wyższa niż u pacjentek bez ognisk przerzutowych [60, 64]. Wykazano również dodatnią korelację poziomu MMP-9 z ilością kanałów pseudonaczyniowych, powstałych w tkance nowotworowej [61]. Tworzenie się kanałów pseudonaczyniowych związane jest z tzw. zjawiskiem „mimikry naczyniopochodnej/naczyniowej”, która polega na przekształcaniu się komórek nowotworowych w komórki podobne strukturalnie do śródbłonna i formowaniu struktur podobnych do naczyń. Struktury te, poza zaspokajaniem potrzeb metabolicznych rosnącej tkanki nowotworowej, stanowią alternatywną drogę do wynacznienia komórek nowotworowych i w rezultacie powstawania przerzutów [66-68]. Doniesienia o korelacji ekspresji MMP-9 i czasu przeżywalności chorych są sprzeczne. Zgodnie z Hu i wsp. [59] średni czas przeżycia chorych z rakiem jajnika o wysokiej ekspresji MMP-9 był znacznie niższy od chorych z rakiem jajnika o niskiej ekspresji MMP-9, natomiast badania przeprowadzone przez Sillanpää i wsp. [63] wykazały odwrotną zależność. Badano również ekspresję nieaktywnej formy proMMP-9 w komórkach raka jajnika, dla której wyniki badań wskazywały, że w zmianach rakowych ekspresja proenzymu była wyższa niż w zmianach łagodnych. Ponadto nadekspresja proMMP-9 wiązała się z gorszymi wskaźnikami przeżywalności [65].

Wstępna użyteczność w oznaczaniu MMP-9 w krwi obwodowej została określona u chorych z różnymi typami nowotworów, w różnym stopniu zaawansowania klinicznego, takich jak: rak tarczycy [69], płuca [70], piersi [71], przełyku [72], oraz międzybłoniaku [73]. Zgodnie z większością prac badawczych, chore z rakiem jajnika miały wyższe stężenia MMP-9 w surowicy w porównaniu do kobiet ze zmianami łagodnymi lub kobiet zdrowych [59, 74-76].



Rycina 3. Rola MMP-9 w karcynogenezie (opracowanie własne).



Rycina 4. Rola MMP-9 w raku jajnika (opracowanie własne).

Nie stwierdzono różnic w stężeniach MMP-9 między chorymi z rakiem jajnika a kobietami ze zmianami złośliwymi nienabłonkowymi w jajniku [75]. Ponadto donoszono o podwyższonym stężeniu MMP-9 w moczu kobiet z rakiem jajnika, u których rutynowy marker CA 125 pozostaje w zakresie normy referencyjnej [77]. Wykazano również wyższe stężenia MMP-9 u chorych w III i IV stadium zaawansowania choroby w porównaniu do chorych w I i II stadium według FIGO [74, 75]. W przypadku oznaczania MMP-9 w osoczu stwierdza się podobną zależność między jego stężeniem a stadium zaawansowania według FIGO [76]. Podwyższone stężenie MMP-9 w surowicy stwierdza się u kobiet niewrażliwych na chemioterapię oraz w obecnych ogniskach przerzutowych [59, 74]. Dodatkowo obserwowano dodatnią korelację między stężeniem MMP-9 a objętością wodobrzusza u kobiet [74]. Pojedyncze badanie nie wykazało zależności między stężeniem MMP-9 w osoczu a wskaźnikami przeżywalności pacjentek [76]. Z kolei Ławicki i wsp., badając poziom MMP-9 i CA 125 w osoczu chorych z rakiem jajnika, w dwóch niezależnych badaniach, wykazali, że największe wartości czułości diagnostycznej uzyskuje się przy łącznym oznaczaniu tych dwóch markerów [78, 79]. Dodatkowo wykazano, że stężenie MMP-9 maleje u chorych po operacji, co wskazuje na możliwość wykorzystania tego enzymu do oceny skuteczności zabiegu chirurgicznego [59]. Nie obserwowano zależności stężenia MMP-9 od typu histologicznego raka jajnika [59, 74]. Podsumowanie wyników prac badawczych dotyczących MMP-9 w nowotworach jajnika przedstawiono na rycinie 4.

## PIŚMIENNICTWO

- Momenimovahed Z, Tiznobaik A, Taheri S, et al. Ovarian cancer in the world: epidemiology and risk factors. *Int J Womens Health*. 2019; 11: 287–299. doi: 10.2147/IJWH.S197604.
- Doubeni CA, Doubeni AR, Myers AE. Diagnosis and Management of Ovarian Cancer. *Am Fam Physician*. 2016; 93(11): 937–944.
- Ravindran F, Choudhary B. Ovarian Cancer: Molecular Classification and Targeted Therapy. In: Gwo-Yaw H, Webber K, (eds.). *Ovarian Cancer – Updates in Tumour Biology and Therapeutics*. IntechOpen, United Kingdom. 2021: 1–21.
- De Leo A, Santini D, Ceccarelli C, et al. What Is New on Ovarian Carcinoma: Integrated Morphologic and Molecular Analysis Following the New 2020 World Health Organization Classification of Female Genital Tumors. *Diagnostics*. 2021; 11(4): 697. doi: 10.3390/diagnostics11040697.
- Zalewski K, Misiek M, Gózdź S, et al. Nowy system klasyfikacji zaawansowania nowotworów jajnika, jajowodu i otrzewnej – stan na 2014 rok. *Onkologia w Praktyce Klinicznej*. 2015; 11(3): 129–134.
- Ohler A, Pawłowski M, Dudziak M, et al. The new FIGO staging system and the review of current methods of detection of ovarian cancer. *Onkol Radioter*. 2015; 32: 9–18.
- Goff BA, Mandel LS, Melancon CH, et al. Frequency of symptoms of ovarian cancer in women presenting to primary care clinics. *JAMA*. 2004; 291(22): 2705–2712. doi: 10.1001/jama.291.22.2705.
- Markowska A, Markowska J. Epidemiologia raka jajnika na świecie i w Polsce. Etiopatogeneza. In: Wcisło G, Szczylik C, (eds.). *Rak jajnika. Patobiologia, diagnostyka i przegląd współczesnych metod leczenia*. Tremedia Wydawnictwa Medyczne, Poznań. 2011: 143–146.
- Zayyan M. Risk Factors for Ovarian Cancer. In: Lasfar A, Cohen-Solal K, (eds.). *Tumor Progression and Metastasis*. IntechOpen, United Kingdom. 2020: 1–27.
- Gorodetska I, Kozeretska I, Dubrovskaya A. BRCA Genes: The Role in Genome Stability, Cancer Stemness and Therapy Resistance. *J Cancer*. 2019; 10(9): 2109–2127. doi:10.7150/jca.30410.
- Toss A, Tomasello C, Razzaboni E, et al. Hereditary ovarian cancer: not only BRCA 1 and 2 genes. *Biomed Res Int*. 2015; 2015: 341723. doi: 10.1155/2015/341723.
- Samartzis EP, Labidi-Galy SI, Moschetta M, et al. Endometriosis-associated ovarian carcinomas: insights into pathogenesis, diagnostics, and therapeutic targets—a narrative review. *Ann Transl Med*. 2020; 8(24): 1712. doi: 10.21037/atm-20-3022a.
- Králíčková M, Laganà AS, Ghezzi F, et al. Endometriosis and risk of ovarian cancer: what do we know? *Arch Gynecol Obstet*. 2020; 301(1): 1–10. doi: 10.1007/s00404-019-05358-8.
- Tsilidis KK, Allen NE, Key TJ, et al. Oral contraceptive use and reproductive factors and risk of ovarian cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Br J Cancer*. 2011; 105(9): 1436–1442. doi: 10.1038/bjc.2011.371.
- Royar J, Becher H, Chang-Claude J. Low-dose oral contraceptives: protective effect on ovarian cancer risk. *Int J Cancer*. 2001; 95(6): 370–374. doi: 10.1002/1097-0215(20011120)95:6<370::aid-ijc1065>3.0.co;2-t.
- Nowak-Markwitz E, Kędzia W, Spaczyński M. Ginekologia onkologiczna. In: Słomko Z, (eds.). *Praktyczna ginekologia onkologiczna*. Wyd Lek PZWL, Warszawa. 2008: 641–655.
- Moorman PG, Calingaert B, Palmieri RT, et al. Hormonal risk factors for ovarian cancer in premenopausal and postmenopausal women. *Am J Epidemiol*. 2008; 167(9): 1059–1069. doi: 10.1093/aje/kwn006.
- Jordan SJ, Cushing-Haugen KL, Wicklund KG, et al. Breast-feeding and risk of epithelial ovarian cancer. *Cancer Causes Control*. 2012; 23(6): 919–927. doi: 10.1007/s10552-012-9963-4.
- Hirst J, Crow J, Godwin A. Ovarian Cancer Genetics: Subtypes and Risk Factors. In: Devaja O, Papadopoulos A, (eds.). *Ovarian Cancer – From Pathogenesis to Treatment*. IntechOpen, United Kingdom. 2018: 1–38.

## PODSUMOWANIE

Rak jajnika jest jednym z najczęściej występujących złośliwych nowotworów układu rozrodczego. Ze względu na zwykle bezobjawowy przebieg choroby, najczęściej wykrywany jest on w zaawansowanym stadium choroby, co przekłada się na niekorzystne rokowanie chorych.

Obecnie wykorzystywane badania laboratoryjne oraz obrazowe nie są wystarczająco skuteczne w wykrywaniu tej choroby. Konieczne jest poszukiwanie nowych metod umożliwiających wykrywanie raka jajnika we wcześniejszym i jednocześnie mniej zaawansowanym stadium choroby, co poprawiłoby rokowania chorych. Duże nadzieje pokładane są w oznaczaniu metaloproteiny 9 (MMP-9), która poza procesami fizjologicznymi bierze też udział we wszystkich etapach karcynogenezy. Podwyższoną ekspresję i/lub stężenie MMP-9 stwierdza się u pacjentek z rakiem jajnika w różnych typach materiału biologicznego, gdzie korelowała m.in. ze stadium zaawansowania choroby, występowaniem przerzutów oraz wskaźnikami przeżywalności. Biorąc pod uwagę obiecujące wyniki badań, MMP-9 mogłaby być stosowana jako marker pomocniczy, oznaczany wraz z CA 125 i HE-4. Należy jednak pogłębić badania dotyczące MMP-9 w celu jednoznacznego określenia przydatności tego enzymu w diagnostyce raka jajnika, zwłaszcza we wczesnych stadiach jego zaawansowania.

20. Sieh W, Salvador S, McGuire V, et al. Tubal ligation and risk of ovarian cancer subtypes: a pooled analysis of case-control studies. *Int J Epidemiol.* 2013; 42(2): 579–589. doi: 10.1093/ije/dyt042.
21. Al Musalhi K, Al Kindi M, Al Aisary F, et al. Evaluation of HE4, CA-125, Risk of Ovarian Malignancy Algorithm (ROMA) and Risk of Malignancy Index (RMI) in the Preoperative Assessment of Patients with Adnexal Mass. *Oman Med J.* 2016; 31(5): 336–344. doi: 10.5001/omj.2016.68.
22. Janas L, Głowacka E, Wilczyński JR, et al. Ocena użyteczności oznaczeń białka HE4 i algorytmu ROMA w przedoperacyjnej diagnostyce guzów przydatków. *Ginekol Pol.* 2015; 86(3): 193–197. doi: 10.17772/gp/2062.
23. Löffek S, Schilling O, Franzke CW. Series "matrix metalloproteinases in lung health and disease": Biological role of matrix metalloproteinases: a critical balance. *Eur Respir J.* 2011; 38(1): 191–208. doi: 10.1183/09031936.00146510.
24. Cui N, Hu M, Khalil RA. Biochemical and Biological Attributes of Matrix Metalloproteinases. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2017; 147: 1–73. doi: 10.1016/bs.pmbts.2017.02.005.
25. Xie Y, Mustafa A, Yezhan A, et al. Nuclear matrix metalloproteinases: functions resemble the evolution from the intracellular to the extracellular compartment. *Cell Death Discov.* 2017; 3: 17036. doi: 10.1038/cddiscovery.2017.36.
26. Raeeszadeh-Sarmazdeh M, Do LD, Hritz BG. Metalloproteinases and Their Inhibitors: Potential for the Development of New Therapeutics. *Cells.* 2020; 9(5): 1313. doi: 10.3390/cells9051313.
27. Roy R, Morad G, Jedinak A, et al. Metalloproteinases and their roles in human cancer. *Anat Rec (Hoboken).* 2020; 303(6): 1557–1572. doi: 10.1002/ar.24188.
28. Laronha H, Caldeira J. Structure and Function of Human Matrix Metalloproteinases. *Cells.* 2020; 9(5): 1076. doi: 10.3390/cells9051076.
29. Cabral-Pacheco GA, Garza-Veloz I, Castruita-De la Rosa C, et al. The Roles of Matrix Metalloproteinases and Their Inhibitors in Human Diseases. *Int J Mol Sci.* 2020; 21(24): 9739. doi: 10.3390/ijms21249739.
30. Azevedo A, Prado AF, Antonio RC, et al. Matrix metalloproteinases are involved in cardiovascular diseases. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2014; 115(4): 301–314. doi: 10.1111/bcpt.12282.
31. Zhang X, Ares WJ, Taussky P, et al. Role of matrix metalloproteinases in the pathogenesis of intracranial aneurysms. *Neurosurg Focus.* 2019; 47(1): E4. doi: 10.3171/2019.4.FOCUS19214.
32. Brkic M, Balusu S, Libert C, et al. Friends or Foes: Matrix Metalloproteinases and Their Multifaceted Roles in Neurodegenerative Diseases. *Mediators Inflamm.* 2015; 2015: 620581. doi: 10.1155/2015/620581.
33. Behl T, Kaur G, Sehgal A, et al. Multifaceted Role of Matrix Metalloproteinases in Neurodegenerative Diseases: Pathophysiological and Therapeutic Perspectives. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(3): 1413. doi: 10.3390/ijms22031413.
34. Zakiyanov O, Kalousová M, Zima T, et al. Matrix Metalloproteinases in Renal Diseases: A Critical Appraisal. *Kidney Blood Press Res.* 2019; 44(3): 298–330. doi: 10.1159/000499876.
35. Parrish AR. Matrix Metalloproteinases in Kidney Disease: Role in Pathogenesis and Potential as a Therapeutic Target. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2017; 148: 31–65. doi: 10.1016/bs.pmbts.2017.03.001.
36. Gueders MM, Foidart JM, Noel A, et al. Matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of MMPs in the respiratory tract: potential implications in asthma and other lung diseases. *Eur J Pharmacol.* 2006; 533(1–3): 133–144. doi: 10.1016/j.ejphar.2005.12.082.
37. Houghton AM. Matrix metalloproteinases in destructive lung disease. *Matrix Biol.* 2015; 44–46: 167–174. doi: 10.1016/j.matbio.2015.02.002.
38. Naim A, Pan Q, Baig MS. Matrix Metalloproteinases (MMPs) in Liver Diseases. *J Clin Exp Hepatol.* 2017; 7(4): 367–372. doi: 10.1016/j.jceh.2017.09.004.
39. Rajabi M, Mousa SA. The Role of Angiogenesis in Cancer Treatment. *Biomedicines.* 2017; 5(2): 34. doi: 10.3390/biomedicines5020034.
40. Gialeli C, Theocharis AD, Karamanos NK. Roles of matrix metalloproteinases in cancer progression and their pharmacological targeting. *FEBS J.* 2011; 278(1): 16–27. doi: 10.1111/j.1742-4658.2010.07919.x.
41. Quintero-Fabián S, Arreola R, Becerril-Villanueva E, et al. Role of Matrix Metalloproteinases in Angiogenesis and Cancer. *Front Oncol.* 2019; 9: 1370. doi: 10.3389/fonc.2019.01370.
42. Huang H. Matrix Metalloproteinase-9 (MMP-9) as a Cancer Biomarker and MMP-9 Biosensors: Recent Advances. *Sensors.* 2018; 18(10): 3249. doi: 10.3390/s18103249.
43. Napoli S, Scuderi C, Gattuso G, et al. Functional Roles of Matrix Metalloproteinases and Their Inhibitors in Melanoma. *Cells.* 2020; 9(5): 1151. doi: 10.3390/cells9051151.
44. Li T, Li X, Feng Y, et al. The Role of Matrix Metalloproteinase-9 in Atherosclerotic Plaque Instability. *Mediators Inflamm.* 2020; 2020: 3872367. doi: 10.1155/2020/3872367.
45. Jiang H, Li H. Prognostic values of tumoral MMP2 and MMP9 overexpression in breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *BMC Cancer.* 2021; 21(1): 149. doi: 10.1186/s12885-021-07860-2.
46. Zhao S, Ma W, Zhang M, et al. High expression of CD147 and MMP-9 is correlated with poor prognosis of triple-negative breast cancer (TNBC) patients. *Med Oncol.* 2013; 30(1): 335. doi: 10.1007/s12032-012-0335-4.
47. Gong L, Wu D, Zou J, et al. Prognostic impact of serum and tissue MMP-9 in non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis. *Oncotarget.* 2016; 7(14): 18458–18468. doi: 10.18632/oncotarget.7607.
48. Zhou W, Yu X, Sun S, et al. Increased expression of MMP-2 and MMP-9 indicates poor prognosis in glioma recurrence. *Bio-med Pharmacother.* 2019; 118: 109369. doi: 10.1016/j.biopha.2019.109369.
49. Garg P, Sarma D, Jeppsson S, et al. Matrix metalloproteinase-9 functions as a tumor suppressor in colitis-associated cancer. *Cancer Res.* 2010; 70(2): 792–801. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-09-3166.
50. Pujada A, Walter L, Patel A, et al. Matrix metalloproteinase MMP9 maintains epithelial barrier function and preserves mucosal lining in colitis associated cancer. *Oncotarget.* 2017; 8(55): 94650–94665. doi: 10.18632/oncotarget.21841.
51. van den Steen PE, Proost P, Wuyts A, et al. Neutrophil gelatinase B potentiates interleukin-8 tenfold by aminoterminal processing, whereas it degrades CTAP-III, PF-4, and GRO-alpha and leaves RANTES and MCP-2 intact. *Blood.* 2000; 96(8): 2673–2681.
52. Hill JW, Poddar R, Thompson JF, et al. Intracellular matrix metalloproteinases promote DNA damage and apoptosis induced by oxygen-glucose deprivation in neurons. *Neuroscience.* 2012; 220: 277–290. doi: 10.1016/j.neuroscience.2012.06.019.
53. Farina AR, Mackay AR. Gelatinase B/MMP-9 in Tumour Pathogenesis and Progression. *Cancers.* 2014; 6(1): 240–296. doi: 10.3390/cancers6010240.
54. Kwan JA, Schulze CJ, Wang W, et al. Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) is present in the nucleus of cardiac myocytes and is capable of cleaving poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) in vitro. *FASEB J.* 2004; 18(6): 690–692. doi: 10.1096/fj.02-1202fje.
55. Bergers G, Brekken R, McMahon G, et al. Matrix metalloproteinase-9 triggers the angiogenic switch during carcinogenesis. *Nat Cell Biol.* 2000; 2(10): 737–744. doi: 10.1038/35036374.
56. Coussens LM, Tinkle CL, Hanahan D, et al. MMP-9 supplied by bone marrow-derived cells contributes to skin carcinogenesis. *Cell.* 2000; 103(3): 481–490. doi: 10.1016/s0092-8674(00)00139-2.
57. Apte RS, Chen DS, Ferrara N. VEGF in Signaling and Disease: Beyond Discovery and Development. *Cell.* 2019; 176(6): 1248–1264. doi: 10.1016/j.cell.2019.01.021.
58. Barillari G. The Impact of Matrix Metalloproteinase-9 on the Sequential Steps of the Metastatic Process. *Int J Mol Sci.* 2020; 21(12): 4526. doi: 10.3390/ijms21124526.



59. Hu X, Li D, Zhang W, et al. Matrix metalloproteinase-9 expression correlates with prognosis and involved in ovarian cancer cell invasion. *Arch Gynecol Obstet.* 2012; 286(6): 1537–1543. doi: 10.1007/s00404-012-2456-6.
60. Sakata K, Shigemasa K, Nagai N, et al. Expression of matrix metalloproteinases (MMP-2, MMP-9, MT1-MMP) and their inhibitors (TIMP-1, TIMP-2) in common epithelial tumors of the ovary. *Int J Oncol.* 2000; 17(4): 673–681.
61. Czekieredowski A, Czekieredowska S, Daniloš J, et al. Mimikra waskulogenna i ekspresja MMP-9 w guzach nowotworowych jajnika u kobiet. *Prz Menopauzalny.* 2012; 2: 108–114.
62. Morales-Vásquez F, Castillo-Sánchez R, Gómora MJ, et al. Expression of metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 is associated to the presence of androgen receptor in epithelial ovarian tumors. *J Ovarian Res.* 2020; 13(1): 86. doi: 10.1186/s13048-020-00676-x.
63. Sillanpää S, Anttila M, Voutilainen K, et al. Prognostic significance of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* 2007; 104(2): 296–303. doi: 10.1016/j.ygyno.2006.09.004.
64. Wei S, Juan C, Xiurong L, et al. Study on the expression of MMP-9 and NF- $\kappa$ B proteins in epithelial ovarian cancer tissue and their clinical value. *BIO Web Conf.* 2017; 8: 01059. doi: 10.1051/bio-conf/20170801059.
65. Lengyel E, Schmalfeldt B, Konik E, et al. Expression of latent matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) predicts survival in advanced ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* 2001; 82(2): 291–298. doi: 10.1006/gyno.2001.6243.
66. Hujanen R, Almahmoudi R, Salo T, et al. Comparative Analysis of Vascular Mimicry in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma: In Vitro and In Vivo Approaches. *Cancers.* 2021; 13(19): 4747. doi: 10.3390/cancers13194747.
67. Ge H, Luo H. Overview of advances in vasculogenic mimicry – a potential target for tumor therapy. *Cancer Manag Res.* 2018; 10: 2429–2437. doi: 10.2147/CMAR.S164675.
68. Wechman SL, Emdad L, Sarkar D, et al. Vascular mimicry: Triggers, molecular interactions and in vivo models. *Adv Cancer Res.* 2020; 148: 27–67. doi: 10.1016/bs.acr.2020.06.001.
69. Xu D, Su C, Guo L, et al. Predictive Significance of Serum MMP-9 in Papillary Thyroid Carcinoma. *Open Life Sci.* 2019; 14: 275–287. doi: 10.1515/biol-2019-0031.
70. Koç M, Ediger D, Budak F, et al. Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) elevated in serum but not in bronchial lavage fluid in patients with lung cancer. *Tumori.* 2006; 92(2): 149–154.
71. Heo DS, Choi H, Yeom MY, et al. Serum levels of matrix metalloproteinase-9 predict lymph node metastasis in breast cancer patients. *Oncol Rep.* 2014; 31(4): 1567–1572. doi: 10.3892/or.2014.3001.
72. Łukaszewicz-Zajac M, Mroczko B, Kozłowski M, et al. Elevated levels of serum metalloproteinase 9 in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Pol Arch Med Wewn.* 2009; 119(9): 558–563.
73. Štrbac D, Goričar K, Dolžan V, et al. Evaluation of Matrix Metalloproteinase 9 Serum Concentration as a Biomarker in Malignant Mesothelioma. *Dis Markers.* 2019; 2019: 1242964. doi: 10.1155/2019/1242964.
74. Li W, Cui Z, Kong Y, et al. Serum Levels of S100A11 and MMP-9 in Patients with Epithelial Ovarian Cancer and Their Clinical Significance. *Biomed Res Int.* 2021; 2021: 7341247. doi: 10.1155/2021/7341247.
75. Zhang W, Yang HC, Wang Q, et al. Clinical value of combined detection of serum matrix metalloproteinase-9, heparanase, and cathepsin for determining ovarian cancer invasion and metastasis. *Anticancer Res.* 2011; 31(10): 3423–3428.
76. Manenti L, Paganoni P, Floriani I, et al. Expression levels of vascular endothelial growth factor, matrix metalloproteinases 2 and 9 and tissue inhibitor of metalloproteinases 1 and 2 in the plasma of patients with ovarian carcinoma. *Eur J Cancer.* 2003; 39(13): 1948–1956. doi: 10.1016/s0959-8049(03)00427-1.
77. Coticchia CM, Curatolo AS, Zurawski D, et al. Urinary MMP-2 and MMP-9 predict the presence of ovarian cancer in women with normal CA125 levels. *Gynecol Oncol.* 2011; 123(2): 295–300. doi: 10.1016/j.ygyno.2011.07.034.
78. Ławicki S, Będkowska E, Szumarska-Gacuta E, et al. Stężenie i przydatność diagnostyczna metaloproteinazy-9 (MMP-9) u pacjentek z rakiem jajnika. *Diagn Lab.* 2013; 49(3): 335.
79. Ławicki S, Gacuta E, Będkowska E, et al. The plasma levels and diagnostic utility of macrophage-colony stimulating factor (M-CSF) and metalloproteinase-9 (MMP-9) in ovarian cancer patients. *Clin Chem Lab Med.* 2015; 53: 204.