



T.C
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

**Matriks Metalloproteinaz-2 -1306 C/T ve Matriks
Metalloproteinaz-9 -1562 C/T Polimorfizimleri İle Lenfoid
Malignensi Oluşum Riski Arasındaki İlişkinin Araştırılması**

Dr. KAAN SAVAŞOĞLU
TIBBİ GENETİK UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. M. EMİN ERDAL

MERSİN-2007

T.C
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

**Matriks Metalloproteinaz-2 -1306 C/T ve Matriks
Metalloproteinaz-9 -1562 C/T Polimorfizimleri İle Lenfoid
Malignensi Oluşum Riski Arasındaki İlişkinin Araştırılması**

Dr. KAAN SAVAŞOĞLU
TIBBİ GENETİK UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. M. EMİN ERDAL

**Bu tez, BAP-TF-TTB (MEE) 2005-2 kodlu proje olarak
Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma
Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir**

MERSİN-2007

TEŐEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca, akademik açıdan yetiŐmemde büyük katkısı olan, Anabilim Dalı BaŐkanımız, danışman hocam Sn. Prof. Dr. M. Emin ERDAL'a, tezimin hazırlanması boyunca gösterdiği titizlik, özveri ve bilimsel katkıdan dolayı teŐekkür ederim.

Anabilim dalımızın değerli hocaları; Sn. Doç. Doç. Dr. Etem AKBAŐ'a ve Sn. Doç. Dr. Nurcan ARAS ATEŞ'e ve diğer hocalarıma uzmanlık eğitimim boyunca yaptıkları bilimsel ve akademik katkıdan dolayı teŐekkür ederim.

Tezimde yer alan hasta gruplarının toplanması sırasındaki yardımlarından dolayı, ME.. Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı ğretim yeleri Sn Prof. Dr. Atilla YALÇIN, Sn. Doç. Dr. E. Naci TİFTİK'e, tezimin istatistikleri ve bulguların değerlendirilmesi konusundaki yardımlarından dolayı Sn Yrd. Doç Dr. Bahar TAŐDELEN'e ve uzmanlık eğitimim boyunca, her türlü desteğini esirgemeyen laboratuarda birlikte çalıŐtıđım arkadaşlarımdan hepsine teŐekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında yanımda olan, maddi ve manevi destekleriyle, eğitimimin akademik yönde devam etmesini sağlayan anneme ve babama, eğitimim boyunca manevi destekleri ve gösterdikleri sabır ile her zaman yanımda olan eŐime ve kızıma teŐekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET.....	5
İNGİLİZCE ÖZET.....	6
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	7
2.GENEL BİLGİLER.....	8
2.1. Hematolojik Maligniteler.....	8
2.1.1. Tarihçe.....	8
2.1.2. Hematolojik malignite sınıflandırması.....	9
2.1.3. Akut Lenfoblastik Lösemi (ALL).....	11
2.1.4. Kronik Lenfositik Lösemi.....	14
2.1.5. Hodgkin Lenfoma (Hodgkin Hastalığı- HH).....	20
2.1.6. Multiple Myeloma (MM).....	23
2.1.7. Non Hodgkin Lenfomalar (NHL).....	26
2.2. Matriks Metalloproteinaz.....	29
2.2.1. MMP Ailesi.....	30
2.2.1.1. Kollagenazlar(MMP-1, MMP-8, MMP-13 ve MMP-18)...	30
2.2.1.2. Jelatinazlar (MMP-2 ve MMP-9).....	32
2.2.1.3 Stromelizinler (MMP-3 ve MMP-10).....	34
2.2.1.4. Matrilizinler (MMP-7 ve MMP-26).....	35
2.2.1.5. Membran Tipi MMP'ler (MMP-14, MMP-15, MMP-16, MMP-17, MMP-24 ve MMP-25).....	36
2.2.1.6. Diğer MMP'ler (MMP-11, MMP-12, MMP-19, MMP-20, MMP-21, MMP-22, MMP-23A, MMP-23B ve MMP-28)...	37
2.2.2. MMP yapısı.....	38
2.2.2.1. Katalitik Bölge.....	40
2.2.2.2. Propeptit Domain.....	40
2.2.2.3. Hemopeksin Benzeri Domain.....	41
2.2.3. MMP ve Hücre Dışı Matriks İlişkisi.....	41
2.2.4. MMP Aktivasyonu.....	43

2.2.5. MMP'lerin İnhibisyonunun Düzenlenmesi.....	47
2.2.6. MMP-2 ve MMP-9 Genlerinin Promoter Polimorfizimleri....	47
2.2.6.1. MMP-2 -1306 C/T polimorfizmi.....	48
2.2.6.2. MMP-9 -1562 C/T Polimorfizmi.....	49
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	52
3.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Toplanması.....	52
3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler.....	52
3.2.1. Aletler ve Cihazlar.....	52
3.2.2. Kimyasal Maddeler.....	53
3.2.3. Çözeltiler.....	54
3.3. DNA İzolasyonu.....	55
3.3.1 DNA İzolasyonunun Yapılışı.....	55
3.4. Moleküler Analiz.....	56
3.4.1. MMP-2 (-1306 C/T) Gen Polimorfizminin Belirlenmesi...56	
3.4.2 MMP-9 (-1562 C/T) Polimorfizminin Belirlenmesi.....58	
3.5. İstatistiksel Analiz.....	60
4. BULGULAR.....	61
4.1. MMP-2 Geni -1306 C/T Polimorfizminin Genotip ve Allel Dağılımı.....	61
4.2. MMP-9 Geni -1562 C/T Polimorfizminin Genotipleri ve Allelleri Dağılımı.....	65
5. TARTIŞMA.....	71
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	83
7. KAYNAKLAR.....	84
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	98
ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ.....	101
TABLolar DİZİNİ.....	102
EKLER	

ÖZET

Matriks Metalloproteinaz-2 -1306 C/T ve Matriks Metalloproteinaz-9 -1562 C/T Polimorfizimleri İle Lenfoid Malignensi Oluşum Riski Arasındaki İlişkinin Araştırılması

Hematolojik maligniteler, lenf nodları ve kemik iliği kökenli hastalıkları kapsar. Hematolojik Malignite gelişiminde pek çok etkenin rol oynadığı gösterilmiştir. Matriks metalloproteinazlar (MMP) çeşitli patolojik ve fizyolojik süreçlerde rol oynayan bir endopeptidaz ailesidir. Bu nedenle, Matriks metalloproteinaz proteinleri ile çeşitli kanserlerin ilişkilerini araştıran çalışmalar yapılmıştır. MMP-2 ve MMP-9 genlerinin ekspresyonlarının hematolojik malignitelerin bazı tiplerinde olası etkileri çalışılmıştır. Bu çalışmadaki amacımız MMP-2 -1306 C/T ve MMP-9 -1562 C/T polimorfizmlerinin lenfoid tip hematolojik maligniteler arasındaki ilişkiyi araştırmaktır. Çalışma, 52 Kronik Lenfositik Lösemi (KLL), 20 Hodgkin Lenfoma (HH), 38 Non Hodgkin lenfoma (NHL), 15 Akut Lenfoblastik Lösemi (ALL), 13 Multipl Miyeloma (MM) hastası ve 110 sağlıklı bireyde yapıldı. MMP-2 -1306 C/T ve MMP-9 -1562 C/T polimorfizmleri Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR- Polimerase chain reaction) ve Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (Restriction Fragment Length Polymorphism-RFLP) yöntemleri ile belirlendi. Bu polimorfizmlerin allel ve genotip sıklığı hastalar ile kontrol grubu arasında karşılaştırıldı.

Elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, MMP-2 -1306 C/T ve MMP-9 -1562 C/T polimorfizmlerinin allel frekansları ve genotip dağılımları açısından lenfoid maligniteli hastalar ile kontrol grupları arasında anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir ($p>0,05$). Sonuçta, hasta sayısının artırılması ve farklı genlere ait polimorfizmlerin de birlikte çalışılması, MMP-2 -1306 C/T ve MMP-9 -1562 C/T polimorfizmlerinin lenfoid maligniteler ile ilişkisinin aydınlatılmasında katkıda bulunabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Genetik, Hematolojik Maligniteler, Matriks metalloproteinaz-2 -1306C/T, Matriks metalloproteinaz-9 -1562 C/T, Polimorfizm.

ABSTRACT

Investigate The Relationship Between MMP-2 -1306 C/T And MMP-9 -1562 C/T Polymorphisms And Formation Risk Of Lymphoid Malignity.

Hematological malignities consist of lymph nodes and diseases of bone marrow. It has been demonstrated that there are so many factors on the improvement of Hematological Malignity. Matrix metalloproteinases (MMP) is a family of endopeptidases which has a role on various pathological and physiological processes. That's why studies searching for relationships between Matrix metalloproteinase proteins and different types of cancers have been carried out. Possible effects of expressions of MMP-2 and MMP-9 genes on some types of hematological malignities have been studied. Our aim in this study is to investigate the relationship between MMP-2 -1306 C/T and MMP-9 -1562 C/T polymorphisms and hematological malignities of lymphoid type. Study has been carried out on 52 chronic leukemia (KLL), 20 Hodgkin's lymphoma (HH); 38 Non Hodgkin's lymphoma (NHL), 15 Akut Lymphoblastic Leukemia(ALL), 13 Multiple Myeloma(MM) and 110 healthy individuals. MMP-2 -1306 C/T and MMP-9 -1562 C/T polymorphisms were determined with the methods of Polymerase Chain Reaction (PCR) and Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP). Allele and genotype frequency of these polymorphisms were compared between the patients and control group.

When obtained data were statistically analyzed, any expressive relationship between the control group and patients with lymphoid malignity in terms of genotype and allele frequency of MMP-2 -1306 C/T and MMP-9 -1562 C/T polymorphisms haven't observed ($p>0,05$). In conclusion, it has been believed that increasing the number of patient and studying together polymorphisms belonging to different genes would be able to help to clarify the relationship of MMP-2 -1306 C/T and MMP-9 -1562 C/T polymorphisms with lymphoid malignities.

Key Words: Genetic, Hematologic malignity, Matrix metalloproteinase-2-1306C/T, Matrix metalloproteinase -9 -1562 C/T, Polymorphisms.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Hematolojik maligniteler, lenf nodları ve kemik iliği kökenli hastalıkları kapsar. Kuzey Amerika Halk Sağlığı verilerine göre, hematolojik neoplazımlar erkek kanserlerinin %7'sini, kadın kanserlerinin ise %6'sını oluşturur ¹.

MMP'lar çeşitli patolojik ve fizyolojik süreçlerde rol oynayan bir endopeptidaz ailesidir ^{2,3,4,5}. Hedef substratları ekstraselluler matriks, hücrel reseptörler, büyüme faktörleri ve sitokinler gibi büyük çeşitliliktedir. MMP'ler, gelişim ve hastalık sırasında doku büyümesi ve yeniden modellenmesinde, endometrial döngüde, angiogenezde, hücre migrasyonunda, iskelet formasyonunda, inflamasyonda, yara iyileşmesinde ve koagulasyonda rol alırlar. Aynı zamanda MMP'lar patolojik süreçlerde peridontal, romatolojik, kardiyovasküler, pulmoner hastalıklarda, nöroinflamasyonda, kanser ve metastazda da rol oynarlar ^{2,4,5}

MMP-2 (72 kDa tip IV kollajenaz) ve MMP-9 (92 kDa tip IV kollajenaz) çeşitli malignitelerde artmış şekilde eksprese edilir. MMP ekspresyonu, tümör saldırganlığı ve metastaz potansiyeli arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur ⁶. İnsanlarda gastro intestinal sistem, meme, akciğer, jinekolojik kanserler ve kutanoz lenfomalar gibi çeşitli insan solid tümörlerinde, MMP-2 ve MMP-9 ile angiogenesis ilişkisi çalışılmıştır ⁶.

Hematopoetik neoplaziler ile MMP'ler arasındaki ilişki ile ilgili yapılan çalışmalar oldukça sınırlı sayıdadır. Buna karşın Non Hodgkin lenfomalarda tümör evresi ile MMP-9 ekspresyonu arasında bir ilişki olduğu ve Hodgkin hastalığı ile MMP-2 düzeyi arasında iyi prognoz açısından anlamlı bir ilişki olduğu gösterilmiştir ⁶.

Bu çalışmada, MMP-2 -1306C/T ve MMP-9 -1562 C/T gen polimorfizmleri ile lenfoid malignite gelişme riski arasındaki ilişkinin incelenmesi amaçlanmıştır. MMP gen polimorfizmleri ile lenfoid malignite riski arasındaki muhtemel ilişkinin araştırılması, lenfoid malignitelere genetik yatkınlık konusunda literatüre katkıda bulunacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hematolojik Maligniteler

2.1.1. Tarihçe

Hematolojik maligniteler lenf nodları ve kemik iliği kökenli hastalıkları kapsar . Kuzey Amerika Halk Sağlığı verilerine göre hematolojik neoplazımlar erkek kanserlerinin %7'sini, kadın kanserlerinin de %6'sını oluşturur ¹. Hematolojik malignitelerin tarihsel gelişiminde; Malpighi'nin, 1666'da mikroskopların hastalıkların tanısında önemli bir rol oynayabileceğini fark etmesi ile lenfoid dokuda ve dalakta üzüm salkımı benzeri görünümün olduğu ölümcül bir hastalığı tanımlamıştır. Bundan yıllar sonra 1832'de Hodgkin, lenf nodu büyümesi gözlenmiş ölümcül bir hastalıktan ölen yedi hastanın bulgularını tanımlamıştır. Samuel Wilks (1856), şimdiki anlamda Hodgkin hastalığını tanımlamıştır. Kundrat (1892) ve Logscope (1907) , Hodgkin ve Non Hodgkin lenfoma arasındaki patolojik ayrımı tanımlamışlardır. Ghon ve Roman (1916), dev folliküler lenfomayı tanımlamışlardır, bundan sonraki 30 yıl içinde lenfomanın iki ana sınıfı, nodüler ve diffüz arasındaki klinik farklılıklar, Brill, Symmers ve Roulet tarafından belirlenmiştir ¹.

Non Hodgkin lenfomada görülen baykuş gözü hücreleri Langhans (1872), Greenfield (1878) ve Strenberg (1898) tarafından gözlenmiştir. Reed, Non Hodgkin lenfoma (NHL) ile bu hücreler arasında ilişki olduğunu saptamıştır ve bu hücreler Reed-Sterberg (RS) hücreleri olarak adlandırılmışlardır ¹.

Lösemi, Craigie ve Bennett (1845) ile Virchow (1846) tarafından tanımlanmıştır. Virchow (1847), lösemnin iki formu olduğu ve bunlardan birinde dalak büyümesinin diğerinde lenf büyümesinin belirgin olduğunu tanımlamıştır. Lösemnin hızlı ilerleyen akut formu Friedreich (1857) ve bununla ilişkili semptomlar Ebstein (1899) tarafından tanımlanmıştır. Ehrlich'in kan hücrelerini boyama metodunu geliştirmesi ile farklı klinik durumlarla ilişkili özel tipteki lökosit hücreleri belirlenmiştir. Bu metod sayesinde; Naegeli (1900) myeloblastları, Reschad ve Schilling-Torgau (1913) monositik lösemiye tanımlamışlardır ¹.

Lösemi ile ilişkili anemi, Mayer ve Heineke (1907) tarafından tanımlanmıştır. Vaquez (1895), kardiyak bir hastalığı gösteren oskültasyon

bulguları olmayan, bir yıl sonrada otopsisinde kalp yapısı normal bulunan hastada, kalıcı polisitemiyi tanımlamıştır. Hiperplastik kan düzensizliği fikri, Osler'in (1903,1908) polisitemiyi tanımlaması ve Turk'un (1904) immatür kırmızı ve beyaz lökosit formlarını tanımlaması ile geliştirilmiştir ¹.

Yirminci yüzyılın başlarında hematopoetik dokulardaki neoplastik hastalıkların ana sınıfları morfolojik özelliklerine göre tanımlanmıştır ¹.

Modern immunolojinin çağı Rustizky ile başlamıştır. Rustizky (1873), kemik kırıklarına neden olan Multipl Miyeloma (MM) hastalığını tanımlamıştır. Kunkel immunoglobulinleri tanımlamıştır, Edelman ve Porter, antikor moleküllerinin aminoasit dizisini belirlemişlerdir ve Tonegawa, immunoglobulin gen yeniden birleşmelerini keşfetmiştir ¹.

1960 yılında, kronik myelositer lösemi hastalarının kemik iliği hücrelerinde küçük G grubu kromozomu (Philedelphia veya Ph kromozomu) tanımlanmıştır. 1973'te philedelphia kromozomunun, kromozom 9 ve 22 arasında resiprokal translokasyon [t(9;22)(q34;q11)] nedeni ile olduğu tespit edilmiştir ⁷.

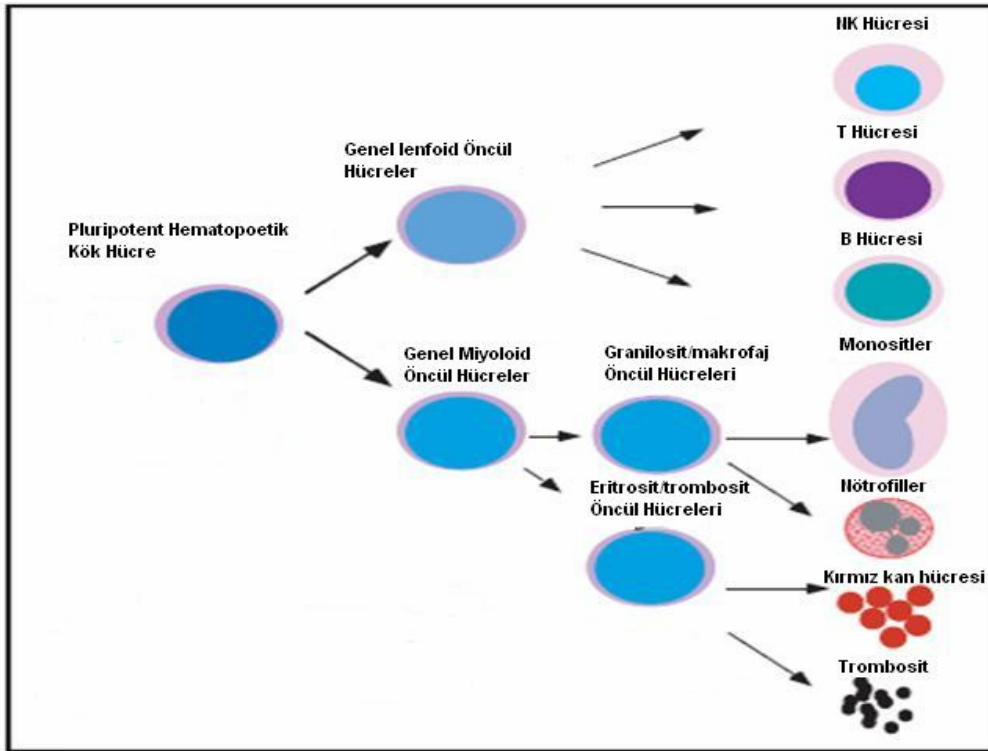
Farklı ülkelerden araştırmacılar 1976 yılında, FAB sınıflaması (FAB Classification- Fransız, Amerikan, İngiliz Sınıflama Sistemi) sınıflandırma sistemini akut lösemiler ve myelodisplastik sendromlar için geliştirmişlerdir ⁸.

2.1.2 Hematolojik malignite sınıflandırması

Hematolojik maligniteler sağkalım ve olgunlaşma özellikleri esas alınarak akut ve kronik olmak üzere iki tipe ayrılırlar. Akut, tedavi edilmediğinde sağkalım süresi haftalar veya birkaç ayla sınırlı hastalıkları tanımlar, hücre olgunlaşması açısından ise immatür hücreler, blastlar ön planda gözlenir. Kronik, sağ kalımın yıllarla ölçülebildiği durumları tanımlar, hücre olgunlaşması açısından olgun hücreler ön planda gözlenir. Etkili tedavi yöntemleri nedeniyle günümüzde akut ve kronik maligniteler arasındaki sağkalım farkı büyük ölçüde ortadan kalkmıştır ⁹. Hastalığın etkili olduğu organlar açısından ise ön planda kan ve kemik iliğini tutan malignitelere lösemi denir. Doku tutulumu ile giden neoplazmlara ise lenfoid kökenlilerse lenfoma, miyeloid kökenlilerse granülositik sarkom olarak adlandırılmaktadır ⁹.

Köken olarak ayırım ise hematopoetik kök hücrenin (hematopoetic stem cell-HSC) farklılaşmaya başladığı ilk basamak ile ilişkilidir⁹. Vücuttaki bütün olgun kan hücreleri az sayıdaki hematopoetik kök hücrelerden köken alırlar¹⁰. Kök hücreler lenfoid ve miyeloid öncül hücreler olarak iki yönde gelişim gösterirler. Genel lenfoid öncül hücreler (Common Lenfoid progenitor, CLP), B ve T lenfosit, Doğal öldürücü (Natural Killer, NK) hücreler yönünde olgunlaşırken, genel miyeloid öncül hücreler (Common myeloid progenitor, CMP), eritrosit, trombosit, granülosit ve monosit yönünde olgunlaşırlar¹⁰. Kök hücre gelişim şeması şekil 1 de gösterilmiştir.

Çalışmalar, neoplazmların mutasyonla tek hücreden gelişen malign klonların normal hücrelere karşı çoğalma avantajı kazanması ile oluştuğunu göstermiştir. Kemik iliği hücrelerinin maturasyonu sırasında, bir hücre grubu ileri aşamaya geçemeyerek sahip olduğu hücre özellikleri ile çoğalır, bu şekilde maligniteler klonal özellik göstermektedirler¹¹.



Şekil 1: Hematolojik kök hücre gelişimi¹⁰.

Lenfoid maligniteler T, B lenfositler ve NK hücrelerinin maturasyonu sırasında klonal şekilde gelişen neoplazmlardır. Lenfoid seri olgunlaşmasındaki herhangi bir hücre serisinden köken alabilirler¹¹.

2.1.3. Akut Lenfoblastik Lösemi (ALL)

ALL, immatür lenfosit öncüllerinin klonal proliferasyonu ile karakterize bir hastalıktır. Blastik hücreler, B hücre (olguların %80-85'i) veya T hücre öncüllerinden (olguların %15-20) oluşabilir¹². Blast hücrelerinin kemik iliğinde birikimi, hematopoeziste baskılanmaya ve sonrasında anemi, trombositopeni, ve nötropeniye neden olur¹³.

ALL, Amerika'da tespit edilen bütün lösemilerin % 12'sini oluşturur, vakaların % 60'ı 20 yaş altında görülür¹³. Çocukluk çağında en sık görülen malignitedir ve çocukluk çağı akut lösemilerinin % 85'ini oluşturur¹². Yaşa özel insidans, 2-5 yaş arasında ve 60 yaşlarından sonra iki pik yapar. Amerika'da 0-14 yaş arasında insidansı 3,3/100.000 olarak gözlenmiştir¹³.

Down sendromlu çocuklarda lösemi riski 10-30 kat artar. Ataksi-Telenjektazi ve Bloom Sendromu gibi kromozomal frajilitede artmaya neden olan otozomal resesif hastalıklar ile arasında ilişki gösterilmiştir. Tek yumurta ikizlerden birinde lösemi gelişirse diğer kardeşte hastalığın görülme olasılığı % 20'dir. Fetal yaşamda diagnostik X ışınına maruz kalan bireylerde, ALL gelişim riskinde bir miktar artış gözlenmiştir. Gebelikte ve gebelikten önce pestisite maruz kalan ve sigara içen annelerin çocuklarında, ALL gelişim riskinde artma gözlenir¹³.

ALL'de klinik görünüm değişkendir. Gözlenen bulgular genellikle kemik iliği kaybı ve ekstra medullar yayılım ile ilişkilidir. Hastaların yarısında ateş gözlenir. Yorgunluk ve bitkinlik ALL'de görülen aneminin sık semptomlarıdır. Anemi ilişkili dispne, anjina ve baş dönmesi sık görülen bulgulardır. Lösemi hücrelerinin periosteumu, kemiği veya eklem bölgelerini infiltre etmesi ile çocuklarda yürümeyi reddetme, topallama, kemik ağrıları ve artralji görülebilmektedir. Baş ağrısı, kusma, mental fonksiyonlarda gerileme, oligüri ve anüri daha az sıklıkla görülen semptomlar arasındadır. Bazı hastalar hayatı

tehdit edici infeksiyon ve kanama ile gelirler. Çok nadiren rutin muayenede ALL'li hastada herhangi bir bulgu saptanmayabilir¹³.

Hastaların muayenesinde mukozalarda ve deride, pallor, peteşi, ekimoz görülebilir. Kemikte lösemik infiltrasyon nedeni ile hassasiyet saptanabilir. Karaciğer, dalak ve lenf nodları en sık görülen ekstra medullar tutulum bölgeleridir, organomegali çocuklarda yetişkinlere oranla daha belirgindir. Anterior mediastinal kitleler çocuklarda % 7-10, erişkinde % 15 oranında görülür. Büyük anterior mediastinal kitleler büyük damarlara, trakeaya bası yaparak, vena kava sendromu veya superior mediastinal sendroma neden olabilir. Bu sendromda hastalarda öksürük, dispne, ortopne, disfaji, stridor, siyanoz, yüzde ödem, artmış kafa içi basıncı ve bazen senkop görülebilir. Daha az sıklıkla görülen bulgular okuler tutulum, subkutanöz nodüller, büyümüş tükürük bezleri (Mikulicz sendromu) ve priapizm'dir¹³.

ALL'de FAB sınıflandırılması lenfoid blastların ışık mikroskopunda görülen morfolojilerine göre sınıflandırma yapılmaktadır. ALL FAB sınıflandırmasına göre L1, L2, L3 olarak üç katogoriye ayrılır¹⁴. ALL FAB sınıflandırması tablo 1 de gösterilmiştir.

Tablo 1: ALL FAB Sınıflaması ¹².

L1	En sık çocukluk çağında görülür. Monomorfik yuvarlak çekirdekli, dar sitoplazmalı küçük/orta büyüklükte blastlar (çekirdek sitoplazma oranı yüksek) homojen nukleus kromatin yapısı ve belirsiz nukleuslar dikkat çekicidir.
L2	Erişkinde en sık rastlanılan tipidir. Blastlar, daha büyük, daha geniş sitoplazmalı (düşük çekirdek/sitoplazma oranı) değişken görünümlüdür; düzensiz kenarlı çekirdek yapısı ve belirgin nukleuslar görülür.
L3	Nadirdir (ALL olgularının yaklaşık % 1-3'ü). Hücreler koyu bazofilik (mavi) sitoplazma ve sitoplazmik yağ içeren vakuoller ile karakterizedir.

Yeni WHO sınıflandırması ise ALL alt tiplerini fenotipik (örneğin öncül B hücreli, öncül T hücreli gibi) ve sitogenetik özelliklerine göre gruplandırmaktadır¹². Öncül B hücreli ALL karakteristik olarak CD19 ve CD20 gibi, B hücre ilişkili antijenleri eksprese eder. Çoğu olgu CD10 (Common acute lymphoblastik leukemia antigen, CALLA) ve sıklıkla CD34 (insan progenitör hücre antijeni) ekspresyonu gösterir. Hücre yüzeyinde immunglobulin ekspresyonu yoktur, ancak sitoplazmik mü (μ) ağır zincir ekspresyonu görülebilir. Öncül T hücreli ALL karakteristik olarak CD2, CD5 ve CD7 gibi T hücre antijenlerini eksprese eder. CD4 ve CD8'in (T helper ve T supressör alttip antijenleri) tipik olarak ya ikisi birden yoktur ya da eş zamanlı eksprese olurlar. Olgun B hücreli ALL (Burkitt hücreli lösemi), monoklonal hafif zincir (kapa ve lambda) taşıyan yüzey immunglobulini ile birlikte CD19 ve CD20 gibi B hücre antijenlerinin varlığı ile karakterizedir. CD10 (CALLA) pozitif veya negatif olabilir¹².

ALL'li erişkin hastaların 1/3'ü ve çocuk hastaların yarısı kromozom anomalileri gösterir. Anomaliler; lösemik hücrelerde, kromozom kaybı ve kazancı olarak sınıflandırılabilir. Hiperdiploid (47-57 kromozom sayısında) hücreler, daha az sıklıkta triploide civarı (58-80 kromozom sayısında) ve tetraploide civarı (near tetraploid, 83-103 kromozom sayısında) kromozom kuruluşunda hücreler de gözlenmiştir. Kromozomlar arasında 8, 16, 18, 21 ve 22 numaralı kromozomlar diğer kromozomlara göre daha sık etkilenir. Kromozom kayıpları hipodiploid (35-45 kromozom sayısında) veya haploide civarı (near haploid, kromozom sayısı <27) olarak gözlenir. ALL'li çocukların % 20'si hiperdiploididir. Bu hastalar tüm ALL hastaları içinde en iyi prognoza sahip olanlardır. Bunun tersine haploid civarı kromozom sayısı çok az görülür ve çok kötü prognoz gösterir¹⁴.

ALL'de görülen esas sitogenetik anomaliler t(9;22), t(1;19), t(4;11), t(12;21), 9p ve 12p delesyonları, hiperdiploidi, hipodiploidi'dir. t(9;22) ilk olarak kronik myeloid lösemide gözlenmiştir. Translokasyon, kromozom 9 üzerindeki BCR geni ile kromozom 22 üzerindeki ABL geni arasında olur. t(9;22) insidansı yaş artışı ile artar, translokasyonun gözlenmesi kötü prognoz gösterir^{14,15}. T(12;21) pediatrik ALL içinde en sık görülen translokasyon tipidir. Füzyon gen, kromozom 12 üzerindeki TEL geni ve kromozom 21 üzerindeki AML1 genin birleşmesi ile meydana gelir^{14, 15}. T(12;21)'in prognozunun iyi olduğunu

gösterilmiştir. Diğer kromozomal anormallikler daha az sıklıkta görülür. Yetişkin ve çocukta t(1;19) sıklığı, %3-4 oranında görülür. Füzyon gen, kromozom 19 üzerindeki E2A bölgelerini içerir^{14, 15}. Bu translokasyonun bağımsız prognostik faktör olduğu iddia edilmiştir¹⁴. Görülen diğer translokasyon t(4;11)'dir. Kromozom 11 üzerindeki HRX (MLL) geni ile 4. kromozom üzerindeki AF4 geni arasında olur. Bu translokasyonun görüldüğü vakalarda prognoz kötüdür^{14, 15}. Yetişkin ve çocuk ALL vakalarının yaklaşık %10'unda 6q, 9q, 12p delesyonları görülür. Bu delesyonların prognostik değeri belirsizdir¹⁴.

Yaş ALL'nin prognozunda kritik rol oynamaktadır. Tedaviden sonra hayatta kalım 2-5 yaş arasındaki hastalara göre 1 yaşından küçük ve 10 yaşından büyük hastalarda zayıftır. Hiperdiploidi ve düşük blast sayısı iyi prognoz gösterir. Yetişkin hastalarda ALL prognozu kötüdür ve yaş büyüdükçe kötüleşir. Pediatrik ALL hastalarında kötü prognoz kriterleri, 1 yaşından küçük 10 yaşından büyük olmak, mediastinel kitle, erkek cinsiyet, t(1;19), t(9;22), t(4;11), hipodiploidi'dir^{14, 11}.

2.1.4. Kronik Lenfositik Lösemi

Kronik lenfositik lösemiler, çevresel kanda artmış küçük olgun görünümlü lenfositlerin bulunmasıyla karakterize heterojen bir grup hastalıktır. En sık rastlanan şekli, bir T hücre belirteci olan, CD5 antijeni eksprese eden küçük B hücrelerinin proliferasyonu sonucu ortaya çıkan kronik lenfositik lösemidir (KLL)¹⁶.

KLL'nin Amerika'daki ortalama insidansı 2.7/100.000'dir. KLL'nin gelişim riski yaş ile artar, yaşlı erkeklerde yaşlı kadınlara göre 2.8 kat fazla görülür. Batı toplumlarında en sık görülen erişkin dönem lösemisidir. Genellikle neoplastik lenfositler B serisindedir, % 2'den azı T hücre kökenlidir¹⁷.

Çevresel faktörlerin patogeneizde rol oynamadığı düşünülmektedir. KLL insidansı ile pestiside maruz kalma, güneş ışığı, iyonize radyasyon veya bilinen karsonojenlerle ilişkisi gösterilememiştir. Bazı epidemiyolojik çalışmalarda, kronik elektromanyetik alana maruz kalma ile KLL'da artış gözlenlemiştir, buna karşın bu ilişkinin nedensel bir etki olduğu gösterilememiş¹⁷. Asbest

endüstrisinde ve tarımla ilgili işlerde çalışanlarda, KLL insidansının daha yüksek olması mesleki bir ilişkiyi düşündürmektedir¹⁶.

Birinci derece akrabalarında KLL bulunan kişilerde genel popülasyona göre KLL gelişimi veya diğer lenfoid malignite gelişme olasılığı normal popülasyona göre 3 kat fazla olduğu gözlenmiştir¹⁷. KLL insidansında artmaya neden olan genetik faktörler tam olarak belirlenememiştir. HLA haplotipleri ile hastalık arasında ilişki gösterilememiştir. Aynı aileden, hastalık gelişmiş bireylerin, lösemik hücrelerinde aynı immunglobulin ağır zincir genlerini eksprese ettiklerini göstermiştir. Buna karşın, monozigot ikizlerin de dahil olduğu hasta gruplarında lösemi hücrelerinin farklı immunglobulin birleşmelerine sahip oldukları gözlenmiştir ve bu da farklı somatik olaylardan köken aldığını göstermektedir¹⁷.

KLL'de mitotik hızın düşük olması sebebiyle, standart sitogenetik analiz yapmak güçtür¹⁶. KLL'de en sık rastlanan kromozomal anomali del 13q14-23.1'dir^{17,18}. Görülen diğer anomaliler; trizomi 12, del 11q22.3-23.1, del 6q21-23, 14q anomalileri, ve 17q13'teki p53 tümör baskılayıcı genlerin delesyon ve mutasyonlarıdır. Gen delesyon ve duplikasyonları, en sık görülen genetik anormalliklerken, kromozomal anormallikler göreceli olarak daha az sıklıkta görülür¹⁷.

Kromozom 13'ün uzun kolundaki delesyonlar KLL'de en sık görülen kromozom anormallikleridir^{17,18}. Kromozom 13'ün uzun kolundaki delesyonlar KLL vakalarının yaklaşık yarısında görülebilmektedir. Bir grup çalışmacı, 35 KLL hastasının % 80'inde, lösemik hücrelerde göğüs kanseri gelişiminde etkisi olan BRCA2 geninin bulunduğu 13q12.3'te delesyon tespit etmişlerdir¹⁷. Bir grup çalışmacı ise 13q14.3'te delesyon tespit etmiştir. Bu bölgede RB-1 geni bulunmaktadır^{17,18,19}. Bu bölgede haritalanan diğer aday tümör baskılayıcı genler LEU1 ve LEU2'dir. Buna karşın, KLL hücrelerinde her iki allelin mutasyonları tespit edilemediği için KLL'de etkili tümör süpressör gen olma ihtimalleri düşüktür. Diğer bir aday tümör baskılayıcı gen LEU5'tir¹⁷.

Trizomi 12, KLL'li hastaların %10-30'unda bulunur. Trizomi 12 tanısında da belirlenebilirken, genellikle ilerlemiş lösemi hastalarında tespit edilmiştir¹⁷. Trizomi 12'nin görüldüğü lösemi hücreleri sıklıkla karmaşık karyotipik anormalliklere, atipik veya prolenfositik morfolojiye sahiptirler. Sonuç olarak, çalışmalarda trizomi 12'ye sahip lösemik hücre gruplarının hastalığın ileri

safhasında yayıldığını önermişlerdir^{17,18}. Hastaların % 10-20'sinde lösemi hücrelerinde kromozom 11'in uzun kolunda delesyon vardır. Bu delesyonun görüldüğü hastalarda hastalık gelişim yaşı düşüktür (55'ten küçük) ve bu kromozom anomalisinin görülmediği hastalara göre hastalığın daha agresif olmaya meyillidirler. Kromozom delesyon bölgeleri genellikle 11q14-24, daha az sıklıkla 11q22.3-23.12'da görülmektedir. Bu bölgedeki potansiyel tümör baskılayıcı genler ATM ve RDX genleridir. ATM, ateksi-telenjektazi'de mutasyon görülen gendir. Lösemi hücrelerinde ATM geninde delesyon ve mutasyon olanlarda hastalık göreceli olarak agresif seyrederek. RDX veya Radiksin ise Nörofibromatozis Tip2 (NF-2) tümör baskılayıcı gen ile benzerlik gösterir¹⁷.

Kromozom 6 üzerinde görülen en sık anormallikler 6q23 ile 6q24 arasındaki kırıklardır. 6q21-q24 arasında anormallik olan hastalarda kanda prolenfosit miktarı yüksektir ve daha agresiftir¹⁷.

Kromozom 14 üzerinde 14q32 bölgesi, immunoglobulin ağır zincirini kodlar. Bu bölge B hücre malignitelerinde sıklıkla translokasyona uğrar. Kromozom 14'ün q11.2 bölgesindeki genler, T hücre reseptörünün α ve δ zincirini kodlar. Lösemik hücrelerde görülen inv(11)(q11q32), sıklıkla T hücre kökenlidir¹⁷. T(11;14)(q13;q32) translokasyonunda, immunoglobulin ağır zincir geni (IgH) ile BCL-1 protoonkogeninin birleşmesi gözlenir ve oluşan gen PRAD1 olarak adlandırılır, siklin D1'i kodlar^{20,18}. PRAD1'in artmış ekspresyonu, hücre transformasyonuna ve bazı B hücreli KLL vakalarının oluşmasına neden olabilir¹⁷. T(14;18) az sıklıkta görülür. Bu translokasyonlar daha sıklıkla foliküler lenfomalarında görülür¹⁸. Bu translokasyonda immunoglobulin ağır zinciri ile BCL-2 onkogeni arasında birleşme olur^{17,18}. KLL hastalarının % 5'inin lösemik hücrelerinde kromozom 18q21'deki BCL-2 protoonkogeni ile immunoglobulin geni arasında yeniden birleşmeler görülür. BCL-2 gen yeniden birleşmeleri genellikle, BCL-2 geninin 5' ucu ile kromozom 2 üzerindeki κ veya kromozom 22 üzerindeki λ immunoglobulin hafif zincirleri arasında olur. BCL-2 yeniden birleşmelerinden bağımsız olarak bütün hastaların B hücrelerinde BCL-2 protein ekspresyonu yüksektir. Bu sonuçlarla KLL hastalarında 18. kromozomda tespit edilmemiş genetik anormalliklerin olabileceği ve bunların BCL-2 proteininin ekspresyonunu artırabileceği bulunmuştur¹⁷.

P53 geni, 17. kromozomun p kolunda 17p13.1'de lokalize olmuştur, 53 kd ağırlığında bir proteini kodlar^{17,18}. DNA'sında hasar olan hastalarda, P53,

p21/WAF1'i indükleyerek siklin bağımlı kinaz aktivitesini inhibe eder, hücre döngüsünü durdurur. P53 mutasyonları; P53 geninin genellikle ekson 4'ten 8'e kadar olan bölgesinde olur ve kromozom 17p'deki heterozigozite kaybı ile ilişkilidir. KLL hücrelerinde P53 mutasyonu olan hastalar genellikle ilerlemiş hastalığa, yüksek lösemik hücre proliferasyon oranına ve kısa hayatta kalıma sahiptirler¹⁷.

KLL hastalarının % 40'ı; lösemik hücrelerinde, MDR1 genini artmış şekilde eksprese ederler. Gen özellikle kemoterapiye dirençten sorumludur. MDR1 geni, kromozom 7'nin uzun kolunda (7q21.1), 170 kDa ağırlığında transmembran p glikoproteinlerini kodlar ve enerji bağımlı olarak sitotoksik ilaçları hücre dışına atarak intrasellüler konsantrasyonu düşürmede rol oynar¹⁷. Genin artmış ekspresyonu, özellikle KLL'nin B hastalarının % 35'inde gözlenmiş¹⁸. Artmış MDR ekspresyonu primer patogeneze çok, hastalığın ilerleyişinde rol oynamaktadır¹⁷. MDR3 geninin artmış ekspresyonu, genellikle tedavi uygulanmamış hastalarda gözlenmiştir, aynı zamanda ilerlemiş hastalık ve tedaviye dirençlede ilişkili olduğu gösterilmiştir¹⁸.

MDM2 gen ürünü p53 geni ile bir kompleks oluşturur ve kromozom 12 üzerinde bulunmaktadır. Artmış ekspresyonu (10 kattan fazla) B-KLL'de rapor edilmiştir ve B-KLL'nin progresyonunda rol oynayacağı gösterilmiştir¹⁸.

KLL hastalarının çoğu 60 yaş üstündedir ve % 90'ı 50 yaş üzerindedir. Hastalık 25 yaşın altında çok nadir görülür. KLL'de insidans ve prevalans yönünden erkek ve kadın oranı 2/1'dir. Hastaların % 25'i tanı sırasında asemptomatiktir. Hastaların çoğunda ağrısız lenfadenopatiler ve açıklanamayan lenfositöz gözlenir. Bunun haricinde bazı hastalarda düşmüş egzersiz toleransı, yorgunluk gibi orta derecede semptomlar görülebilir. İleri yaştaki hastalar bazen sahip oldukları pulmoner, serebrovasküler veya koroner arter hastalığı gibi hastalıkların artmış bulguları ile başvurabilirler¹⁷. Bazı vakalarda, KLL hücrelerinin nasal tutulum yapması nedeniyle kronik rinit ile gözlenebilir. Bazı nadir vakalarda, çeşitli gangliositlere karşı oluşan IgM antikoru ile sensorimotor polinöropatiler görülebilir. Hastalığın daha sık ilerlediği olgularda ağırlık kaybı, tekrarlayıcı enfeksiyonlar, trombositopeniye bağlı kanama veya semptomatik anemi görülebilir. Gece terlemeleri ve ateş (B semptomları) sık değildir¹⁷. KLL hastalarının % 80'inde tanı sırasında ağrısız lenfadenopati görülmektedir. Sıklıkla servikal, supraklavikular veya aksiler lenf nodlarında

büyüme görülür¹⁷. KLL hastalarının yarısında ortalama bir splenomegali bulunur. Hastaların daha azında karaciğerin lösemik infiltrasyonu nedeniyle hepatomegali gelişir. Lösemik hücreler ile organ infiltrasyonları sıklıkla otopsi sırasında belirlenir. Çoğunlukla semptomatik değildirler. Renal parankim tutulumu postmortem olarak hastaların yarısında gözlenmiştir¹⁷.

Hayatta kalım süresini tahmin etmek için iki ana sınıflama sistemi kullanılmaktadır. İlki Rai tarafından 1975 yılında tanımlanmıştır. Bu sınıflandırma 0'dan IV'e kadar olan beş farklı evrede değerlendirilir. 0 ve I iyi prognoza sahiptir, III ve IV'de hayatta kalım kısadır, II. evrede ise hayatta kalım orta kademededir. Rai ve Modifiye Rai sınıflaması tablo2'de gösterilmiştir. Binet, 1981 yılında 3 evrelik sınıflandırmayı kullanmaya başlamıştır¹⁷. Bu sınıflandırmada toplam lenfoid kitle değerlendirilmektedir. En ileri evre C'dir, hastada kemik iliği fonksiyon bozulması nedeni ile anemi veya trombositopeni görülebilir. Binet sınıflandırması tablo3'te gösterilmiştir. Geri kalan hastalar da büyümüş lenfoid bölgelerinin sayısına göre A ve B denen iki gruba ayrılır¹⁷.

Tablo 2 : Rai ve Modifiye Rai Evreleme Sistemi¹⁶

Rai	Risk oranı	Modifiye Rai
Evre 0: Tek başına lenfositoz (kan veya ilikte)	Düşük risk	evre 0
Evre 1: Lenfositoz + büyümüş lenf bezleri		
Evre 2: Lenfositoz, büyümüş dalak, karaciğer ve lenf bezleri	Orta dereceli risk	I. ve II. evreler
Evre 3: Lenfositoz + anemi (Hb<11g/dl) ve yukarıdaki bulgular varlığı ya da yokluğu		
Evre 4: Lenfositoz+ trombositopeni (<100000/ μ l), yukarıdaki bulguların varlığı ya da yokluğu	Yüksek risk	III. ve IV. evreler

Tablo 3: KLL Binet Evreleme Sistemi¹⁶

Evre	≥ 3 Lenf bezi bölgesi	Hemoglobin<10g/dl ve /veya trombositler <100000/ μ l
A	-	-
B	+	-
C	+/-	+

KLL B hücreleri genellikle yüksek mitotik indekse sahiptir ve siklin dependent kinaz inhibitörü olan p27^{kip1} düşük düzeyde eksprese edilir. Bu protein S fazında hücre progresyonunda düzenli şekilde artar. Buna karşın, bazı hastalarda lösemi hücrelerinde p27^{kip1} ekspresyonu fazladır. Bu hastalarda, lenfosit ikilenme zamanı uzundur¹⁷. İkilenme zamanının 12 aydan az olması agresif hastalığı, 12 aydan yüksek olması ise yavaş seyirli (indolan) hastalığı düşündürür¹⁶. Kemik iliği biyopsisinde nodüler (çevreden net olarak ayırt edilebilen lenfosit hücreleri), intersitisyel (yağ hücreleri ve normal hematopoetik hücreler arasına infiltre olan lenfositler), miks veya diffuz (kemik iliğinin tümüyle lenfositler tarafından işgal edilmesi) karakter gözlenebilir¹⁶. Kemik iliğinin diffüz görünümü, noduler veya intersitisyel görünümüne göre kötü prognoza sahiptir. Atipik lenfosit morfolojisi prognozun kötü olması ile ilişkilidir. Lösemik hücrelerin yüzeylerinde sadece IgM yerine, IgM ile IgD'yi birlikte eksprese etmeleri ve CD38 eksprese etmeleri kötü prognoz ile ilişkilidir¹⁷. Anormal karyotipe sahip hastalar, normal karyotipe sahip hastalar ile karşılaştırıldıklarında; hayatta kalım süresi anlamlı derecede düşüktür. Trizomi 12'ye ek anomalilerin mevcut olduğu hastalar ile sadece trizomi 12 görülen hastalar karşılaştırıldığında sağ kalımları anlamlı derecede düşük bulunmuştur^{17, 18}. Sadece trizomi 12 gözlenen hastalar, normal karyotipe ve sadece 13q14'e sahip hastalara göre kötü prognoza sahiptir¹⁷. Trizomi 12 ile beraber kromozom 13 anormalliklerinin beraber gözleendiği hastalarda hayatta kalım daha da düşmektedir¹⁸. 14, 6 veya 11q anormalliklerinin görüldüğü hastalarda normal karyotipli hastalara göre klinik gidiş kötüdür¹⁷. Bazı proteinlerin miktarı ile tümör ilerleyişi ve tümör kitlesi ilişkilidir. Bu yüzden beta-2 mikroglobulin (β_2 M), timidin kinaz (TK), soluble

vasküler hücre adezyon molekülü-1 (sVCAM-1, soluble CD27)'nin göreceli serum düzeylerinin ölçülerek, potansiyel prognostik değerleri olarak kullanılabilir. Laktat dehidrogenaz (LDH) agresif hastalığı olan hastalarda yükselmiştir¹⁷. Kromozom telomerindeki ilerleyici kısalma tekrarlayan hücre bölünmeleri ile görülür. Kromozom telomerindeki bu erozyon kromozomun telomerindeki TTAGGG tekrarlarını sentezleyen telomeraz ile önlenir. Ortalama telomer uzunluğu ve telomeraz aktivitesi B-KLL'de hayatta kalım ile ilişkilidir. Telomer uzunluğu 6kb'dan kısa olanlarda telomeraz aktivitesi yüksek, 6kb'dan uzun lösemik hücrelerde telomeraz aktivitesi düşüktür. Telomeraz aktivitesi yüksek hastalarda, düşük hastalara göre hayatta kalım düşüktür¹⁷

2.1.5. Hodgkin Lenfoma (Hodgkin Hastalığı-HH)

Hodgkin hastalığı (HH) lenfoid dokuda malign Reed Sternberg (RS) hücrelerinin gözlendiği bir neoplazmdir²¹. Klasik RS hücresi büyüktür ve baykuş gözüne benzeten çift çekirdekli bir yapıya sahiptir. Çekirdek içinde büyük eozinofilik nukleus dikkati çeker²². İngiltere'de HH insidansı yaklaşık 2/100000'dir²³. ABD'de yılda 7500 yeni HH tanısı konmaktadır²². Hastalık 3:2 oranında erkeklerde daha fazla görülmektedir. İnsidansı 60'lı yaşlara kadar artarak gider, bununla beraber 15-34'lü yaşlarda hastalık insidansı diğer gruplara göre yüksektir. Bu yaş grubunda erkek baskınlığı azdır ve bütün vakalar noduler sklerozan tiptedir²³.

Semptomların var olması prognozu kötü etkiler. Hastalarda 38 °C üstü ateş, gece terlemeleri ve 6 ay içinde vücut ağırlığının % 10'dan fazlasının kaybı, hastalığın tanısına B kategorisini ekler. Kaşıntı tanıda sıklıkla görülmesine karşın prognoza etkisi yoktur. Bazı hastalarda ateşli ve ateşsiz dönemlerin döngüsel şekilde gözlendiği, Pel-Ebstein denen özel bir ateş tipi vardır. Alkol içimini takiben lenf nodlarında ağrı görülmesi HH için özeldir, hastaların % 10'unda görülür ve prognostik bir anlamı yoktur. Olağan olmayan kitleler veya yüzeysel lenf nodlarının tespit edilmesi sık görülen bulgulardandır²¹.

HH'nın patolojik sınıflamasında, 1966'dan beri Rye sınıflaması kullanılmaktadır. WHO'ya göre yeniden düzenlenen HH sınıflaması da Rye'in modifiye edilmiş halidir²². HH'nın patolojik sınıflaması tablo 4'te gösterilmiştir.

HH'nın yayılımının evrenlenmesinde, dört dereceli ANN ARBOR evreleme sınıflaması kullanılır . ANN ARBOR evreleme sistemi tablo 5'te gösterilmiştir.

Tablo 4: HH Patolojik Sınıflaması²².

Rye Sınıflaması	WHO sınıflaması
Lenfosit zengin	Nodüler lenfosit zengin
Nodüler sklerozan	Klasik Hodgkin varyantları: Nodüler sklerozan Miks sellüler Lenfosit zengin klasik Hodgkin
Miks sellüler	
Lenfosit fakir	

Tablo 5: ANN ARBOR Evreleme Sınıflaması^{21,24}.

Evre	Özellikler
I	Tek bir lenf bezi veya lenf bölgesi tutulumu veya lokalize ektranodal tutulum (Evre IE olarak tanımlanır).
II	Diyaframın aynı tarafında (Alt veya üst) birden fazla lenf bölgesi tutulumu (II), ektranodal organ tutulumu veya diyaframın aynı tarafında bir veya birden fazla lenf nodunun tutulumu (IIE).
III	Diyaframın her iki tarafındaki lenf bölgelerinin tutulu olması, dalak tutulumu var ise (IIIS), lokalize bir ektranodal tutulum (IIIE), her ikisi birden (IIISE).
IV	Yaygın ekstra nodal organ tutulumu.

BCL-2 ekspresyonu ile HH arasında ilişki gösterilmiştir. BCL-2 ekspresyonu Epstein Barr Virüs (EBV) infeksiyonu veya t(14;18) ile ilişkili bulunmuştur²¹. BCL-2 ekspresyonunun prognoz ile ilişkili olabileceği tespit edilmiştir. Reed-Sternberg hücrelerinde p53 antagonisti olan MDM2 gen ürününün artmış ekspresyonu gözlenmiştir. Buna karşın vakalarda p53 mutasyonu çok nadir görülmüştür²¹.

HH hastalarının karyotiplerinde patagonomik kromozomal aberasyon veya özel defektler tespit edilmezken, genellikle hiperdiploid karyotipler gözlenir. Büyük bir seri çalışmada en çok gözlenen kırılma noktaları, Non Hodgkin lenfomada da gözlenen 11q23, 14q32, 6q11-21 ve 8q22-24 bölgelerinde kırılma noktaları olduğu bulunmuştur²¹. 12. ve 13. kromozomların kısa kolunda da delesyon ve translokasyon gözlenmiştir²¹. Çeşitli Hodgkin dokularında yapılan çalışmalarda, kromozom 18 üzerindeki BCL-2 ile immunglobulin ağır zinciri ile birleşmenin olduğu t(14;18)(q32;q21) translokasyonu gözlenmiştir^{18,21}.

Hassas in-situ hibridizasyon metodlarıyla Hodgkin vakalarının % 50'sinin EBV ile ilişkili olduğu gösterilmiştir²¹. Malign hücrelerin % 50'sinden fazlasında EBV genomu tespit edilmiştir. İnfeksiyöz mononukleoz hikayesi olanlarda HH sıklığı, normal popülasyona göre 3 kat daha fazladır²².

Hodgkin hastalığında, yedi etkenin değerlendirildiği prognoz skorlamasını geliştirmiştir. HH prognoz skorlaması Tablo 6'da gösterilmiştir. Bu etkenler, erkek cinsiyet, 45 yaşında veya daha büyük olmak, evre IV olması, beyaz kan hücrelerinin 15.000/ μ l'ye eşit veya yüksek olması, lenfosit oranının % 6'dan az olması veya 800/ μ l'den az olması, hemoglobinin 10,5 g/dl'den az olması ve albuminin 4g/dl'den az olmasıdır. Herbir faktörün varlığı 5 yıl süre içinde progresyonun olmama olasılığını yaklaşık %7 oranında düşürür²¹.

Tablo 6: Prognoz Skorlaması²¹.

Faktör Sayısı	Populasyon (%)	Progresyonsuz 5 yılın tahmini değeri (%)
0	7	84
1	22	77
2	29	67
3	23	60
4	12	51
5-7	7	42

2.1.6. Multipl Miyeloma (MM)

Multipl Miyeloma (MM), genellikle monoklonal immunglobulin üreten neoplastik plazma hücrelerinin neden olduğu, B tipi hücre malignitesidir. Tüm malignitelerin % 1'ini, hematolojik malignitelerin ise % 10'unu oluşturur. Ortalama yaş yaklaşık 65'tir. Klinik bulgular heterojen olmasına karşın tümör oluşumu, monoklonal immunglobulin üretimi, normal plazma hücrelerinden immunglobulin üretiminin azalması ile hipogamaglobulinemi oluşması, bozulmuş hematopoezis, osteolitik kemik hastalığı, hiperkalsemi ve renal disfonksiyon gibi bulgular içerir ²⁵. MM tanısı için en az bir major ve bir minör veya 2 tanesi minör kriterlerin birincisi ve ikincisi olmak üzere üç minör kriter bulunması şarttır. MM tanı kriterleri tablo 7'de gösterilmiştir.

Tablo 7: MM Tanı Kriterleri²⁶

<p>Major Kriterler</p> <ol style="list-style-type: none">1. Biopside plazmasitom tanısı.2. Kemik iliğinde plazmasitoz (> %30).3. M komponent varlığı: Serum: IgG > 3.5 g/dl, IgA >2 g/dl İdrar: amiloidoz olmaksızın >1 g/24 saat kappa veya lamda hafif zincir atılımı (Bence Jones proteini)
<p>Minör Kriterler</p> <ol style="list-style-type: none">1. Kemik iliğinde plazmositoz (%10-20)2. M komponentinin yukarıda belirtilen değerlerden daha az miktarda var olması.3. Litik kemik lezyonları4. Azalmış normal immünglobulinler (normalin <%50'si) : IgG <600 mg/dl, IgA <100 mg/dl, IgM <50 mg/dl

Radyasyon ve kimyasal maruziyet MM insidansını arttırır. İnsan herpes virus 8'in (HHV8- Kaposi Sarkoma Virus) MM hastalarında varlığı gösterilmiştir²⁵.

Karyotipik anomalilerin karmaşıklığı ve tekrarlayan kromozomal değişikliklerinin olmayışı, MM için özel moleküler lezyonları araştırmaya engel olmaktadır. N-RAS mutasyonları hastaların % 50'sinde gözlenmiştir. BCL-2 proteini, normal ve malign plazma hücrelerinin her ikisinde de yüksek düzeyde bulunur. Floresan in-situ hibridizasyon (FISH) kullanılarak yapılan çalışmalarda, RB1 veya p53 mutasyonları ve delesyonları malign plazma hücrelerinin % 50'sinden fazlasında bulunmuştur. Vakaların % 20-40'ında immünglobulin ağır zincirlerinin bulunduğu 14q32 bölgesinde translokasyonlar görülür²⁷. Bu vakaların % 30'unda, translokasyon BCL-1 (PRAD1) lokusunu taşıyan 11q13 [t(11;14)(q13;q32)] ile olur^{20, 27}. Kromozom 13'ün kısmi ya da bütün delesyonu prognozun kötülüğü ile ilişkilidir. Bu kromozom üzerindeki kritik bölgeler 13q12, 13q14 ve 13q21-22 bantlarıdır²⁵.

Hastalarda genellikle anemi, kemik ağrısı, patolojik kırıklar, kanamaya eğilim ve periferik nöropatiler görülebilir. Bu semptomlar, tümör kitle etkisi ve tümör hücrelerinden salınan protein veya sitokinlerin etkisi ile oluşmaktadır²⁵.

Durie-Salmon evreleme sistemi, bu hastalık için uzun zamandır kullanılmaktadır. Tümör evreleme sistemi, hemoglobin konsantrasyonunun, ürin ve serumdaki protein düzeyinin ve kalsiyum düzeyinin ölçüldüğü standart laboratuvar tetkikleri ve hastalığın tuttuğu kemiklere göre yapılır²⁵. Durie-Salmon evreleme sistemi tablo 8'de gösterilmiştir.

Tablo 8: Durie-Salmon Evreleme Sistemi ²⁵

<p>1. Büyük tümör kitlesi (Evre III)</p> <p>Aşağıdaki anomalilerden biri bulunmalı</p> <p>a. Hemoglobin <8.5 g/dl, hematokrit <% 25</p> <p>b. Serum kalsiyum >12mg/dl</p> <p>c. Çok yüksek serum veya ürin miyeloma protein üretim oranı</p> <p>1. IgG >7 g/dl</p> <p>2. IgA >5 g/dl</p> <p>3. Bence Jones protein > 12g/24h</p> <p>d. Üçten fazla kemik lezyonu</p>
<p>2. Düşük Tümör Kitlesi (Evre I)</p> <p>Aşağıdaki anomalilerin hepsi bulunmalı</p> <p>a. Hemoglobin >10.5 g/dl veya hematokrit > % 32</p> <p>b. Serum kalsiyum normal</p> <p>c. Düşük serum miyeloma protein üretim oranı</p> <p>1. IgG <5 g/dl</p> <p>2. IgA <3 g/dl</p> <p>3. Bence Jones protein < 4g/24h</p> <p>d. Kemik lezyonu veya osteopetrozis yokluğu.</p>

3. Orta tümör kitlesi (Evre II)

Yüksek veya düşük tümör kitlesi kategorilerine girmeyenler, orta tümör kitlesine sahiptir.

- a. Böbrek yetmezliği yokluğu (Kreatinin \leq 2mg/dl)
- b. Böbrek yetmezliği varlığı (Kreatinin $>$ 2 mg/dl)

MM'un seyri değişkendir. Bazı hastalarda hastalık yavaş seyreder ve sağkalım uzundur, bazılarında ise agresif hastalık tablosu içinde hasta kısa sürede kaybedilir. Ancak, hastaların çoğu bu iki ucun arasında bir yerde bulunur. Ortalama sağ kalım 3-5 yıldır²⁶.

2.1.7. Non Hodgkin Lenfomalar (NHL)

Non Hodgkin lenfomalar (NHL), lenfositlerin neoplastik klonal proliferasyonu sonucu oluşur. NHL, lenf bezlerini, ektranodal dokuları veya her ikisini tutar. Çoğunlukla lenf bezleri tutulur. Karaciğer, dalak ve kemik iliği tutulumu tabloya eşlik edebilir²⁴.

NHL, Amerika'da en sık gözlenen 5. kanserdir²⁸. NHL insidansı son 30 yıl içinde ikiye katlanmıştır. Hastalık gelişenlerde 5 yıl hayatta kalım beklentisi 1960'larda yaklaşık % 31 iken, 1990'larda yaklaşık % 60'a yükselmiştir²⁸. NHL insidansı son 30 yıl içerisinde ikiye katlanmıştır²⁸. NHL erkeklerde daha sık görülmektedir, beyazlarda zencilere göre daha sık gözlenmektedir²⁸. NHL insidansı yaş ile artmaktadır. Hastalık insidansı, 20-24 yaş arasında 100.000 insanda 2.4 iken, 60 yaş üstünde 18 kat artarak 100.000 kişide 44.2'ye, 75 yaşından sonra ise 100.000 kişide 100 'e çıkar²⁸.

Lenfomanın insidansının kimyagerler, çiftçiler, lastik, asbest ve arsenik üretiminde çalışanlarda arttığı gösterilmiştir. Benzen ve herbisit gibi çeşitli ajanlara maruz kalan kişilerde lenfoma insidansında artış gözlenmiştir²⁹. Radyasyona maruz kalma ile lenfomalar arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Yetişkin T hücre lenfoma/lösemisinin gelişmesi ile İnsan T Hücre Lösemi-Lenfoma Virüs I (HTLV-I) arasında ilişki gösterilmiştir^{28,30}. Bazı B hücre lenfomalarından EBV virüsü sorumlu olabilir. EBV, Herpes virüs ailesinden bir

DNA virüsüdür, ilk olarak Afrikalı Burkitt lenfoma hastalarında gösterilmiştir. EBV, endemik Burkitt lenfomalı hastaların % 95'inde ve non endemik Burkitt lenfomalı hastaların %20'sinde bulunmuştur³⁰. Organ transplantasyonu nedeni ile ilaçlarla immun sistemi baskılanmış hastalarda, enfekte olmuş poliklonal B hücrelerinin benign olarak çoğalmasından, agresif malign lenfomaya kadar çeşitli anormallikler görülebilir^{28,30}. Doğuştan veya kazanılmış immun bozukluğu olan hastalarda EBV nedeniyle B hücreli lenfomalar geliştiği gözlenmiştir³⁰. Helicobacter pylori, midede MALT (Mucosa associated lenfoid tissue) lenfomasına neden olmaktadır^{28,30}. Hashimoto tiroiditi, tiroid lenfomaları ile ilişkilidir. Sjögren sendromu gibi bazı otoimmun hastalıklar lenfoma riskini artırmaktadır^{24,28}.

Kromozom anomalileri lenfomalarda siktir. Follikül merkezli lenfoma hastalarının % 85'i t(14;18)(q32;q21) taşır. 18q21 üzerindeki BCL-2 geni 14q32 üzerindeki immunglobulin (Ig) ağır zinciri ile birleşir. BCL-2 ekspresyonunu artırmaktadır. BCL-2 apoptozisi inhibe ederek hücrelerin uzun yaşamasına neden olmaktadır. Burkitt lenfomada, kromozom 8 üzerindeki c-MYC onkogeni, kromozom 14 üzerindeki Ig ağır zinciri ile t(8;14)(q24;q32), daha az sıklıkla kromozom 2 üzerindeki κ bölgesi ile t(2;8)(p13;p24) veya kromozom 22 üzerindeki λ bölgesi ile t(8;22)(q24;q11) translokasyonlarını yapar^{30, 31}. T hücreli lösemi ve lenfomalarda en sık görülen anormallikler 3q, 6q, 14q'nun trizomi, parsiyel trizomileri veya inversiyonlarıdır. Daha az sıklıkla görülen anormallikler X kromozom kaybı, t(9;21), 5p, 2q⁺, 17q⁺ ve trizomi 18 anormallikleridir³⁰.

Hastalarda gece terlemeleri, ateş veya 6 ay içinde vücut ağırlığının % 10 kaybı B semptomları olarak tanımlanır^{28,30}. B semptomlarının varlığı kötü prognoz belirtisidir. Bütün lenf nodu bölgeleri açısından muayene yapılmalıdır. Tutulan lenf nodları sert, fiske ve lastik kıvamındadır. Agresif lenfomalar, deri ve merkezi sinir sistemi gibi ekstra nodal bölgeleri tutma eğilimindedirler³⁰.

Rapport, 1966 yılında lenfoma hücrelerinin büyüklüğünü ve şeklini temel alan, morfoloji ile klinik bulgular arasında ilişki kurmaya çalıştığı sınıflama sistemini yayınlamıştır. 1974'te Lukas ve Collins, morfoloji ve immunolojik fenotipin beraber kullanıldığı sınıflama sistemini yayınlamışlardır. Diğer bir sınıflama, Kiel sınıflaması, Avrupa'da yaygın olarak kullanılmıştır. 1982'de Uluslararası Kanser Enstitüsünün desteğiyle hali hazırda varolan bütün sınıflandırmalar kullanılarak bir "Working formulation" oluşturulmuştur³⁰.

Working formulation sınıflaması Tablo 9'da gösterilmiştir. 1994 yılında Uluslararası lenfoma çalışma grubu, Düzeltilmiş Avrupa Amerika Lenfoid Neoplazi sınıflamasını yayınlamışlardır. Bu sınıflandırma B hücre, T hücre kökenli maligniteleri ve Hodgkin hastalığını içermektedir. Aynı zamanda, T ve B serileri indolent lenfoma (düşük risk), agresif lenfomalar (intermediate risk) ve çok agresif lenfomalar (yüksek risk) olarak üç alt gruba ayrılırlar³⁰.

Tablo 9: NHL'da Kullanılan Working Formulation Sınıflaması^{24,30}

Düşük Dereceli (Low Grade) A. Küçük Lenfositik B. Folliküler, çentikli küçük hücreli C. Folliküler, çentikli küçük hücreli ve büyük hücreli mikst
Orta Dereceli (Intermediate Grade) D. Folliküler, büyük hücreli E. Diffüz, çentikli küçük hücreli F. Diffüz, çentikli küçük hücreli ve büyük hücreli mikst G. Diffüz, büyük hücreli
Yüksek Dereceli (High Grade) H. Büyük hücreli, immunoblastik I. Lenfoblastik J. Çentiksiz, küçük hücreli

NHL'ları evrelemek için Ann Arbor evreleme sistemi kullanılır. Evreleme yaparken hastalığın anatomik yayılımı ve eşlik eden sistemik belirtilerin olup olmadığı dikkate alınır²⁴.

Histolojik alt tip, önemli bir prognostik faktördür. Hastalar hücre tiplerine göre düşük riskli, orta derecede riskli ve yüksek riskli olarak ayrılır. Hasta yaşı da prognozu etkiler ve 60 yaş üzerinde sağ kalım zayıftır. Ekstranodal hastalık kötü prognoz ile ilişkilidir. Özellikle santral sinir sistemi tutulumu daha saldırgan histoloji gösterir ve bu kişilerde AIDS insidansı yüksektir. Tümör kitlesi ve büyüme oranı prognoz ile ilişkilidir. Tümör kitlesi 10 cm'den büyük ise, bu kötü prognoz gösterir. T hücre fenotipinin kötü prognoz ile ilişkili olabileceği öne

sürülmüştür. Rastgele olmayan kromozomal anormallikler kötü prognoz ile ilişkilidir. Ann Arbor sınıflamasında derece II ve IV olması kötü prognoz ile ilişkilidir. Hastanın performans düzeyi de, fiziksel kapasitesini yansıtan bir belirteçtir²⁴. Bu hastalar, normal aktivitesini sürdürebilenler (özel bakıma ihtiyaç duymayanlar), çalışamayanlar (evde yaşayabilip, bazı ihtiyaçlarını yardımla görebilenler) ve kendine bakamayacak durumda olanlar (hastane ve eşdeğer bir enstitüde bakımı yapılanlar) olarak üç gruba ayrılırlar³⁰. Zamanının büyük bölümünü yatarak geçiren hastaların performans durumu kötü olarak kabul edilir²⁴. Uluslararası lenfoma prognostik faktör indeksi, Ann Arbor sınıflamasında derece II veya IV'ü, 60 yaştan büyük olmayı, yükselmiş LDH konsantrasyonunu, zayıf performans düzeyini ve birden fazla ektranodal tutulumun olmasının her birini bir risk faktörü kabul edip, toplamalarına göre hayatta kalım oranını hesaplamaktadır^{28,30}. Bu indekste 5 yıllık hayatta kalım, 0-1 risk faktörü için % 73, 2 için % 51,3, 3 için % 43, 4-5 için ise % 26 öngörülmektedir³⁰.

2.2. Matriks Metalloproteinaz

Matriks metalloproteinazlar (MMP), yapısal ve fonksiyonel olarak çinko ile ilişkili bir endopeptidaz ailesidir^{2,3,4}. İlk bulunan MMP proteini olan intestinal kollajenaz, yaklaşık 30 sene önce Cross ve Lepier tarafından amfibi dokusunda keşfedilmiştir^{3,32}. İribaşlarda, kuyruğun ayrılmasından sorumlu olduğu gösterilmiştir³.

Matriks metalloproteinazlar çeşitli patolojik ve fizyolojik süreçlerde rol oynarlar^{2,3,4,5}. Hedef substratları ekstraselluler matriks, hücrel reseptörler, büyüme faktörleri ve sitokinler gibi büyük çeşitliliktedir. MMP'ler gelişim ve hastalık sırasında doku büyümesi ve yeniden modellenmesinde, endometrial döngüde, anjiogeneziste, hücrel migrasyonda, iskelet formasyonunda, inflamasyonda, yara iyileşmesinde, koagulyasyonda, aynı zamanda patolojik süreçlerde peridontal, romatolojik, kardiyovasküler, pulmoner hastalıklarda, nöroinflamasyonda, kanser ve metastazda da rol oynarlar^{2,4,5}.

2.2.1. MMP Ailesi

Bugüne kadar insanlarda 24 MMP aile üyesi tanımlanmıştır⁵. MMP'lar substrat özelliğine, bölge organizasyonuna ve dizi homolojisine göre, Kollajenazlar, Jelatinazlar, Stromelezinler, Matrilizinler, MT-MMP (Membran tipi MMP)'ler ve diğer MMP tipleri olmak üzere 6 gruba ayrılırlar^{5,32}. Metal içeren proteaz ailesinin karakteristik bazı özellikleri vardır: Her biri bazal membranın en az bir komponentini yıkar, fizyolojik pH'da aktiftirler, aktivasyonları için iki çinko iyon molekülüne ihtiyaç duyarlar, metal şelatörleri ve metalloproteinazların doku inhibitörleri (Tissue Inhibiting of Metalloproteinase-TIMP) ile inhibe olurlar, zimojen olarak salınıp ekstraselluler ortamda aktive olurlar³².

2.2.1.1. Kollajenazlar (MMP-1, MMP-8, MMP-13 ve MMP-18)

Kollajenazlar, kollajenaz-1 (MMP-1), kollajenaz-2 (MMP-8, nötrofil kollajenaz) ve kollajenaz-3'ü (MMP-13) içerir. Xenopus'ta (Kurbağa türü) 4. tip kollajenaz (MMP-18) bulunmasına karşın insandaki homoloğu tespit edilememiştir⁵. Bu proteazlar, major fibriller kollajenleri (tip I, II, III) keserler. İlk tanımlanan kollajenaz olan MMP-1, tip III kollajene, tip I ve tip II'den fazla ilgi (Affinite) duyar. Bu enzim aynı zamanda ekstraselluler matrikste bulunup, kollajen olmayan, IL-1 β ve tümör nekrozis faktör (TNF)- α 'yı da keser⁵. MMP-1 fizyolojik ve patolojik olarak yeniden modellenen çeşitli dokularda tespit edilmiştir. MMP-1 yara iyileşmesinde keratinositlerden salınır ve $\alpha 2\beta 1$ integrin ve tip I kollajenlere bağlanarak hücre migrasyonunu düzenler. MMP-1 ekspresyonunun göğüs kanserinin prekanseröz aşamasını gösteren bir belirteç olabileceği belirtilmiştir³³. Fare akciğerinde transgenik insan MMP-1'in ekspresyonunun, akciğer yapısını bozarak amfizeme neden olduğu ileri sürülmüştür⁵. Bu amfizematöz değişiklikleri, alveolar duvarın hayati yapısal elementlerinden biri olan tip III kollajende anlamlı düşüişlere neden olarak oluşturduğu tespit edilmiştir³⁴. Amfizemi olan hastalarda akciğerde MMP-1 ekspresyonu olmakla beraber, normal akciğerde bu ekspresyon gözlenmemiştir. Amfizemde major risk faktörü olan sigara, pulmoner epitel hücrelerinde MMP-1'in ekspresyonunu tetiklemektedir³⁵. İnsan MMP-1'ini squamoz epitelinde

eksprese edebilen transgenik farelerde, hiperproliferatif deri lezyonları geliştiği ve bu farelerin kimyasal karsinojenlere hassas oldukları gözlenmiştir³⁶. Kalbinde transgenik MMP-1 ekspresyonu olan farelerde, intersitisyel kollajen kaybı, sistolik ve diyastolik fonksiyon kaybı gözlenmiştir³⁷. Bu modelde, kalp ekstraselluler matriksinin direkt parçalanışının, insan kalp yetmezliğinde gözlenen bulguların ortaya çıkmasına neden olduğunu gözlenmiştir³⁷. Stroke ve miyokardiyal infarktüsü, aterosklerozun komplikasyonlarıdır. Ateroskleroz büyük ve orta büyüklükteki damar duvarlarını etkileyen karmaşık bir inflamatuvar süreçtir³⁸. Bu sendromlar, aterosklerotik lezyon bölgesini saran fibröz başlığın erozyonu veya rüptürü ile olur. MMP-1'i de içeren proteazlar plaktaki makrofajlardan salınır, bunun fibröz plağı destabilize edip, rüptüre neden olduğu düşünülmektedir³⁹. Sürpriz bir şekilde apo-E knock out farelerde aterosklerozun yaygınlık olmasına karşın, makrofajlarından insan MMP-1'ini ekspresyonu yapması sağlandığında farelerde plak rüptürü başlangıcı araştırmacılar tarafından gözlenmemiştir⁴⁰. Bu transgenik farelerin kollajen içeriğinin azalması nedeniyle olgun lezyon gelişmesinde düşme olduğu gösterilmiştir. MMP-1'in doku yeniden modellenmesi ve tamiri ile ateroskleroza karşı koruyucu rol oynayabileceği iddia edilmiştir⁴⁰.

Kollajenaz-2 (MMP8-Nörofil Kollajenaz), genellikle inflamatuvar hastalıklarda aktiflenen nötrofillerden salınmaktadır⁵. Bütün MMP'ler gibi kollajenaz-2 de, tümörlerde tespit edilebilmektedir⁵. Farelerde MMP-8 postpartum uterusunda eksprese edilir ve burada doku yeniden modellenmesinde rol oynar⁴¹. MMP-8 knock out fareler, embriyonik gelişimlerinde veya yetişkin hayatlarında herhangi bir anormallik göstermemelerine karşın deri tümörlerine karşı artmış hassasiyet gözlenmiştir ve bu bulgularla nötrofil kollajenazın kansere karşı koruyucu olduğu iddia edilmiştir⁴². Son zamanlarda yapılan çalışmalarda knock out farelerde nötrofil infiltrasyonuna ve ölümcül hepatite karşı koruyuculuğun azaldığı gösterilmiştir ve bu da kollajenaz 2'nin akut karaciğer kaybında merkezi rol oynadığını düşündürmektedir⁵. MMP-8 düz kas hücrelerinin fibröz başında ve aterosklerozun epitelindeki makrofajlarda tespit edilmiştir. Buralarda kollajen yeniden modellenmesinde ve inflamasyonda görev alabileceği düşünülmektedir⁴³.

Üçüncü tip insan intersitisyel kollajenazı MMP-13'tür. MMP-13, proteoglikan, fibronektin, laminin, elastin ve tip IV kollajeni substrat olarak

tanıyıp kesebilmektedir⁴⁴. Fetal gelişim sırasında hipertrofik kondrosit ile osteoblastik hücrelerden eksprese edilir ve postnatal dokularda iskelet yeniden modellenmesinde yeniden eksprese edilir⁵. Kollajenaz 3'ün iskelet gelişimindeki önemi, MMP-13 knock out farelerde kartilajdaki büyüme plağında, akut defekt ve endokondriyal ve primer kemikleşme merkezinin oluşumunda gecikme gözlenmesi, kollajenaz 3'ün iskelet gelişimindeki önemini belirtmektedir⁴⁵. Aktif MMP-13'ün ekspresyonunun yapıldığı transgenik farelerde, eklem kartilajında, kartilajın ana komponenti ve kollejenaz-3'ün hedefi olan, tip II kollajenin artmış yıkımının gözlendiği ve insan osteoartritinin oluştuğu gözlenmiştir⁴⁶. Son zamanlarda, MMP-13'te gözlenen bir mutasyonun enzimin otodegradasyonuna neden olup, otozomal dominant spondiloepimetafizyal displaziye neden olarak, kemik ve vertebranın modellenmesi ve büyümesinde bozukluk oluşturduğu iddia edilmiştir⁴⁷. MMP-13, aterosklerotik lezyonlardaki makrofajlarda MMP-1 ile birlikte bulunduğu gösterilmiştir⁴⁸.

2.2.1.2. Jelatinazlar (MMP-2 ve MMP-9)

Jelatinazlar (MMP-2 ve MMP-9), denatüre kollajen ve jelatini etkili şekilde parçalar. MMP-2 (Jelatinaz A) kollajen tip IV, tip V, tip VII ve tip X'u, elastini, fibronektini, laminini ve çeşitli kemokinleri degrade eder ve pro mmp-1 ve pro mmp-9'u aktive eder⁵. MMP-2 knock out fareler küçük olmalarına karşın iskelet anormallikleri geliştirdikleri gözlenmemiş⁴⁹. MMP-2'nin kardiyovasküler hastalıklardan ateroskleroz, anevrizma⁵⁰ ve miyokard infarktüsünde rol oynadığı iddia edilmiştir⁵¹. Miyokard infarktüsünde ekstrasellüler matriksin proteazlar ile yıkılımının ölümcül kalp rüptürüne neden olduğuna inanılmaktadır. MMP-2'nin farmakolojik inhibisyonu veya gen delesyonunun, farelerde kardiyak rüptüre karşı koruyucu olduğu gözlenmiştir, bunun ekstrasellüler matriks degradasyonunu önlediği gösterilmiştir⁵². Anevrizmalar genellikle ateroskleroz ile ilişkilidir ve damarların mediasının yapısal ve hücresel elemanlarının yıkımı ile karakterizedir. MMP-2'nin knock out farelerin, deneysel olarak oluşturulan abdominal aortik anevrizmadan korunduğu tespit edilmiştir⁵³. Deneysel otoimmün ansefalit'te, MMP-2 knock out fareler muhtemelen MMP-9'un

tamamlayıcı ekspresyonu nedeni ile daha şiddetli ve erken başlangıçlı hastalık geliştirdikleri gözlenmiştir⁵⁴.

MMP-9, kollajen tip IV, tip V, ve tip XI'i, tip I kollajenin N- telopeptitlerini, agrekan, kartilaj bağlantı proteinini ve elastini etkili bir şekilde yıkar⁵⁵. MMP-9, IL1- β ve transforming growth faktör - β (TGF- β) gibi sitokinleri aktifler⁵⁶ ve plazminojeni anjiostatine çevirir⁵⁷. MMP-9 knock out fareler yaşayabilir ama iskelet büyüme plağı vaskularizasyonu ve kemikleşmesi anormal yapı sergiler⁵⁸. Bu farelerde apoptozis, vaskularizasyon ve kemikleşme gecikmiştir ve büyüme plağında ilerleyici büyüme olduğu gözlenmiştir⁵⁸. MMP-9'un kemik iliğinde uyarılması, sessiz halde duran endotelial ve hematopoetik kök hücrelerin proliferatif aşamaya geçmesine neden olarak hematopoetik yeniden yapılanmayı kolaylaştırır⁵⁹. Murin astım modellerinde, MMP-9'da eksiklik, lenfositik inflamasyonda ve peribronşial mononükleer hücre infiltrasyonunda düşmeye neden olur, bu bulgular ile jelatinaz B'nin, allerjene maruz kalımdan sonra gelişen havayolu inflamasyonunda önemli rol oynadığı düşünülmektedir⁶⁰. MMP-9 delesyonu, miyokard infarktüsünden sonra yeniden modellenmeyi, sol ventrikül fonksiyonunu düzelterek⁶¹ ve miyokardiumda neovaskularizasyonu artırarak⁵ değiştirir. Unstabil anjinası olan hastalardan alınan koroner arter örneklerinde, artmış MMP-9 ekspresyonu göstermiştir. İnsan MMP-9 promoter dizisindeki varyantın, enzimin artmış ekspresyonu ve aterosklerozun şiddetinin artışı ile ilişkili bulunmuştur⁶². MMP-9 ekspresyonu düzgün olmayan farelerin düz kas hücrelerinde in vitro olarak migrasyonun bozulduğu gösterilmiştir⁶³. Bulgular MMP-9 aktivitesinin, lezyon olgunlaşmasının kritik basamağı olan düz kas hücresi infiltrasyonunun olması için gerekli olduğunu göstermektedir⁶⁴. MMP-9 ekspresyonu bozuk olan, apo ϵ knock out farelerde ateroskleroz azalmış, makrofaj infiltrasyonu bozulmuş ve kollajen birikiminin düştüğü gözlenmiştir. Bu bulgular ile MMP-9'un bu hastalıkta zararlı rol oynadığı tespit edilmiştir⁶⁵. Bunun tersine Johnson ve arkıları, MMP-9 knock out farelerde brakiosefalik arterde çeşitli ateroskleroz lezyonlarının olduğu gösterilmiştir ve jelatinaz B'nin aterosklerozdan koruyucu olabileceği tespit edilmiştir⁶⁶. MMP-9, abdominal aortik anevrizmada eksprese edilmektedir⁶⁷. MMP-9 ekspresyon bozukluğunun, çeşitli deneysel modellerde anevrizma oluşumundan koruduğu ve jelatinaz B'nin damar duvarlarının parçalanmasında önemli rol oynadığı gösterilmiştir⁶⁵. MMP-9, inflamatuvar nörolojik hastalık gelişiminde de rolü olduğu

tespit edilmiştir⁶⁸. Bu proteazın bozuk olduğu farelerin deneysel otoimmün ansefalomyelitin gelişmesine daha az hassas olduğu ve nötrofil infiltrasyonlarında düşme olduğu gösterilmiştir⁶⁸.

2.2.1.3 Stromelizinler (MMP-3 ve MMP-10)

Stromelizin 1 ve 2, proteoglikanlar, fibronektin, nidogen, laminin, kazein, jelatin, kollajen (tip IV, tip IX ve tip X), tenaskin, vitronektin ve dekorini yıkabilir⁶⁹. Stromelizinlerin her ikisi de pro MMP-9 ve prokollajenazı aktifleyebilir⁶⁹. MMP-3'ün (Stromelizin-1) stromal hücrelerde, meme glandı gelişimi sırasında ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir⁷⁰. Farede, transgenik aktif MMP-3'ün meme epitelinde gebelik ve emzirme sırasında ekspresyonu, endojen MMP-3 ekspresyonunu, fibrozisi, neovaskularizasyonu ve tenascin-c ekspresyonunu artırdığı gösterilmiştir⁷¹. İlerleyen dönemlerde bu transgenik farelerde spontan malign lezyonlar ve meme kanseri geliştiği gösterilmiştir. Bu nedenle MMP-3'ün kanser oluşumunda rol oynayabileceği tespit edilmiştir⁷². MMP-3, kemik ve kartilaj hastalıklarının gelişiminde rol oynamaktadır. Disk hernisi oluşturan modellerde rezorpsiyonda, MMP-3'ün kondrositlerce sekrete edildiği gösterilmiştir. Bu modellerde, MMP-3'ün rezorpsiyon ve makrofaj invazyonu için gerekli olduğu saptanmıştır⁷³. MMP-3 defisiti olan farelerde oluşturulan deneysel artrit modellerinde, kartilaj erozyonuna direnç olduğu gösterilmiştir⁷⁴. Ateroskleroz modellerinde, MMP-3 knock out farelerde büyük lezyonlar görülmektedir, bu bulgular ile stromelizin-1'in bu hastalığa karşı koruyucu olduğu iddia edilmiştir⁷⁵. Bu farelerde medial yıkımın olmayışının gözlemesi nedeniyle, MMP-3'ün anevrizma oluşumuna katkıda bulunduğu iddia edilmiştir⁷⁵. MMP-3'ün bağışıklık mekanizmalarında da etkili olduğu saptanmıştır. MMP-3 ekspresyonu bozuk olan farelerde, intestinal infeksiyon sırasında bakteri temizlenmesi ve CD4 T lenfositlerinin migrasyonunun bozulduğu gösterilmiştir⁷⁶.

Stromelizin-2 (MMP-10), karsinomalar ve doku iyileşmesinde de rolü olduğu tespit edilmiş ve aynı zamanda keratinositlerin migrasyonunda rol oynadığı gösterilmiştir⁷⁷.

2.2.1.4. Matrilizinler (MMP-7 ve MMP-26)

MMP-7 (Matrilizin 1), tip IV kollajen, laminin ve entaktini substrat olarak kullanmaktadır⁵. Fizyolojik koşullar altında, MMP-7, mukoza ve epitel hücrelerinin ekzokrin gland hücrelerinden sekrete edilmekte ve bir antibakteriyal peptit olan defensini aktiflemektedir⁷⁸. Aynı zamanda postpartum uterusun yeniden modellenmesinde görev almaktadır⁷⁹. MMP-7, kanserde ve erken evre kolorektal tümörlerde eksprese edildiği tespit edilmiştir. Fare kolon kanseri modellerinde, matrilizin-1'in ekspresyonu olmadığında, intestinal yolda tümör gelişiminin azaldığı gösterilmiştir⁸⁰. MMP-7'nin, proteoglikan degradasyonu, kültürde intervertebral disklere makrofaj infiltrasyonu, makrofajlardan TNF- α salınımı için gerekli olduğu gösterilmiştir⁸¹. Matrilizin-1, aterosklerozda da eksprese edilmektedir. MMP-7 ve apo E genlerinin knock out olduğu farelerde, infiltre edilmiş düz kas hücresi sayısında artma tespit edilmiş buna karşın plak büyümesine etki gösterilememiştir⁸². MMP-7 knock out fareler, bleomisin uygulamasından sonra akciğer fibrozisi geliştirmemişler. Bu bulgularla araştırmacılar matrilizin-1'in idiyomatik pulmoner fibroziste potansiyel terapötik hedef olabileceği saptanmıştır⁸¹.

MMP-26'ın (Matrilizin-2 veya Endometaz), fizyolojik şartlarda uterusu, böbrekte, plasentada ekspresyonunun yapıldığı, akciğer kanseri ve endometrial kanserde de eksprese edildiği gösterilmiştir⁸². Matrilizin-2, tip IV kollajeni, fibronektini, vitronektin ve fibrinojeni yıkabilmektedir⁸². Fare uterusunda östrojen döngüsünde ve erken gebelikte eksprese edilmektedir. MMP-26, embriyo implantasyonunda da rol oynadığı gösterilmiştir⁸⁵. Matrilizin-2 ekspresyonunun, doku iyileşmesinde ve erken deri karsinogenezinde keratinositlerde arttığı gösterilmiştir⁸³.

2.2.1.5. Membran Tipi MMP'ler (MMP-14, MMP-15, MMP-16, MMP-17, MMP-24 ve MMP-25)

Membran tipi MMP (MT-MMP)'ler migrasyon, differansiasyon, apopitozis, proliferasyon gibi çeşitli fonksiyonları düzenleyen, hücre etrafındaki proteolizisin esas molekülleridir. MT-MMP grupları, dört transmembran enzimi (MMP-14, MMP-15, MMP-16 ve MMP-24) ve glikozilfosfatidilinozitol (GPI) bağlayıcı proteazlardan (MMP-17 ve MMP-25) oluşmaktadır⁵.

MMP-14 (MT1-MMP), pro MMP-2'nin ve pro MMP-13'ün fizyolojik aktivatörüdür⁵. MMP-14, major fibriller kollajeni (Ohuchi) içeren pek çok substratı kesebilir ve hücre migrasyonu, stroma yeniden modellenmesi, anjiogenezis ve doku tamiri gibi çeşitli fizyolojik süreçlerde rol oynamaktadır⁵. MMP-14, kanser, kalp yetmezliği, ateroskleroz ve astım gibi çeşitli patogenezlere rol oynayabilir. MMP-14 knock out fareler, çeşitli iskelet anormallikleri ve seksüel olgunlaşmama tespit edilmiştir⁸⁴. MMP-14 ekspresyonu bozuk olan farelerde, anormal alveolar formasyon, hava yolu büyümesi ve alveolar yüzey alanının azalması tespit edilmiştir, bu nedenle MMP-14'ün normal gelişimde de önemli bir rolü olduğu saptanmıştır⁸⁵. Karsinomada ekspresyonu artan MMP-15'in (MT2-MMP), kanser hücrelerinde antiapoptotik etkisi olduğu gösterilmiştir⁸⁶. MMP-16(MT3-MMP), ilk olarak tümör dokularında gösterilmesine karşın, plasenta, beyin, akciğer ve düz kas hücrelerinin damarları gibi normal dokularda da eksprese edilebilmektedir⁸⁷. MMP-24(MT5-MMP), beyinde eksprese edilmektedir⁸⁸. Santral ve periferik sinir sisteminin nöronlarında da ekspresyonu tespit edilebilmiştir⁸⁹. MMP-24, rodentlerin sinir sisteminde embriyonik gelişim sırasında fazla miktarda eksprese edilmektedir. Yetişkin rodentlerde ise ekspresyonunun, hormonal plastisiteye sahip serebellum ve hipokampusta lokalize olduğu gösterilmiştir⁹⁰. MMP-24 knock out fareler, kesin bir anormallik göstermemelerine karşın, MMP-24'ün nöronal plastisite için gerekli olduğu gösterilmiştir⁹⁰. MT-MMP'nin son üyesi, MMP-25 (MT6-MMP), lökositlerde, akciğerde ve dalakta bulunan, GPI bağlayıcı bir enzimdir⁹¹. MMP-25, aynı zamanda kolon ve beyin kanserlerinde de tespit edilmiştir, burada tümörün progresyonunda pro MMP-2'yi aktive ederek görev almaktadır⁹¹.

2.2.1.6. Diğer MMP'ler (MMP-11, MMP-12, MMP-19, MMP-20, MMP-21, MMP-22, MMP-23 ve MMP-28)

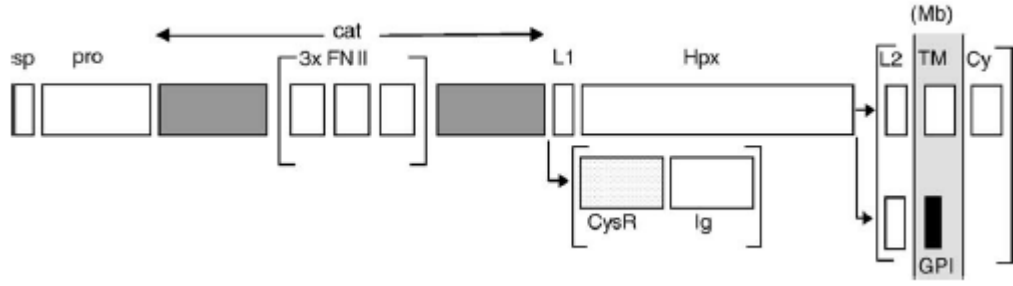
Bu grup, MMP sınıfına ait olmasına karşın, dizi ve substrat özelliklerine göre MMP'ın beş grubuna dahil edilmemiştir. MMP-11 (Stromelizin 3), golgi içinde furin benzeri proteinazlar ile aktiflenir ve aktif enzim olarak salınmaktadır⁹². Stromelizin 1 ve 2'nin tersine Stromelizin 3'ün, α -1 antiproteaz ve insülin benzeri büyüme faktör bağlayıcı protein-1'inde içinde olduğu bilinen çok az substratı vardır⁹³. Stromelizin-3, embriyogenez sırasında, doku involusyonunda, yara iyileşmesinde ve metamorfoziste eksprese edilmektedir⁵. Aynı zamanda aterosklerozda da tespit edilmiştir⁹⁴ ve sahip olduğu parakrin antiapoptotik fonksiyon ile kanser hücrelerinin hayatta kalmasını sağlamaktadır⁹⁵. Makrofajlar, MMP-12 (Metalloelastazın) esas kaynaklarıdır. MMP-12, elastine ek olarak agrekan, fibronektin, laminin ve tip IV kollajen gibi geniş bir substrat grubuna etki edebilmektedir⁵. MMP-12 knock out olan fareler uzun süre sigaraya maruz kaldığında amfizem gelişmediği gözlenmiştir⁹⁶. MMP-12 knock out farelerin makrofajlarında, ekstrasellüler matriks komponentlerini parçalamada anlamlı düşüş vardır⁹⁷. Buna ek olarak, bu makrofajlar in vivo ve in vitro olarak bazal membrana penetre olamadıkları gözlenmiştir⁹⁷. MMP-12 ve apo ϵ 'nin birlikte knock out olduğu farelerde innominent arterinde aterosklerotik lezyonlar küçüktür ve media yıkıma dirençli olduğu gözlenmiştir⁶⁵. Bu bulgular ile MMP-12'nin plak instabilitesini artırdığı ve anevrizma gelişimine neden olduğu iddia edilmiştir⁶⁵. MMP-19 plasenta, akciğer, pankreas, over, dalak ve bağırsakta tespit edilmiştir⁹⁸. MMP-19 tip IV kollajen, jelatin, tenaskin, laminin, nidojen ve agrekan'ı hidrolize edebilmektedir⁹⁹. MMP-19, yapısal olarak epiderminin bazal tabakasından salınır ve insülin benzeri büyüme faktör bağlayıcı protein-3'ü keserek keratinositlerin proliferasyonuna katkıda bulunmaktadır¹⁰⁰. MMP-20 (Enamelezin), dental enamel oluşumunun erken aşamalarında eksprese edilmektedir⁵. MMP-20 knock out farelerde, enamel minerali ve enamelın sağlamlılığı anlamlı ölçüde düşük gözlenmiş, bu nedenle enamel matriksini yaktığı ve bunun da enamel gelişimi sırasında hayati önemi olan proteinin düzgün yıkılması fonksiyonunda rol aldığı gösterilmiştir¹⁰¹. MMP-21, salgılanma yolağında furin benzeri proteazlar ile aktive edilmektedir¹⁰². MMP-21, kanserde,

fare embriyogenezinde ve nöral dokuda tespit edilebilmektedir¹⁰³. MMP-22 (CMMP), tavuk embriyosunun fibroblastlarından klonlanmıştır ve fonksiyonu hala bilinmemektedir¹⁰⁴. MMP-22, in vitro olarak jelatin ve kazein üzerine etkisinin olduğu gözlenmiştir ve insan B lenfositlerinden salınmaktadır¹⁰⁴. MMP-23 (Sistein array MMP), primer olarak over, testis ve prostatta eksprese edilmektedir ve bu nedenle üreme sürecinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir¹⁰⁵. MMP-28 (Epilizin), esas olarak testiste eksprese edilmektedir¹⁰⁶. Aynı zamanda akciğerde, kalpte, ince bağırsakta, beyinde ve epidermiste proteinin düşük düzeyde bulunduğu gözlenmiştir¹⁰⁶. Protein, yaralanmış deride, yara kenarındaki bazal keratinositlerde tespit edilmiştir ve doku tamirinde etkisi olduğu düşünülmektedir¹⁰⁶.

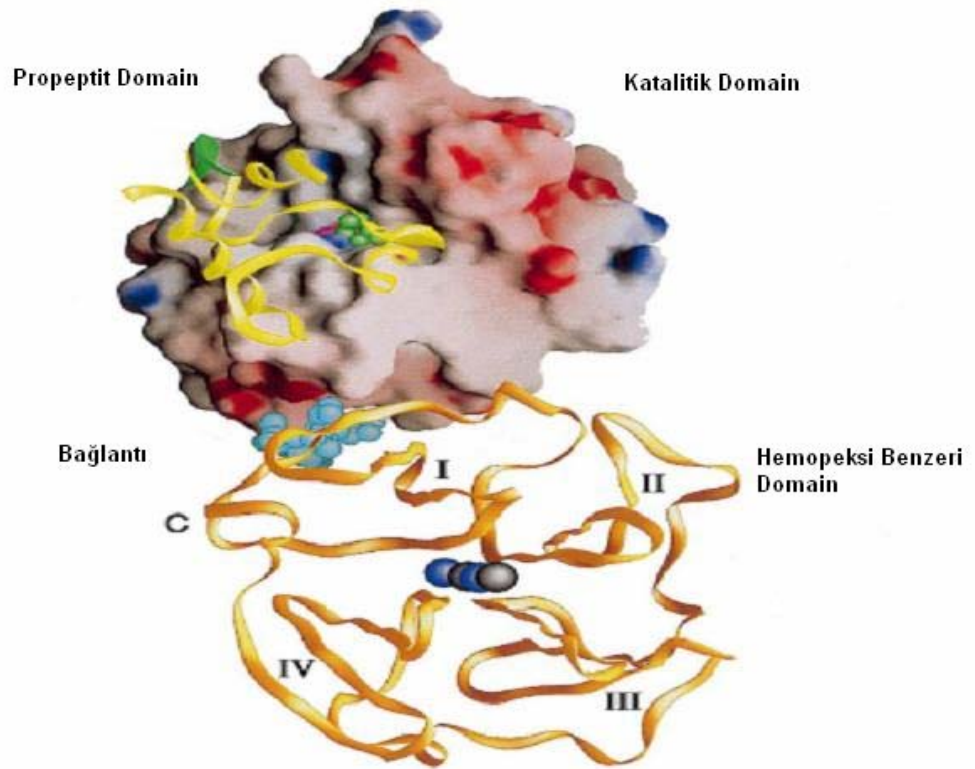
2.2.2. MMP Yapısı

Tipik bir MMP, yaklaşık 80 aminoasitlik propeptit, yaklaşık 170 amino asitlik katalitik metalloproteinaz domain, uzunluğu değişebilen linker peptidi ve yaklaşık 200 aminoasitlik hemopeksin (Hpx) domaininden oluşur⁴.

MMP-7 (Matrilizin1), MMP-26 (Matrilizin 2) ve MMP-23'de bağlantı peptidi ve Hpx domain yoktur, MMP-23 sisteinden zengin bölgeye ve Ig benzeri bölgeye sahiptir. Jelatinazlar (MMP-2 ve MMP-9) fibronektin tip II motif tekrarlarına sahiptirler⁴. Stromelezinler (MMP-3, MMP-10 ve MMP-11) kollajenazlara benzer domain birleşmeleri göstermelerine karşın kollajeni kesemezler. MMP-11, MMP-21, MMP-23 ve MMP-28'in C terminal bölgesinde furin tanıma bölgesi vardır, hücre içinde aktive olur ve aktif enzim olarak hücre yüzeyine salınırlar⁴. MMP proteininin bölgeleri şekil 2'de şematik olarak gösterilmektedir. Pro MMP'ın 3 boyutlu yapısı şekil 3'te gösterilmiştir.



Şekil 2: MMP proteininin bölgeleri: sp, sinyal bölgesi; pro, propeptit bölgesi; cat, katalitik bölge; FNII, fibronektin tip II motifi; L1, bağlantı (linker) ; Hpx, hemopeksin like domain; L2 , linker; Mb, plazma ; TM, trans membran domain; Cy, sitoplazmik uzantı; CyR, sistein zengin; Ig, İmmunoglobulin bölgesi; GPI, Glikozilfosfatidilinositol bağlayıcı⁴.



Şekil(3): Tam uzunlukta pro MMP'nin üç boyutlu yapısı².

2.2.2.1.Katalitik Bölge

MMP katalitik bölgesinin elipsoid bir şekli vardır². Katalitik bölgenin polipeptit zinciri, 5 iplikli (stranded) β kırmalı tabaka (pleated sheet), 3α heliks ve bağlantı ilmiğinden (connective loop) oluşur^{4,55}. Substrat bağlayıcı yarı (Substrat binding cleft), zincir IV, heliks β ve heliks β sonrasında uzanan ilmik bölgesinden oluşur. Üç histidin aktif çinko bölgesini kordine eder⁵⁵. İlmik bölgesi korunmuş "met-turn" içerir. Bu bölge katalitik çinko etrafındaki yapıya destek verir⁵⁵. Katalitik çinko atomunun dördüncü ligandı su molekülüdür⁵⁵. Substratın enzime bağlanması, çinkodan su molekülünün ayrılmasına neden olur^{4,55}. Çinko bağlanan korunmuş bölgenin N terminal kısmı, HEXXHXXGXXH yapısındadır^{2,4}. Bütün MMP'ler, katalitik çinko atomu haricinde bir çinko atomu ve iki veya üç kalsiyum iyonu daha taşırlar^{2,4}. Kalsiyum iyonları yapıyı stabilize eder⁴. Yapısal çinko atomu, S- ilmiği oluşturan sIV ve sV (4.ve 5. iplikler) zincirinin His artıklarına bağlanır. Bu çinko atomu tamamen protein matriksine gömülmüştür². Aktif bölge çinkosunun sağ tarafında bir cep vardır, burası özelleşme cebi (specificite pocket) veya S1' cebi olarak adlandırılır^{4,55}. S1' cebinin büyüklüğü MMP'ler arasında değişmektedir ve bu, substrata özel olmayı belirleyen major faktörlerden biridir^{4,55}.

Jelatinaz A (MMP-2) ve jelatinaz B (MMP-9), 3 fibronektin tip II tekrarına sahiptir^{4,107}. Üçlü fibronektin tip II tekrarları, MMP-2 ve MMP-9 da katalitik bölgenin, dördüncü β zinciri ile heliks 2 arasında yer alır^{55,4,107}. Her bir fibronektin domaini kısa α heliks ile bağlanmış ve iki disülfid bağı ile stabilize edilmiş iki antiparalel β tabakadan oluşur^{4,55}.

2.2.2.2. Propeptit Domain

Propeptit domain yaklaşık 80 aminoasit büyüklüğündedir ve enzimin inaktif kalmasından sorumludur¹⁰⁸. Propeptid domain, özel PRCG(V/N)PD dizisi içerir¹⁰⁸ ve 3α zincir ve katalitik bölge ile bağlantı kuran bağlantı halkasından oluşur^{4,2}. Proteaza hassas "bait domain", heliks 1 ve heliks 2 arasındadır⁴. Propeptidin, "sistein switch" motifi PRCGXPD yapısındadır^{4,5}. Sistein Switch bölgesi substrat bağlayıcı cep boyunca uzanır, bu polipeptit bölgesi peptit

substratın karşısında yer alır⁴. Sisteinin SH grupları katalitik çinko atomu ile etkileşime girerek, MMP'lerin aktivasyonunu önler^{108,109}. MMP aktivasyonu ile CYS-Zn⁺ etkileşimi bozulur, bunu takiben su molekülü ile çinko atomu bağlanır^{4,109}. MMP'nin aktivasyonu ile sistein çinko ilişkisinin bozulup, su çinko bağının oluşması "sistein switch" mekanizması olarak adlandırılır¹⁰⁸.

Bağlantı halkası katalitik domain ve hemopeksin domain ile bağlantı kurar, MMP-1 ve MMP-8'de bu bölgelerdeki mutasyonlar enzim aktivitesini anlamlı düzeyde düşürür⁴.

2.2.2.3. Hemopeksin Benzeri Domain

MMP-7 dışında bütün vertebra ve insan MMP'leri C terminal hemopeksin benzeri domain (Hpx) ile eksprese edilir². Bazı hemopeksin benzeri domainler substrat tanınmasında ve substrata özel olmada görev yapar². Klasik MMP'lerin hemopeksin bölgeleri, elips benzeri bir yapı gösterir².

Hpx polipeptit zinciri (Plazma hem bağlayıcı ve taşıyıcı protein hemopeksin ile dizi benzerliği olduğu için bu adı almıştır), dört β tabaka halinde organize olmuştur, merkezi bir eksen etrafında sıralanmışlardır². Her bir tabaka en iç zinciri aynı yönde birbirine paralel şekilde ilerleyerek merkezde baca şeklinde tünel oluşturur². Merkez tünelin içinde dört iyon tespit edilmiştir, tünelin girişinde kalsiyum iyonu, merkezinde klor kalsiyum iyon çifti vardır ve ikinci klor iyonu iki kalsiyum iyonu arasındadır². Bu iyonların fonksiyonları tam olarak aydınlatılamamıştır². Hemopeksin benzer domainin 4 tabakasında ilk ve dördüncü tabaka arasında disülfüt bağı vardır^{4,55}.

2.2.3. MMP ve Hücre Dışı Matriks İlişkisi

Hücre dışı matriks (Ekstra celluler matriks- ECM), dokuları ayıran ve destekleyen moleküllerin ağıdır. Çevresindeki hücreler ile etkileşime girerek onları etkiler. Kollajen ve elastin gibi yapısal proteinlerden, fibronektin ve laminin gibi özelleşmiş proteinlerden, perlekan gibi proteoglikan ve polisakkaritlerden oluşur. Hücre dışı matriksinin yapısı, bulunduğu dokunun karakteristiği ile

ilişkilidir. Bu nedenle, her doku tipi farklı hücre dışı matriks tipine sahiptir¹⁰⁸. Hücre dışı matriksin yapısının devamlılığı protein depolanması ve yıkımı arasındaki dinamik denge ile sağlanır. MMP'lerin karakteristik özellikleri, hücre dışı matriks proteinlerinin yıkılmasını sağlamaktır. Hücre dışı matriksin MMP'ler tarafından yıkımı, patolojik ve fizyolojik koşulların her ikisinde de görev alır ve büyüme, gelişme, vaskularizasyon ve doku yeniden modellenmesi gibi koşullarda düzenleyici rol oynar¹¹⁰. MMP'ler, hücre dışı matriksin yıkımı dışında, hücre dışı matriksten büyüme faktörü salınımını yapabilirler, inaktif olan büyüme faktörü reseptörlerini kesebilirler ve değiştirici büyüme faktörü alfa (Transforming growth factor/ TGF- α), TGF- β , makrofaj koloni uyarıcı faktör (M-CSF), insülin benzeri fibroblast büyüme faktör reseptörü gibi pre-pro enzim olarak salınan faktörleri aktifleyebilirler¹⁰⁸. Hücre dışı matriks proteinleri, sitokin reseptörleri, büyüme faktör reseptörleri ve diğer hücre adezyon reseptörleri ile ilişki kurabilirler. Bu reseptörler proliferasyon, apoptozis ve migrasyon gibi önemli biyolojik fonksiyonları düzenlerler. İntegrinler büyük hücre adezyon reseptörleridirler, reseptör aracılı sinyalizasyonda rol oynarlar¹⁰⁸. İntegrinler, α ve β alt ünitelerinden oluşan hücre yüzey proteinleridir. Src kinaz ailesi ve fokal adezyon kinaz gibi çeşitli tirozin kinazları aktiflerler. Matriksin hücre ile etkileşiminde rol alırlar. Her bir $\alpha\beta$ alt ünite kombinasyonunun farklı bağlanma özellikleri vardır. Hücre matriks etkileşimi ile düzenlenen hücre migrasyonunda, integrinler hücre dışı matriksin yıkımını düzenlerler¹⁰⁸. İntegrin reseptörlerinden $\alpha_v\beta_3$ integrin, kuvvetli şekilde anjiogenezis ve tümör büyümesinde görev alır. İntegrin, vitronektin, fibronektin ve çeşitli proteinlerin arjinin glisin aspartik asit (RDG) dizisine bağlanır¹⁰⁸. $\alpha_v\beta_3$ integrin, hücre migrasyonunda ve hücre matriks etkileşiminde, fokal adezyon bölgesinde bulunur. Hücre yayılmasını ve migrasyonunu, RDG motifi içeren substratlar vasıtası ile yapar¹⁰⁸. İntegrin ekspresyonunun, tümör hücresinin daha invaziv özelliğe sahip olması ile ilişkili olduğu gözlenmiş, aynı zamanda integrinlerin MT1-MMP ve MMP-2 aktivasyonu ile ilişkili oldukları da bildirmiştir¹⁰⁸. MMP-2 aktivasyonundaki rolü, MMP-2'nin $\alpha_v\beta_3$ integrinlere fibronektin benzer tekrarları ile tutulma kapasitesi ile açıklanmaktadır. MMP-2'nin $\alpha_v\beta_3$ integrine tutunması MMP-2'nin membrana lokalizasyonunu sağlar¹⁰⁸.

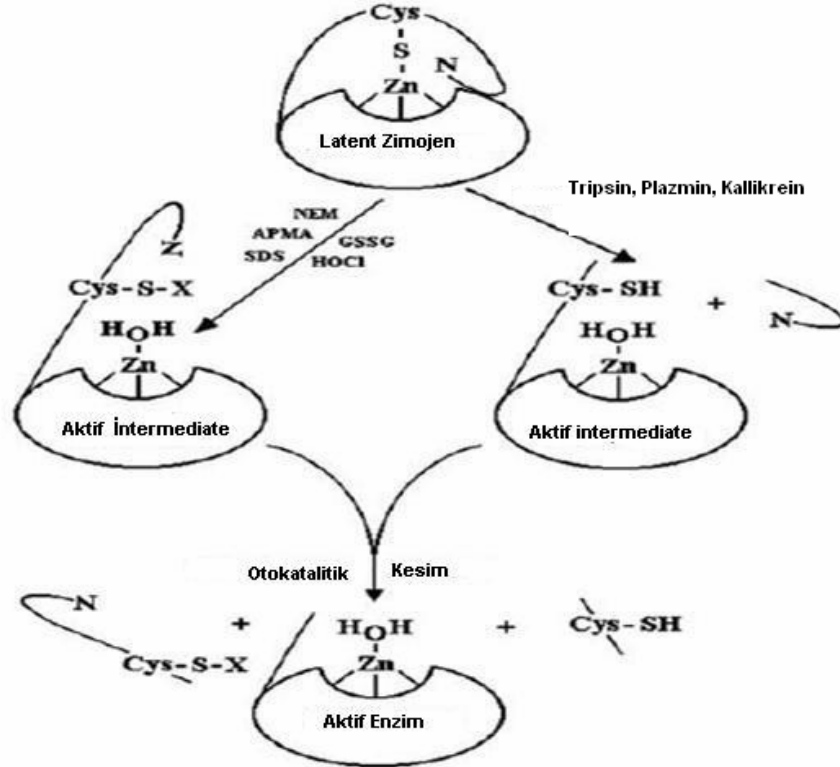
MMP'ler direkt veya indirekt olarak hücre dışı matriksi yıkarak ve Tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α), Tümör nekrozis faktör beta (TNF- β) gibi büyüme

faktörlerinin salınımını ve aktivasyonunu yaparak tümör anjiogenezini uyarabilir ve anjiogenezden bağımsız olarak tümör büyümesine neden olabilirler¹⁰⁸. Buna karşın, MMP aktivitesi her zaman tümör anjiogenezinde pozitif etkiye sahip değildir. Çeşitli hücre dışı matiks fragmentleri (Tumstatin ve kollajen tip IV zincir fragmentleri) ve plazminojen fragmentleri, tümör anjiogenezinin inhibisyonu ile ilişkili bulunmuştur¹⁰⁸. Jelatinazlar, vasküler bazal membrandaki kollajeni direkt yıkarak ve indirekt kollajenaz aktivitesini artırarak yıkıma uğratırlar. Bu fonksiyonları ile endotelin yeni damar yapısı oluşturması için dallanmayı sağlarlar¹¹⁰. Vasküler endotelial büyüme faktör (VEGF) anjiogenezin potansiyel uyarıcısıdır ve salınımı MMP-9 tarafından sağlanır. VEGF, endotelial hücrelerden MMP-2 salınmasını sağlar, bazal membran yıkımını ve yeni damar oluşumunu uyarır¹¹⁰. Anjiogenez ve tümör büyümesinden başka MMP'ler metastaz sürecinde de rol oynarlar. Metastazdaki en önemli rolleri dejeneratif kapasiteleri nedeniyle tümör hücrelerinin hedef dokuya migrasyonunu ve kolonizasyonunu sağlamaktır¹⁰⁸.

2.2.4. MMP Aktivasyonu

Hücre dışı matriksin yıkımı, normal şartlar altında çok sıkı bir şekilde kontrol edilen bir süreçtir. Yetersiz yıkım normal hücre migrasyonunu engellerken, aşırı yıkım hücre dışı matrikse hücrenin yapışmasını engeller ve aynı zamanda bağ dokunun patolojik yıkımına neden olur¹¹¹. MMP'ler latent enzimler olarak salgılandıkları için fizyolojik aktivasyonları kritik bir rol oynamaktadır¹¹¹. MMP'lerin zimojen formu inaktiftir. Bunun, aktif bölgedeki çinko atomu ve MMP propeptidinin karboksil sonlanmasındaki sistein grupları arasındaki bağın koordinasyonu ile düzenlendiği kristalografik çalışmalar ile doğrulanmıştır¹¹². MMP aktivasyonunda primer mekanizma, sistein çinko etkileşiminin kesilmesi ile gerçekleşen "sistein switch" mekanizmasıdır¹¹². Sistein çinko bağının bozulması yapısal değişime neden olur ve katalitik bölgeyi ulaşılabilir hale getirir¹¹². Bu şekilde çinko atomundan sisteinin ayrılmasının aktivasyona neden olduğu gözlenmiştir¹¹¹. Hücre içermeyen sistemlerde sistein çinko atom etkileşiminin yıkıcı ajanlar ile bozulabileceği gösterilmiştir¹¹². Sodyum dodesi sulfat (SDS), N-Etilmaleimid (NEM), okside glutatyon (GSSG),

hipoklorik asit (HOCl) ve amnofenil merkürük asetat (APMA), sisteini inaktive edebilir¹¹¹. Bununla beraber, pek çok MMP, plazmin gibi doku veya serin proteaz ile aktive edilebilir¹⁰⁸. Yapısal değişimi takiben aktif formun propeptidi, otokatalitik veya proteolitik değişime uğrayarak enzim katalitik düzeye ulaşır¹¹². MMP'lerin sistein switch mekanizması ile aktivasyonu şekil 4'te gösterilmektedir.



Şekil 4: MMP'lerin sistein switch mekanizması ile aktivasyonu ¹¹¹

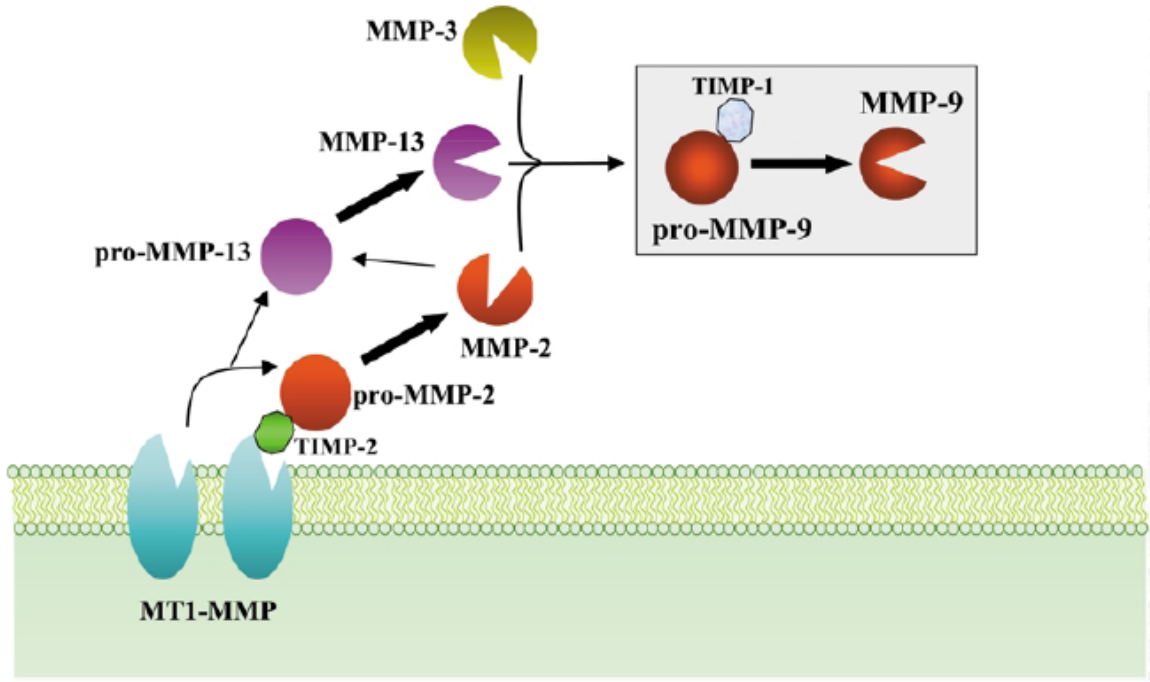
Propeptitlerinde furin benzeri tanıma bölgesi içeren MMP'ler (Stromelizin-3 ve membran tipi MMP'ler) ve pro MMP-2 bu aktivasyon sırasına uymamaktadır¹¹². Stromelizin-3 ve membran tipi MMP'ler hücre içinde furin/PACE/kex-2 benzeri kalsiyum bağımlı transmembran serin proteazlar ile aktiflenir¹¹².

Jelatinaz A, MMP'lar arasında özel bir aktivasyona sahiptir¹⁰⁷. Aktivasyonuna, membrana bağlı MMP'lerin alt gruplarının bazıları (MT1-MMP, MT2- MMP veya MT3-MMP) ve TIMP (Tissue inhibitor of Metalloproteinase Precursor) ailesinin üyeleri (TIMP-2 veya TIMP-3) katılmaktadır¹⁰⁷. Ayrıca, pro-

MMP-2 aktivasyon sürecinde MT5-MMP, MT6-MMP, plazmin ve trombinde görev yapmaktadır¹¹³.

MT1-MMP'nin katalizlediği projelatinaz A aktivasyonunun ilk aşaması TIMP-2'nin N-terminal kısmının MT1-MMP aktif bölgesine bağlanmasıdır bu şekilde membrana bağlanmış inaktif kompleks oluştururlar. Sonraki aşamada; TIMP-2'nin karboksil sonlanmasının projelatinaz A'nın hemopeksin benzeri bölgesine bağlanması ile üçlü kompleks oluşur¹⁰⁷. Projelatinaz A'nın propeptiti domaininin Asn³⁷-Leu³⁸ peptid bağları yakınındaki, TIMP-2 ile bağlanmamış MT1-MMP'nin üçlü komplekse bağlanması ile kesilir. Bunu Asn⁸⁰-Tyr⁸¹ peptid bağının otokatalizi takip eder. Tam aktif Jelatinaz A'nın oluşumu gerçekleşir¹⁰⁷. ProMMP-2 (72 kDa) MT-MMP ile kesildiğinde 64 kDa ağırlığında MMP2 ara ürünü oluşur, ara ürün otokatalitik mekanizma ile 62 kDa ağırlığında aktif MMP-2'ye dönüşür¹¹³. Plazminojen aktivatör-Plazmin sisteminin, ProMMP-2'yi aktiflediği tespit edilmiştir¹¹³. İnsan umbilikal ven endotelial hücrelerinde trombinin; MT-MMP'nin oluşturduğu ara MMP-2 formunu etkili şekilde keserek 62 kDa ağırlığından daha ağır aktif form oluşturduğu saptanmıştır¹¹³.

Bütün MMP'ler gibi pro-MMP-9 da inaktif zimojenik formda üretilir ve aktivasyonu için enzimatik aktivite gerekmektedir¹⁰⁹. ProMMP9'un proteolitik ve proteolitik olmayan aktivasyon mekanizmaları çalışılmıştır¹⁰⁹. Stromelizin1 (MMP-3), proMMP-9'un en etkili aktivatörüdür, enzimin Glu⁵⁹-Met⁶⁰ peptid bağını keser, bunu takiben Arg¹⁰⁶-Phe¹⁰⁷ bağını ve ardından da, Arg¹⁰⁶-Phe¹⁰⁷ bağını keserek 85 kDa ağırlığında tam aktif formu oluşturur¹⁰⁹. MMP-2, MMP-7 ve MMP-13 (Kollajenaz-3), proMMP-9'u aktive edebilir. MMP-2 ve MMP-13, proMMP-9'u MMP -3'ün kestiği bölgeden keserek aktifler¹⁰⁹. Pro MMP-9'un aktivasyon kaskadı şekil 5'te gösterilmiştir.



Şekil 5: Pro MMP-9'un aktivasyon kaskadı¹⁰⁹.

Çeşitli serin proteazlar, proMMP-9'u aktive edebilirler. Kronik iyileşmeyen yaraları olan deri hastalarında; doku ilişkili kimotripsin benzeri proteinazların proMMP-9 aktivasyonundan sorumlu olduğu saptanmıştır¹⁰⁹. İnsan karsinoma hücre hatlarından izole edilen pankreatik tripsinin, proMMP-9'u etkili şekilde aktive ettiği gösterilmiştir. Mast hücrelerinden salınan α ve β kinazlar proMMP-9 aktivatörleridir¹⁰⁹. ProMMP-9 propeptid domainin aktif bölgesinden, proteolitik enzimler kullanılmadan ayrılabilirdiği farklı mekanizmaların var olduğu saptanmıştır¹⁰⁹. Bu mekanizmalardan ilki, sisteinin tiyol yan zincirinin oksidatif modifikasyonu ile olur, bu şekilde katalitik çinko iyonuna etkili bir ligand olma özelliği azaltılmaktadır. İkinci olarak substrata bağlanarak yapısal değişikliklerin uyarılması yolu ile olur¹⁰⁹. Her iki süreçte de aktivasyon ile inhibitör propeptid bölge ayrılmaz ve moleküler ağırlıkta farklılık oluşmadan enzimatik aktivite yaratılabilir¹⁰⁹.

2.2.5. MMP'lerin İnhibisyonunun Düzenlenmesi

MMP aktivitesi, iki tip major endojen inhibitörü tarafından düzenlenir. Bunlar, α 2-makroglobulin ve metalloproteazların doku inhibitörleridir (TIMP)^{4,108}.

İnsan α 2-makroglobulini, 180 kDa ağırlığında dört alt üiteden oluşan, 725 kDa ağırlığında bir plazma glikoproteinidir⁴. Her bir alt ünite "bait domain" denen, bilinen bütün endopeptidazlar için bir kesim bölgesi içerir¹⁰⁸. Endopeptidazlar dört "bait domain"i kestiğinde α 2-makroglobulin yapısal değişim geçirir. Bu yapısal değişim bir veya iki endopeptidazla etkileşime girmesine neden olur. Aynı zamanda reseptör bağlayıcı bölgeler yüzeyden çıkıntı yapar ve oluşan kompleks hızlıca reseptör aracılı endositoza uğrar¹⁰⁸.

MMP'lerin proteolitik aktiviteleri, primer olarak TIMP'ler ile kontrol edilir. TIMP'ler, 21-28 kDa ağırlığında küçük proteinlerdir ve MMP'lerin aktif çinko bağlayıcı bölgesine bağlanarak aktivitesini bloke ederler³. TIMP-1 ve TIMP-2 pekçok MMP'nin aktivitesini inhibe edebilir³. TIMP-1, MT1-MMP, MT3-MMP, MT5-MMP ve MMP-19'u zayıf inhibe eder³. TIMP-2/proMMP-2 kompleksine benzer şekilde, TIMP-1'de proMMP-9 ile kompleks oluşturur³. TIMP-1/proMMP-9 kompleksi MMP-3 ile birleşerek aktivitesini inhibe eder³. TIMP-3, MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7, MMP-9, MMP-13'ün proteolitik aktivitesini inhibe eder³. TIMP-4, MMP-2, MMP-7 ve daha az derecelerde de MMP-1, MMP-3, MMP-9'u inhibe eder³.

Bilinen üçüncü doğal MMP inhibitörü, endostatindir. Endostatin, tipVIII kollajen yıkım ürünüdür. Fizyolojik koşullarda dolaşımda düşük düzeylerde gözlenirken, kanser progresyonunda artış gözlenir. Endostatinin MMP-2'yi in vitro olarak inhibe ettiği gösterilmiştir¹⁰⁸.

2.2.6. MMP-2 ve MMP-9 Genlerinin Promoter Polimorfizimleri

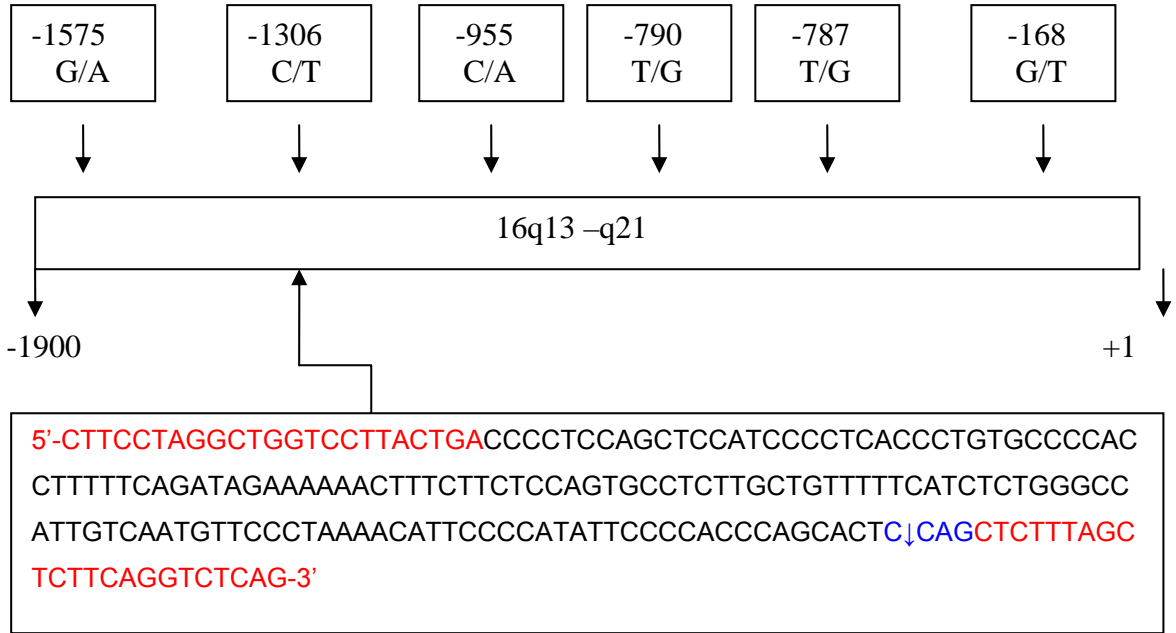
Gen polimorfizimleri, kişilerin biyolojik sayılabilecek sınırlar içinde farklılık göstermelerini sağlar¹¹⁴. Tek nükleotit değişimleri, en sık gözlenen stabil genetik varyantlardır. Ortalama olarak her 1000 baz çiftinde bir görülürler ve bu nedenle genetik olarak karmaşık hastalıklara yatkınlıkta veya dirençte, farmakogenetik çalışmalarda kullanılan anlamlı belirleyicilerdir¹¹⁵. Bazı genetik varyantların

transkripsiyon düzenlenmesini etkileyerek, protein miktarını etkileyebildiği ve proteinin kendisinin aktivitesini arttırabildiği gözlenmiştir, bu varyantların hastalık aktivitesi üzerinde kantitatif bir etkisi olması beklenmektedir¹¹⁵. MMP genlerinin promoter bölgeleri içinde tek nükleotit polimorfizimleri yüksek frekansta gözlenir ve çeşitli hastalıklar ile ilişkileri gösterilmiştir¹¹⁴.

2.2.6.1. MMP-2 -1306 C/T polimorfizmi

MMP-2 geni, 16. kromozomun q13-q21 bölgesi üzerine lokalizedir^{4,55,111}. Price ve ark.ları, İnsan MMP-2 geninin 2 kb'lık promoter bölgesi ve 13 eksonu tarandığında 6 adet promoter bölgesinde, 1 adet 5' Translokasyonu yapılmayan bölgede(UTR), 6 kodlanan bölgede, 1 intronik bölgede, 1 tanede 3' UTR'de olmak üzere 15 tane polimorfizm gözlemiştirler ve her varyantta tek baz değişimi bulunmaktadır¹¹⁵. Hinterscher ve ark.ları, bu polimorfizmlere ek olarak 3'ü intronda ve 3'ü kodlanan bölgede olmak üzere 6 yeni polimorfizm tanımlamışlardır¹¹⁶.

MMP-2 geninin transkripsiyonal düzenlenişi çok önemlidir. Çünkü insan MMP-2 promoteri, "cis-akting" düzenleyici elemanlar içerir ve p53, Sp1, Sp3 ve AP-2 içeren çeşitli transkripsiyon faktörleri ekspresyon kontrolüne katkıda bulunur¹¹⁷. MMP-2 geni promoter bölgesi polimorfizimleri ve çoğalan -1306 C/T bölgesinin baz dizisi şekil 6'da gösterilmiştir.



Şekil 6: MMP-2 geni promoter bölgesi polimorfizmleri ve çoğalan -1306 C/T bölgesinin baz dizisi¹¹⁵; (kırmızı harfle gösterilen bölge primer bağlanma bölgesi, mavi ile boyanan bölge Fsp B1 restriksiyon enziminin kestiği bölge) .

Price ve ark.ları, MMP-2 -1306 C/T polimorfizmini tanımlamışlardır¹¹⁵. -1306 C/T değişimi (Şekil 5) promoter bölgesinde Sp1 bağlayıcı bölgeyi (CCACC kutusu) ortadan kaldırarak, promoter aktivitesini değiştirmektedir^{117,118}. Bu polimorfizmin fonksiyonel olduğu ve C allelinin artmış promoter aktivitesi gösterdiği bulunmuştur¹¹⁹.

2.2.6.2. MMP-9 -1562 C/T Polimorfizmi

MMP-9 geni, kromozom 20q11.1-13.1'e lokalizedir^{4,55,120,121}. MMP-9 Geninin promoter bölgesi 2.2 kb uzunluğundadır^{121,122}. MMP-9 geni 13 eksondan oluşmaktadır^{121, 122}.

Zhang ve ark.ları, Kafkas ırkına mensup 40 sağlıklı kişide, MMP-9 geninde 10 varyant bölgesi tespit etmişlerdir. Bunların 4'ü promoter bölgesinde, 5'i kodlanan bölgede ve 1'i de 3' UTR bölgesindedir¹²². Hirakawa ve ark.ları, Kafkas ırkına mensup bireylerde, 11 tek nükleotit polimorfizmi (4 promoter, 6 kodlanan, 1 3'-UTR bölgelerinde) ve Afrika kökenli Amerikalılarda ise 19 tek nükleotit polimorfizmi (11 promoter, 6 kodlanan, 1 3'-UTR

-1559'a kadar olan dizi), transkripsiyonu baskılayan proteininin bağlandığı önemli bir düzenleyici eleman olabileceği iddia edilmiştir⁶².

MMP geni, -1562 pozisyonunda fonksiyonel bir C-T (Şekil 7) değişiminin gözleendiği tek nükleotit polimorfizimine sahiptir. CC genotipi transkripsiyon aktivitesini baskılar¹¹⁴. T allelinin artmış promoter aktivitesi gösterdiği bulunmuştur⁶².

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Toplanması

Bu çalışmada, Mersin Üniversitesi, Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalına başvuran, 139 lenfoid maligniteli bireylerden hasta grubu oluşturuldu. Bunların 52'si KLL, 20'si Hodgkin, 38'i NHL, 15'i ALL ve 14'ü ise multiple miyelom hastası idi. Ayrıca akrabalarında da hematolojik malignite öyküsü olmayan, 110 sağlıklı bireyden kontrol grubu oluşturuldu. Çalışma için Etik kurul onayı alındı ve hastalara bilgilendirilmiş onam formu dolduruldu. Hastalardan ve kontrol grubundaki bireylerden DNA izolasyonu için alınan 7-8 ml venöz kan, 1 ml % 2'lik etilendimetil tetra asetik asitli (EDTA) içeren, 15 ml'lik santrifüj tüplerine konuldu. DNA izolasyonuna kadar -20°C de saklandı. Bu kanlardan tuz çöktürme yöntemiyle DNA izolasyonu yapıldı¹²³.

3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

3.2.1. Aletler ve Cihazlar

Termal Cycler (Techne Flexigene Cambridge, UK)

Elektroforez Tankı (EC Midicell EC 350, 20x20cm)

Elektroforez Güç Kaynağı (EC 135-90)

Jel Görüntüleme Sistemi (Vilber Lourmat Marne La Vallée, France)

Manyetik Karıştırıcı (Nüve MK 418)

Mikrodalga Fırın (Alaska)

Hassas Terazî (AND GR-200)

Mikrosantrifüj (Hermle, Z160M)

Vorteks (VELP)

Santrifüj (Nüve NF 800)

Mikropipet Seti (Eppendorf)

Derin Dondurucu (Arçelik-2031 D)

Etüv (Nüve EN-500)
Otoklav (Nüve OT 4060 V)
Buzdolabı (Arçelik 8188 NF)

3.2.2. Kimyasal Maddeler

Na₂EDTA (Sigma E-5134)
Sodyum Perklorat (Sigma S-3546)
Sodyum Dodesil Sülfat, SDS (Sigma L-5750)
Sodyum Klorür (Riedel-de Haen)
Etanol (Riedel-de Haen 32221)
Parafilm M (Sigma P-7793)
Taq DNA Polimeraz (Fermentas, EP0402)
Bidistile Su (Sigma W-3500)
2 mM dNTP Mix (Fermentas, R0241)
Fsp BI (Fermentas, ER1762)
Pae I (Fermentas, ER0602)
10X PCR Buffer with (NH₄)₂SO₄ (Fermentas B33)
25 mM MgCl₂ (Fermentas K0182)
Proteinaz-K (Sigma P-2308)
Primerler
(MMP-2) -1306 C/T polimorfizmi için
Forward 5'- CTTCCCTAGGCTGGTCCTTACTGA -3'
Reverse 5'- CTGAGACCTGAAGAGCTAAAGAGCT -3'
(MMP-9) -1562 C/T polimorfizmi için
Forward 5' -GCCTGGCACATAGTAGGCC -3'
Reverse 5' -CTTCCTAGCCAGCCGGCATC -3'
Tris-Hidroklorid (Sigma T-7149)
Trizma Base (Sigma T-6066)
Borik Asit (Carlo Erba 302177)
Ethidium Bromide (Sigma E-1510)
Gliserol (Merck 4091)
Agarose Plus(Prona, E.U)

100 bp DNA ladder GeneRuler marker (Fermentas SM 0241)

3.2.3. Çözeltiler

Nuklei Lizis Tamponu: 1.576gr Tris- HCl, 23.4 gr NaCl, 0.7 gr Na₂EDTA 1 lt distile suya tamamlanıp çözüldükten sonra otoklavda steril edildi ve + 4 °C'de saklandı.

TE (Tris-HCl) Tamponu: 0.394 gr Tris-HCl, 0.093 Na₂EDTA, 250 ml distile suyla tamamlanıp çözüldükten sonra, otoklavda steril edildi ve + 4 °C'de saklandı.

10XTBE (Tris-Borat-EDTA) Tamponu: 108 gr Trizma Base, 54.8 gr Borik Asit ve 5.44 gr EDTA, distile su ile 1lt'ye tamamlanarak çözüldü.

Orange G çözeltisi: 2.232 gr Na₂EDTA, 200 mg Orange G, 60 ml Gliserol ve 40 ml distile sudan oluşan solusyon içerisinde çözüldü.

Elektroforez Yürütme Tamponu: 10XTBE tamponundan distile su ile seyreltilerek hazırlanmış olan 1X TBE içerisinde 0.5 µg/ml konsantrasyonunda olacak şekilde ethidium bromide (EtBr) konularak hazırlandı.

Agaroz Jel Solüsyonu: 140 ml 1X TBE tamponu içerisinde %3'lük jel için 4.2 gr agaroz (Agarose plus), % 2'lik jel için 2.8 gr agaroz (Agarose plus) mikrodalga fırında eritildikten sonra 0.5 µg/ml konsantrasyonunda olacak şekilde EtBr eklenerek, hazırlandı.

10 mg/ml Proteinaz K Çözeltisi: 100 mg Proteinaz K, 10 ml steril distile su ile çözümlenerek hazırlandı ve -20 °C'de saklandı.

5M Sodyum Perklorat Solüsyonu: 612 gr sodyum perklorat (NaClO₄) 1 lt'ye distile suyla tamamlanıp, çözüldükten sonra otoklavda steril edildi ve + 4 °C'de saklandı.

% 10 SDS Solüsyonu: 10 gr SDS, 100 ml distile suda çözüldü.

6 M NaCl Solüsyonu: 35,06 gr NaCl, 100 ml distile suda çözüldü.

3.3. DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu tuz çöktürme yöntemine göre yapıldı¹²³. Yöntemin esası, lökositlerde bulunan DNA dışındaki tüm yapıların bozularak parçalanması, yoğun bir tuz çözeltisi ile çöktürülmesi ve üstte kalan sıvı kısımda bulunan DNA'nın etil alkol yardımı ile yoğunlaşması sağlanarak izole edilmesidir.

3.3.1. DNA İzolasyonunun Yapılışı

DNA izolasyonu işlemi iki gün sürmektedir. Bu işlemin ilk aşamasında; kanların bulunduğu tüpler soğuk steril distile su ile 14 ml'ye tamamlanıp kuvvetlice 1-1.5 dakika çalkalandıktan sonra 15 dakika 2000 rpm'de ilk santrifüj işlemi yapıldı. Tüplerde çökelmelerin başladığı bölgenin yakınına kadar olan süpernatant kısım, pastör pipetiyle alınarak atıldı. Çökeltinin üstüne steril soğuk distile su eklenerek hacmi tekrar 14 ml'ye tamamlandı. Tüm tüplerde bu işlem yapıldıktan sonra 10 dakika 2000 rpm de ikinci santrifüj işlemi yapıldı. Tekrar süpernatant atılarak, çökelti üzerine steril soğuk distile su eklendi ve kuvvetlice çalkalandı. Çalkalama işlemi yapılırken tüpün dibinde çökelti kalmamasına dikkat edildi. Daha sonra tekrar su eklenerek 14 ml'ye tamamlandı ve santrifüj edildi. Bu işlemler süpernatanta şeffaf bir renk oluşuncaya kadar devam etti. Bu işlem yaklaşık 4-5 defa tekrarlandı.

Yıkama işlemi tamamlandıktan sonra, tüplere pipetle 3'er ml nuklei lizis buffer konulup çalkalandıktan sonra tüplerin her birine 200 µl SDS, 500 µl 5 M'lık Sodyum Perklorat ve 25 µl, 10 mg/ml'lik Proteinaz-K konuldu. Kapaklar sıkıca kapatılıp tüplerin ağzı parafilm ile sarıldıktan sonra 37 °C'lik etüvde bir gece bekletildi.

İkinci gün, tüpler 37 °C'lik etüvden çıkarılıp çalkalanarak, 55 °C'lik inkübatöre konuldu. Bir saat geçtikten sonra her bir tüpe 2'şer ml 6M NaCl çözeltisi konuldu. Kapaklar kapatılıp tüpler hızlıca çalkalandıktan sonra 10 dakika bekletildi. Daha sonra 15 dakika 3500 rpm'de santrifüj edildi. Santrifüj işleminden sonra tüplerde bulunan süpernatantlar, boş santrifüj tüplerine aktarıldı. Üzerine soğuk, etanol eklenerek, çözünmüş haldeki DNA'nın yoğunlaşması sağlandı. Yoğunlaşan DNA'ların her biri, mikropipet yardımıyla, içerisinde 500 µl TE tamponu bulunan ependorf tüplerine aktarıldı. Tüp içindeki olabilecek DNAaz aktivitelerini önlemek için DNA'lar 1 saat 70°C'de tutuldu. Ependorf tüpleri, DNA'ların TE tamponu içerisinde çözünüp, homojen hale gelmesi için de 37 °C'lik etüvde bir gece bekletildikten sonra + 4 °C'deki buzdolabına kaldırıldı. Eğer, DNA aynı gün içinde elde edilmek isteniyorsa, bu durumda ilk gün işlemleri yapılır ve 55 °C'de 3 saat bekletildikten sonra, ikinci gün işlemleri yapılarak DNA elde edilir.

3.4. Moleküler Analiz

3.4.1. MMP-2 (-1306 C/T) Gen Polimorfizminin Belirlenmesi

PCR, tek bir molekül DNA'yı dahi çoğaltabileceğinden, reaksiyon karışımlarının DNA molekülleri ile kontamine olmasının engellenmesi gerekmektedir. Bu kontaminasyon, daha önceki PCR reaksiyonu, eksojen DNA veya diğer hücrel materyallerden kaynaklanıyor olabilir. Bu nedenle, kullanılan sarf malzemeleri ve solüsyonların steril olmasına dikkat edildi. Ayrıca PCR reaksiyonunda, ısı iletiminden kaynaklanabilecek sorunların en az düzeye indirilmesi için, ince çeperli DNAase ve RNAase enzimlerinden arındırılmış steril 0,5 ml'lik PCR tüpleri (Axygen Thin-Walled PCR Tubes), reaksiyonun gerçekleştirilmesi için Thermal Cycler cihazı ve 0,5-10 µl'lik, 2-20 µl'lik ve 10-100 µl'lik otomatik pipetler kullanıldı.

MMP-2 -1306 C/T gen bölgesinin amplifikasyonu için PCR-RFLP yapıldı. Daha sonra yapılan elektroforez işlemi ile elde edilen DNA parçacıklarının

uzunluklarına göre allel değerlendirilmesi yapıldı. MMP-2 geni promoter bölgedeki -1306 C/T polimorfizmi için uygulanan PCR işleminde kullanılan primerler aşağıda verilmiştir^{124, 125}.

MMP-2 (-1306 C/T) Forward 5' –CTTCCTAGGCTGGTCCTTACTGA- 3'

MMP-2 (-1306 C/T) Reverse 5' –CTGAGACCTGAAGAGCTAAAGAGCT- 3'

Daha önce elde edilen DNA'lar bu reaksiyonda kullanıldı.

PCR reaksiyon karışımı yaklaşık 20 örnek için aşağıdaki gibi hazırlandı.

- 1- Bidistile su..... 340 µl
- 2- 10x PCR Buffer (NH₄)₂SO₄..... 50 µl
- 3- 2 mM dNTP Mix 50 µl
- 4- Primer F.....10 µl
- 5- Primer R.....10 µl
- 6- Taq DNA Polimeraz (MgCl₂)..... 30 µl

Elde edilen karışım, 0,5 ml'lik ince çeperli eppendorf tüplere 23'er µl konulduktan sonra her bir tüpe 1 µl DNA örneği eklenerek thermal cycler'a konuldu. Termal cycler'da; önce 1 döngü 2 dak. 95 °C de ilk denatürasyon gerçekleştirildi. Sonra, 35 döngü; 45 sn 95 °C'de denatürasyon, 1 dak. 58 °C'de bağlanma ve 1,5 dak. 72 °C'de sentez aşamaları gerçekleştirildi. Son aşamada ise, 1 döngü 7 dak. 72 °C'de son sentez aşaması gerçekleştirildi. Yapılan PCR işlemi sonrasında, ürün oluşup oluşmadığını tespit etmek için, % 3'lük agaroz jelde elektroforez işlemi yapıldı . Oluşması beklenen, 193 bp'lik DNA parçacığı gözlemlendi.

PCR aşaması sonucunda elde edilen 193 bp'lik PCR ürünü, bize sadece polimorfizmin olduğu bölgenin dizisini vermektedir. Ancak, bizim tespit etmeye çalıştığımız tek nükleotid değişimi olduğu için bu bölgeyi tanıyan bir restriksiyon enzimi kullanılarak allel tespiti yapıldı. Bu işlem için FspB1(XspI) enziminden oluşan bir karışım hazırlandı. 10 örnek için; 95 µl bidistile su, 25 µl Buffer B ve 100 ünite Fsp B1 (XspI)'dan oluşan enzim karışımı hazırlandı ¹²⁵. 15 µl PCR ürünü bulunan her bir tüpe, 13 µl hazırlanan restriksiyon enzim karışımından eklendi ve 14 saat 37 °C etüvde bekletilerek kesme işlemi gerçekleştirildi.

RE kesimi ile elde edilen ürünler üzerine 10 µl orange G solüsyonu eklendi. Daha sonra, hazırlanmış olan % 3'lük agaroz jel ile elektroforez yürütme işlemi yapıldı. Her bir tüpteki çözümden yaklaşık 25 µl kadar alınıp, her bir kuyucuğa yerleştirildi. DNA parçacıklarının boylarının tespiti için, araya 100 bp DNA ladder (marker) konuldu. Sonra, 120 V elektrik akımı kullanılarak elektroforez işlemi yapıldı. Elde edilen PCR-RFLP ürünleri görüntüleme cihazı kullanılarak tespit edildi. Kesme işlemi sonucunda C alleleline sahip gen bölgeleri kesilmezken, T alleleline sahip gen bölgeleri kesildi. Sonuçta, genotipleme aşağıdaki gibi yapıldı.

CC → 193 bp

CT → 193 bp, 167 bp, 26 bp

TT → 167 bp, 26 bp

3.4.2. MMP-9 (-1562 C/T) Polimorfizminin Belirlenmesi

MMP-9 –1562'daki C→T dönüşümünün bulunduğu yeri belirlemek için, 436 bp'lik DNA bölgesi amplifiye edildi. Bu işlem için kullanılan primerler aşağıda verilmiştir¹²⁴.

MMP-9 (-1562 C/T) F 5' GCCTGGCACATAGTAGGCC 3'

MMP-9 (-1562 C/T) R 5' CTTCTAGCCAGCCGGCATC 3'

PCR reaksiyon karışımı yaklaşık 20 örnek için aşağıdaki gibi hazırlandı.

1-Bidistile Su.....	340 µl
2-10x PCR Buffer (NH ₄) ₂ SO ₄	50 µl
3- dNTP Mix (2 mM).....	50 µl
4- Primer F.....	7 µl
5- Primer R.....	7 µl
6-MgCl ₂ (25 mM).....	30 µl
7- Taq DNA Polimeraz.....	3 µl

Hazırlanan PCR karışımından, 0,5 ml'lik ince çeperli eppendorf tüpüne 23'er µl konulduktan sonra her bir tüpe 1 µl DNA örneği eklenerek tüpler thermal cyclers'a bırakıldı. Termal cyclers'da, önce 1 döngü 2 dak. 95 °C de ilk denatürasyon, sonra 35 döngü; 45 sn 95 °C'de denatürasyon, 1 dk. 60 °C'de bağlanma (annealing), 1.5 dak. 72 °C'de sentez (extension) ve 1 döngü 7 dak. 72 °C'de son sentez (final extension) aşamaları gerçekleştirildi. Yapılan PCR işlemi sonrasında, ürün oluşup oluşmadığını tespit etmek için, % 3'lük agaroz jelde elektroforez işlemi yapıldı. Oluşması beklenen, 436 bp'lik DNA parçacığı gözlemlendi.

PCR aşaması sonucunda elde edilen 436 bp'lik PCR ürünü, bize sadece polimorfizmin olduğu bölgenin dizisini vermektedir. Ancak, bizim tespit etmeye çalıştığımız tek nükleotid değişimi olduğu için bu bölgeyi tanıyan bir Restriksiyon enzimi (RE) kullanılarak allel tespiti yapıldı. Bu işlem için, Pae I (Bbu I) enziminden oluşan bir karışım hazırlandı. 10 örnek için; 95 µl bidistile su, 25 µl buffer B ve 100 ünite Pae I (Bbu I)'dan oluşan enzim karışımı hazırlandı¹²⁴. 15 µl PCR ürünü bulunan her bir tüpe, 13 µl hazırlanan RE enzim karışımından eklendi ve 14 saat 37 °C etüvde bekletilerek kesme işlemi gerçekleştirildi.

Kesme işlemi gerçekleştirildikten sonra, tüplerin her birine 10 µl orange G eklendi. Sonra, % 2'lük agaroz plus jel hazırlandı. Her bir tüpten 25 µl kadar alınarak jel kuyucuklarına yüklendi. Sonra 120 V elektrik akım uygulanarak elektroforez işlemi yapıldı. Kesme işlemi sonucunda C alleleline sahip gen bölgeleri kesilmezken, T alleleline sahip gen bölgeleri kesildi. Sonuçta, genotipleme aşağıdaki gibi yapıldı.

CC → 436 bp

CT → 436 bp, 242 bp, 194 bp

TT → 242 bp, 194 bp

3.5. İstatistiksel Analiz

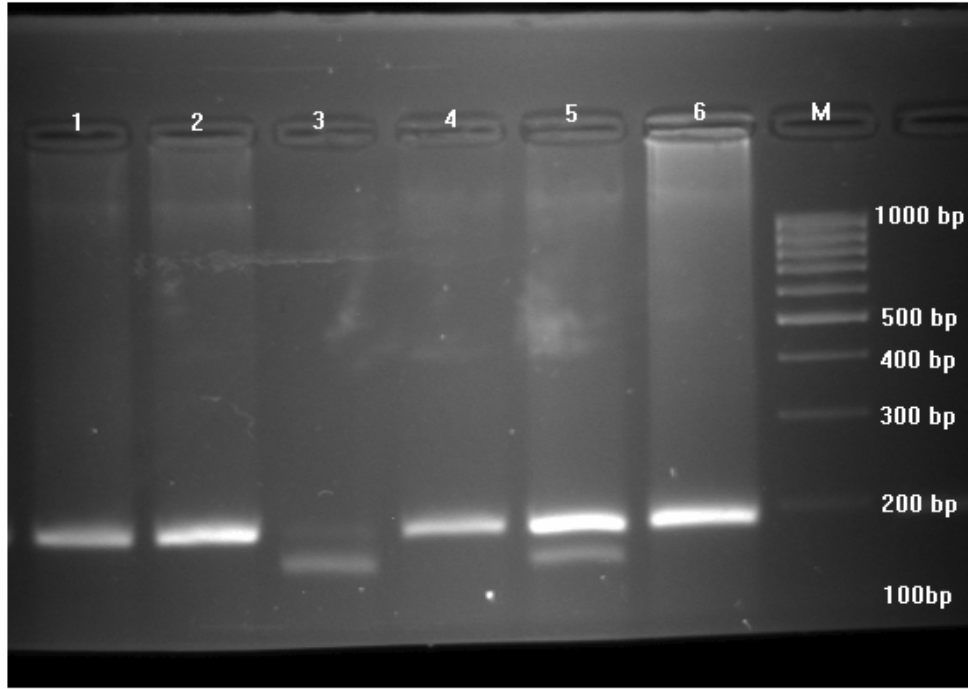
MMP-2 (-1306 C/T), MMP-9 (-1562 C/T) polimorfizmleri ile lenfoid malignite arasındaki ilişki, genotip açısından, çoklu lojistik regresyon modeli ile, allel açısından ise ki-kare analizi ile SPSS (Statistical Package for Social Sciences, version 11.5) paket programı kullanılarak değerlendirildi. Polimorfizmlerin genotip frekansları Pierson Chi Square testiyle değerlendirildi. Genotiplerin Hardy Weinberg dengesinde olup olmadığı, Heliks Tri testiyle belirlendi.

4. BULGULAR

Bu çalışmada, MMP-2 -1306 C/T ve MMP-9 -1562 C/T genlerine ait polimorfizmler ile lenfoid maligniteler arasındaki ilişkiyi belirlemek için, Mersin Üniversitesi, Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalına başvuran, 52 KLL'li, 20 HH, 38 NHL, 15 ALL, 14 MM'li , toplam 139 bireyden hasta grubu oluşturuldu. Ayrıca, 110 sağlıklı birey ile de kontrol grubu oluşturuldu. Kontrol grubunun yaş ortalaması 56.53 ± 11.37 , hasta grubunun yaş ortalaması 59.02 ± 11.02 idi. İki grup arasında yaş bakımından anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ($p=0.117$). Hasta grubunun 96'sı erkek (%69.1) ve 43'ü kadın (%30.9) idi.

4.1. MMP-2 Geni -1306 C/T Polimorfizminin Genotip ve Allel Dağılımı

MMP-2 geni promoter bölgedeki tek nükleotit polimorfizmi için, PCR-RFLP ve elektroforez sonucu elde edilen bantlar, görüntüleme sisteminde marker ile karşılaştırıldı. 193 bp hizasında tek bant olan örnekler CC genotipi, 193 bp, 167 bp, 26 bp hizalarında 3 bant görülen örnekler CT genotipi, 167 bp, 26 bp hizasında 2 bant görülen örnekler de TT genotipi olarak belirlendi. 26 bp'lık bantlar çok küçük olduklarından gösterilemedi. MMP-2 polimorfizmine ait genotiplerin elektroforez sonrası fotoğrafı resim 1 de gösterilmektedir.



Resim 1: MMP-2 polimorfizmine ait genotiplerin elektroforez sonrası görüntüsü. 1, 2, 4, 6 numaralı hastalar CC, 3 numaralı hasta TT, 5 numaralı hasta ise CT olarak genotipleri belirlenmiştir.

Deneyler sonunda, 139 Lenfoid maligniteli hastadan ve 110 kontrol grubu bireyden oluşturulan gruplar, MMP-2 -1306 C/T geni promoter bölgesindeki tek nükleotit değişimi polimorfizmi açısından değerlendirildi.

110 Kontrol hastasının 74'ü (% 67.3) CC, 34'ü (% 30,9) CT, 2'si (% 1.8) TT bulunmuştur. Grup ayrımı yapılmaksızın hasta grubunda (GAYHGD) 98 (% 70.5), 39 (% 28), 2(% 1.5) bulunmuştur. Kontrol ve Grup ayrımı yapılmaksızın hasta gruplarında (GAYHGD) MMP-2 -1306 polimorfizmi genotipi dağılımları tablo 10'da göstermiştir. 52 KLL hastasının 37'si (% 71.2) CC, 15'i (% 28.8) CT bulunmuş , TT genotipine ise rastlanmamıştır, 20 Hodgkin hastanın 14'ü (% 70) CC, 6'sı (% 30) CT bulunmuş , TT genotipine ise rastlanmamıştır, 38 NHL hastasının 23'ü (% 60.5) CC, 13'ü (% 34.2) CT, 2'si (% 5.3) TT bulunmuş, 15 ALL hastasının 13'ü (% 86.7) CC, 2'si (% 13.3) CT bulunmuş , TT genotipine ise

rastlanmamıştır ve 14 MM hastasının 11'i (% 78.6) CC, 3'ü (% 21.4) CT, TT genotipine ise rastlanmamıştır. MMP-2 -1306 C/T polimorfizmi allel ve genotiplerinin hastalıkla ilişkisi Pearson Chi Square testi ile incelendiğinde; hasta gruplarındaki CC, CT ve TT genotipine sahip bireyler birbirleriyle kıyaslandığında lenfoid malignite riski bakımından istatistiksel açıdan bir fark bulunmamıştır (p=0.378). Hasta gruplarında MMP-2 -1306 polimorfizmi genotipi dağılımları tablo11'de gösterilmiştir.

Tablo10: Kontrol ve Grup ayrımı yapılmaksızın hasta gruplarında (GAYHGD) MMP-2 -1306 polimorfizmi genotipi dağılımları (n= birey sayısı).

MMP2 -1306				
Grup	CC n(%)	CT n(%)	TT n(%)	Toplam
Kontrol	74(% 67.3)	34(% 30.9)	2(% 1.8)	110(% 100)
GAYHG	98(% 70.5)	39(% 28)	2(% 1.5)	139(% 100)

Tablo 11: Hasta gruplarında MMP-2 -1306 polimorfizmi genotipi dağılımları (n= birey sayısı).

MMP2 -1306				
Hastalık grubu	CC n(%)	CT n(%)	TT n(%)	Toplam
KLL	37(% 71.2)	15(% 28.8)	0(% 0)	52(% 100)
HH	14(% 70)	6(% 30)	0(% 0)	20(% 100)
NHL	23(% 60.5)	13(% 34.2)	2(% 5.3)	38(% 100)
ALL	13(% 86.7)	2(% 13.3)	0(% 0)	15(% 100)
MM	11(% 78.6)	3(% 21.4)	0(% 0)	14(% 100)

Kontrol ve hasta grubundaki CC, CT ve TT genotipine sahip bireyler birbirleriyle Pearson Chi Square testi ile kıyaslandığında lenfoid malignite gelişim riski bakımından istatistiksel açıdan bir fark bulunmamıştır (KLL için $p=0.433$, Hodgkin için $p=0.708$, NHL için $p=0.503$, ALL için $p=0.234$, MM için $p=0.574$).

Kontrol grubunda MMP-2 -1306 polimorfizminin allel frekansları C için 0.8273, T için 0.1727 bulunmuştur. Hasta grubunun genelinde C allel frekansı 0.8453, T alleli ise 0.1547 bulunmuştur. Grup grup bakıldığında ise KLL için C alleli 0.8558, T alleli 0.1442, HH için C alleli 0.85, T alleli 0.15, NHL için C alleli 0.7763, T alleli 0.2237, ALL için C alleli 0.9333, T alleli 0.0667, MM için C alleli 0.8929, T alleli ise 0.1071 bulunmuştur. Kontrol ve Hasta gruplarında MMP-2 -1306 C/T polimorfizmine ait allel frekansı dağılımı tablo12'de gösterilmiştir.

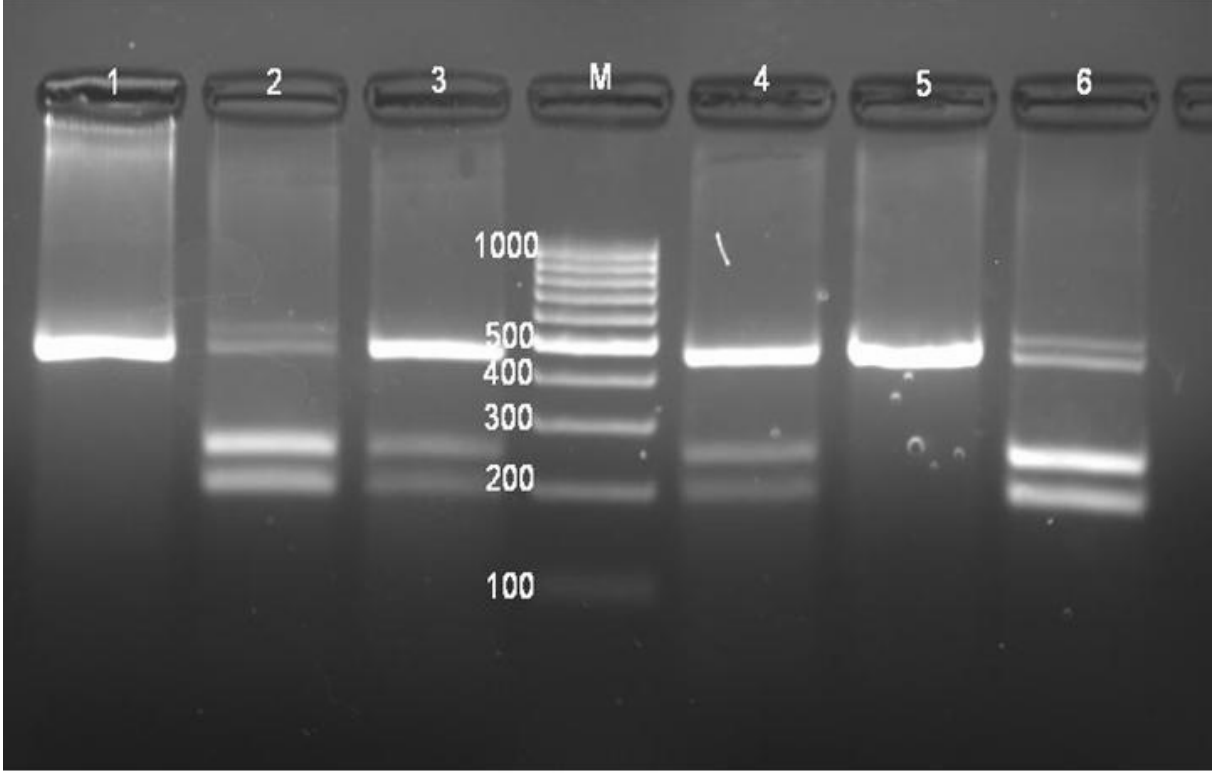
Tablo 12: Kontrol ve Hasta gruplarında MMP-2 -1306 C/T polimorfizmine ait allel frekansı dağılımı.

MMP-2 -1306		
Tanı	Alleller Frekansları	
	C	T
Kontrol	0.8273	0.1727
GAYHGD	0.8453	0.1547
KLL	0.8558	0.1442
HH	0.85	0.15
NHL	0.7763	0.2237
ALL	0.9333	0.0667
MM	0.8929	0.1071

Uygulanan Heliks Tri testiyle, hasta grubunun MMP-2 -1306 genotiplerinin Hardy Weinberg dengesinde olduğu ($p=0.389$), kontrol grubunun MMP-2 -1306 genotiplerinin Hardy Weinberg dengesinde olduğu ($p=0.392$) gözlenmiştir.

4.2. MMP-9 Geni -1562 C/T Polimorfizminin Genotipleri ve Allelleri Dağılımı

MMP-9 geni promoter bölgedeki tek nükleotit polimorfizmi için, PCR-RFLP sonrası elde edilen ürün elektroforez işlemi uygulandı ve gözlenen bantlar görüntüleme sisteminde değerlendirildi. 436 bp hizasında tek bant olan örnekler CC genotipi, 436 bp, 242 bp, 194 bp hizalarında 3 bant görülen örnekler CT genotipi, 242 bp, 194 bp hizasında 2 bant görülen örnekler TT genotipi olarak belirlendi. MMP-9 polimorfizmine ait genotiplerin elektroforez sonrası fotoğrafı resim 2 de gösterilmektedir.



Resim 2: MMP-9 polimorfizmine ait genotiplerin elektroforez sonrası görüntüsü: 1, 5 numaralı hastalar CC, 2 ve 6 numaralı hastalar TT, 3 ve 4 numaralı hastalar ise CT olarak genotipleri belirlenmiştir.

Deneyler sonunda, 135 Lenfoid maligniteli hastadan ve 110 kontrol grubu bireyden oluşturulan gruplar, MMP-9 -1562 C/T geni promotor bölgesindeki tek nukleotit değişimi polimorfizmi açısından değerlendirildi. Bu gruplardan 2 KLL, 1 NHL , 1 ALL hastasında ve kontrol grubundan 7 bireyde genotipleme yapılamamıştır.

103 Kontrol hastasının 84'ü (% 81.6) CC, 19'ü (% 18.4) CT bulunmuştur. 50 KLL hastasının 37'si (% 74) CC, 13'ü (% 26) CT bulunmuş, TT genotipi tespit ise edilememiştir, 20 Hodgkin hastanın 13'ü (% 65) CC, 5'i (% 25) CT, 2'si (% 10) TT bulunmuş, 37 NHL hastasının 27'ü (% 73) CC, 10'ü (% 27) CT bulunmuş, TT genotipi tespit edilememiştir, 14 ALL hastasının 11'i (% 78.6) CC, 2'si (% 14.3) CT, 1'i (% 7.1) TT, 14 MM hastasının 12'si (% 85.7) CC, 2'si(% 14.3) CT bulunmuş, TT genotipi ise tespit edilememiştir.

MMP-9 -1562 C/T polimorfizmi allel ve genotiplerinin hastalıkla ilişkisi Pearson Chi- Square testi ile incelendiğinde; hasta gruplarındaki CC, CT ve TT genotipine sahip bireyler birbirleriyle kıyaslandığında lenfoid malignite riski bakımından istatistiksel açıdan bir fark bulunmamıştır (p=0.239). Kontrol ve Grup ayrımı yapılmaksızın hasta gruplarında (GAYHGD) MMP-9 -1562 polimorfizmi genotipi dağılımları tablo13'te gösterilmiştir. Hasta gruplarında MMP-9 -1562 polimorfizmi genotipi dağılımları tablo 14'te gösterilmiştir.

Tablo 13: Kontrol ve Grup ayrımı yapılmaksızın hasta gruplarında (GAYHGD) MMP-9 - 1562 polimorfizmi genotipi dağılımları (n= birey sayısı).

MMP-9 -1562				
Tanı	CC n(%)	CT n(%)	TT n(%)	Toplam
Kontrol	84(% 81.6)	19(% 18.4)	0(% 0)	103(% 100)
GAYHGD	100(%74.1)	32(% 23.7)	3(% 2.2)	135(% 100)

Tablo14: Hasta gruplarında MMP-9 -1562 polimorfizmi genotipi dağılımı (n= birey sayısı).

MMP-9 -1562				
Tanı	CC n(%)	CT n(%)	TT n(%)	Toplam
KLL	37(% 74)	13(% 26)	0(% 0)	50(% 100)
HH	13 (% 65)	5(% 25)	2(%10)	20(% 100)
NHL	27(% 73)	10(% 27)	0(% 0)	37(% 100)
ALL	11(% 78.6)	2(% 14.3)	1(% 7.1)	14(%100)
MM	12(% 85.7)	2(%14.3)	0(% 0)	14(% 100)

Kontrol ve hasta grubundaki CC, CT ve TT genotipine sahip bireyler birbirleriyle Pearson Chi Square testi ile kıyaslandığında lenfoid malignite gelişim riski bakımından, Hodgkin hasta grubu dışında hasta grupları ile arasında istatistiksel açıdan bir fark bulunmamıştır (KLL için $p=0.281$, Hodgkin için $p=0.016$, NHL için $p=0.269$, ALL için $p=0.112$, MM için $p=0.696$). Hodgkin hastalık grubuna Pearson Chi Square testi anlamlı çıktığı için Logistik regresyon testi uygulanmıştır. Testte, CC genotipi referans alınarak CT ve TT genotipleri buna oranlanmıştır, Odds Oranı 2.381 bulunmasına karşın, istatistiksel olarak anlamlı değildi, $p=0.104$ (% 95 güven aralığı 0.837-6.769 alındı). Hodgkin ve Kontrol gruplarının MMP-9 -1562 C/T genotip dağılımları tablo 15'te gösterilmiştir.

Tablo 15: Hodgkin ve Kontrol gruplarının MMP-9 -1562 C/T genotip dağılımı (n= birey sayısı).

MMP-9 -1562				
Tanı	CC n(%)	CT n(%)	TT n(%)	Toplam n(%)
Kontrol	84(% 81.6)	19 (% 18.4)	0(% 0)	103(% 100)
HH	13(% 73)	5(% 27)	2(% 10)	20(% 100)

Kontrol grubunda MMP-9 -1562 polimorfizminin allel frekansları C alleli için 0.9078, T alleli için 0.0922 bulunmuştur. Hasta grubunun genelinde C alleli 0.8593, T alleli 0.1407 bulunmuştur. Hasta grupları tek tek ele alındığında KLL grubunda C alleli 0.87, T alleli 0.13, HH grubunda C alleli 0.775, T alleli 0.225, NHL grubunda C alleli 0.8649, T alleli 0.1351, ALL grubunda C alleli 0.8571, T alleli 0.1429, MM grubunda C alleli 0.9286, T alleli 0.714 bulunmuştur. Kontrol ve hasta gruplarında MMP-9 -1562 C/T polimorfizmine ait allel frekanslarının dağılımı tablo 16'da gösterilmiştir.

Tablo 16 : Kontrol ve hasta gruplarında MMP-9 -1562 C/T polimorfizmine ait allel frekanslarının dağılımı.

MMP-9 -1562		
Gruplar	Allel Frekansları	
	C	T
Kontrol	0.9078	0.0922
GAYHGD	0.8593	0.1407
KLL	0.87	0.13
HH	0.775	0.225
NHL	0.8649	0.1351
ALL	0.8571	0.1429
MM	0.9286	0.0714

Uygulanan Heliks Tri testiyle, hasta grubunun MMP-9 -1562 genotiplerinin Hardy Weinberg dengesinde olduğu ($p=0.816$), kontrol grubunun MMP-9 -1562 genotiplerinin Hardy Weinberg dengesinde olduğu ($p=0.302$) gözlenmiştir.

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda lenfoid maligniteli bireyler ile sağlıklı bireyler karşılaştırılarak, MMP-2 -1306 C/T ve MMP-9 -1562 C/T polimorfizmleri ilişkisi incelenmiştir. Ancak, MMP-2 -1306 C/T ve MMP-9 -1562 C/T varyantları ile hasta grupları arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

Lenfoid maligniteler ile bu polimorfizmler arasında gen ekspresyon düzeyi ve allelerin promoter aktivitesi ile ilgili çalışmalar yapılmış^{126, 6} olmasına karşın, lenfoid maligniteler ile polimorfizmlerin allel frekansı ve genotip dağılımı arasındaki ilişkiyi araştıran çalışma bulunmamaktadır. Bununla beraber, çeşitli topluluklarda, değişik maligniteler ve hastalıklarda bu polimorfizmlerin allel frekansı ve genotip dağılımı ilişkisini araştıran çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalarda bulunun sonuçlar MMP-2 için tablo17'de, MMP-9 için tablo 18'de gösterilmiştir. Çalışmamız Türk popülasyonunda MMP-2 -1306 C/T ve MMP-9 -1562 C/T polimorfizmi açısından yapılan ilk çalışmadır. Farklı popülasyonlardaki sağlıklı kontrollerin değerleri MMP-2 için tablo19, MMP-9 için tablo 20'de gösterilmiştir.

MMP-2 -1306 C/T allel frekansları açısından çalışmamızda elde ettiğimiz değerlerin Kafkas, Tayland ve Çin popülasyonu ile yapılan çalışmalarda elde edilen değerlerle uyumlu olduğu (Çalışmamızda C 0.8273/ T 0.1727, Kafkas popülasyonunda C 0.77/ T 0.23, Tayland popülasyonunda C 0.872/ T 0.128, Çin popülasyonunda C 0.836/ T 0.164) gözlenmiştir^{124,127, 128}. Bu polimorfizmin genotip dağılımı açısından ise bulgularımız Çin ve Tayland popülasyonunun dağılımına benzemekle birlikte, bazı farklılıklar mevcuttur. Her iki popülasyona oranla CT genotipi bir miktar yüksek (Çalışmamızda % 30.9, Çin popülasyonunda % 28.3, Tayland popülasyonunda % 22.4), CC genotipi ise bir miktar az (Çalışmamızda % 67.3, Çin popülasyonunda % 69.4, Tayland popülasyonunda % 76) gözlenmiştir^{128,127}. MMP-9 -1562 C/T allel frekansları açısından çalışmamızda elde ettiğimiz değerler Kafkas, Japon ve beyaz Amerika popülasyonunda yapılan çalışmalarla uyumlu gözlenmesine karşın Çin popülasyonunda C allel frekansı yüksek, Japon popülasyonunda ise T alleli frekansı popülasyonumuza oranla yüksektir (Çalışmamızda C 0.9078/ T 0.0922, Kafkas popülasyonunda C 0.87/ T 0.13, Japon popülasyonunda C 0.697/ T 0.303, beyaz Amerikan popülasyonunda C 0.921/T 0.079, Çin

populasyonunda C 0.987/ T 0.013) ^{129, 130, 131, 132}. Aynı polimorfizmin genotip dağılımı değerleri Amerikan, Avrupa ve Çin populasyonları ile yapılan çalışmalar ile uyumlu bulunmuştur ^{128, 131, 133}. Çalışmamızda T genotipi % 0 iken Kafkas ve Japon ırklarında yapılan çalışmalarda bu genotip % 3.8'dir^{129,130}. Aynı zamanda örneklerimizde bu populasyonlara göre CC genotipi dağılımı bir miktar yüksek tespit edilmiştir (Çalışmamızda CC % 81.6, Kafkas populasyonunda CC % 75.9, Japon populasyonunda CC % 69.7) ^{129, 130}.

Tablo 17: MMP-2 -1306C/T polimorfizmi ile ilgili bazı çalışmaların sonuçları.

MMP-2 -1306 C/T						
Gruplar	Genotip dağılımı			Allel frekansı		Çalışma/ Populasyon
	CC (%)	CT (%)	TT (%)	C	T	
Göğüs Kanseri Kontrol	-	-	-	0.77	0.23	Grieu ¹²⁴ / Kafkas
Göğüs Kanseri Hasta Grubu	-	-	-	0.725	0.275	"
HNSCC Kontrol	% 76	% 22.4	% 1.6	0.872	0.128	O-Choroenrat ¹²⁷ / Tayland
HNSCC Hasta	% 86.2	% 13.8	% 0	0.931	0.069	"
KKH Kontrol	% 53	% 42	% 5	0.74	0.26	Vasku ¹²⁵ / Çekoslovak
KKH Hasta	% 60	% 35	% 5	0.77	0.23	"
Özefagus Kanseri Kontrol	% 69.4	% 28.3	% 2.3	0.836	0.164	Chunyuan Yu ¹²⁸ / Çin
Özefagus Kanseri Hasta	% 77.6	% 21.3	% 1.1	0.882	0.118	"
Koroner Aterosklerozlu ve Anevrizması Olmayan	% 61	% 32	% 7	0.77	0.23	Lamblin ¹¹⁹ / Amerika
Koroner Aterosklerozlu ve Anevrizması Olan	% 69	% 28	% 3	0.83	0.17	"

Tablo 18: MMP-9 -1562C/T polimorfizmi ile ilgili bazı çalışmaların sonuçları.

MMP-9 -1562 C/T						
Gruplar	Genotip dağılımı			Allel frekansı		Çalışma/ Populasyon
	CC (%)	CT (%)	TT (%)	C	T	
Kontrol	% 73	% 23.2	% 3.8	0.846	0.154	Awakura ¹³⁴ / Japon
Renal Hücreli Karsinom	% 70.4	% 27.9	% 1.7	0.844	0.156	"
Göğüs kanseri Kontrol				0.87	0.13	Grieu ¹²⁴ / Kafkas
Kontrol	% 79.4	% 20.6	% 0	0.987	0.013	Wang ¹³² / Çin
Küçük Hücreli Olmayan Akciger karsinomaları	% 77.4	% 21.8	% 0.8	0.883	0.117	"
Kontrol	-	-	-	0.87	0.13	Zhang ⁶² / Kafkas
Miyokard İnfarktüs Hastalığı	-	-	-	0.86	0.14	"
Kontrol	% 69.7	% 28.1	% 2.2	0.697	0.303	Matsumura ¹³⁰ / Japon
Gastrik kanser Hastalığı	% 75.1	% 21.5	% 3.4	0.751	0.249	"
Kontrol	% 75.9	% 20.3	% 3.8	0.861	0.139	Holla ¹²⁹ / Kafkas
Atopik Astım Hastalığı	% 74.6	% 22	% 3.4	0.856	0.144	"

Tablo 18: Devamı

MMP-9 -1562 C/T						
Gruplar	Genotip dağılımı			Allel frekansı		Çalışma/ Populasyon
	CC (%)	CT (%)	TT(%)	C	T	
Kontrol	% 75	% 23	% 2	0.87	0.13	Okamoto ¹³⁵ / Japon
Karaciğer Sirozu	% 78	% 20	% 2	0.88	0.12	"
Kronik Karaciğer Hepatiti	% 62	% 35	% 3	0.79	0.21	"
Kontrol	% 84.2	%15.8	% 0	0.921	0.079	Morgan ¹³¹ /BeyazAmerikan
Koroner Arter Darlığı	% 78	% 20.3	% 1.6	0.882	0.118	"
Kontrol	% 71.5	% 28	% 0.5	0.855	0.145	Jones ¹³⁶ / Yeni Zelanda
Periferik Vaskuler Hastalık	% 75	% 25	% 0	-	-	"
Abdominal Aort Anevrizma	% 62.1	% 35	% 2.9	-	-	Jones ¹³⁶ / Yeni Zelanda
Kontrol	% 79.7	% 20.3	% 0	-	-	Montaner ¹³³ / Avrupa
Stroke Hastalığı	% 72.3	% 27.7	% 0	-	-	"

Tablo19: MMP-2 -1306C/T polimorfizmi ile ilgili, farklı popülasyonlardan sağlıklı bireylerden elde edilmiş değerler.

MMP-2 -1306C/T						
Gruplar	Genotip Dağılımı			Allel Frekansı		Çalışma / Popülasyon
	CC	CT	TT	C	T	
Kontrol	-	-	-	0.77	0.23	Grieu ¹²⁴ / Kafkas
Kontrol	% 76	% 22.4	% 1.6	0.872	0.128	O-Choroenrat ¹²⁷ / Tayland
Kontrol	% 53	% 42	% 5	0.74	0.26	Vasku ¹²⁵ / Çekoslovak
Kontrol	% 69.4	% 28.3	% 2.3	0.836	0.164	Chunyuan Yu ¹²⁸ / Çin

Tablo20: MMP-9 -1562C/T polimorfizmi ile ilgili, farklı popülasyonlardan sağlıklı bireylerden elde edilmiş değerler.

MMP-9 -1562C/T						
Gruplar	Genotip Dağılımı			Allel Frekansı		Çalışma/ Popülasyon
	CC	CT	TT	C	T	
Kontrol	-	-	-	0.87	0.13	Grieu ¹²⁴ / Kafkas
Kontrol	% 73	% 23.2	% 3.8	0.846	0.154	Awakura ¹³⁴ / Japon
Kontrol	% 79.4	% 20.6	% 0	0.987	0.013	Wang ¹³² / Çin
Kontrol	-	-	-	0.87	0.13	Zhang ¹²² / Kafkas
Kontrol	% 69.7	% 28.1	% 2.2	0.697	0.303	Matsumura ¹³⁰ / Japon
Kontrol	% 75.9	% 20.3	% 3.8	0.861	0.139	Holla ¹²⁹ /Kafkas
Kontrol	% 75	% 23	% 2	0.87	0.13	Okamoto ¹³⁵ / Japon
Kontrol	% 84.2	% 15.8	% 0	0.921	0.079	Morgan ¹³¹ /Beyaz Amerikan
Kontrol	% 71.5	% 28	% 0.5	0.855	0.145	Jones ¹³⁶ / Yeni Zelanda
Kontrol	% 79.7	% 20.3	% 0	-	-	Montaner ¹³³ / Avrupa

Transfeksiyon deneyleri ile MMP-2 -1306T allelinin C allele göre promoter aktivitesinin anlamlı derecede düşük olduğu saptanmıştır¹²⁴. MMP-2 -1306 C/T polimorfizmi için Kafkas ırkında sağlıklı kişilerde T allel frekansı 0.26 olarak gözlenirken, bu değer Çin popülasyonunda 0.16 olduğu tespit edilmiştir. Çin popülasyonunda MMP-2 -1306 CT ve TT genotipleri CC genotipi ile karşılaştırıldığında, akciğer, mide ve göğüs kanserleri için düşük risk göstermektedirler. MMP-9 -1562 T alleli, C allele göre yaklaşık 1.5 kat yüksek promoter aktivitesi göstermektedir ve sağlıklı Kafkas popülasyonunda frekans yaklaşık 0.15'tir¹²⁴.

Kuittinen O ve ark.ları, MMP-2 ve MMP-9'un Hodgkin hastalığındaki rolü üzerine çalışmışlardır¹²⁶. Hazar ve ark.lar, Hodgkin hastalıklı, Non Hodgkin lenfomalı bireylerde ve sağlıklı kontrollerin serumunda MMP-2 ve MMP-9 düzeylerini araştırmışlardır⁶. Kuittinen O ve ark.ları, çalışmasında, MMP-2 ve MMP-9'un Reed stenberg hücreleri veya reaktif lenfositlerdeki ekspresyonu ile hastalık evresi ve ektranodal bulgular arasında ilişki olduğunu saptamışlardır¹²⁶. Malign hücrelerde veya reaktif lenfositlerde MMP-2 ekspresyonunun artması, hayatta kalım süresinin artması ile ilişkili iken, MMP-9 ekspresyonunun artması hayatta kalım süresinin daha düşürdüğünün tespit edilmiştir. Ancak bu veriler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır¹²⁶. MMP-9 düzeylerinin, HH ve NHL'da kontrol grubuna oranla yüksek olduğu tespit edilmiştir⁶. NHL'da, düşük evredeki hastalara göre yüksek evredeki hastalarda, yüksek düzey MMP-9 mRNA ekspresyonu olduğu saptanmıştır⁶. Sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında MMP2 düzey yüksekliği, HH'da daha sık saptanmıştır⁶. Buna karşın hastalık derecesi, B semptomları, tedaviye cevap, hayatta kalım gibi diğer klinik parametreler ile arasında bir ilişki bulunmamıştır. Hodgkin hastalığı ve NHL grubundaki MMP-9 düzeyleri, kontrollerle karşılaştırıldığında 4-5 kat yüksek bulunmuştur⁶. Kuittinen O ve ark.ları¹²⁶, MMP-9'un zararlı etkisinin tümörün invazyon olasılıkları veya tümör neovaskülerizasyonu ile ilişkili olmayıp, immünolojik süreçlerin kontrolü ile ilişkili olabileceğini tespit etmişlerdir. Kuittinen O ve ark.ları¹²⁶, Hodgkin hastalığında MMP-2'nin iyi prognozla MMP-9'un kötü prognozla ilişkili olduğunu tespit ederken, Hazar ve ark.ları, MMP-2 ve MMP-9 düzeyleri ile NHL ve Hodgkin hastalıklarının klinik karakteristikleri arasında ilişki tespit etmemişlerdir⁶. Çalışmamızda da MMP-2 -1306 C/T ve MMP-9 -1562 C/T

polimorfizmleri ile hastalıklar arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmemesine karşın, MMP-9 -1562 C/T polimorfizmi açısından Hodgkin hastalığı grubunda, kontrollere göre yüksek promotor aktivitesi gösteren T alleli sıklığı daha fazla gözlenmiştir. Ancak (odds ratio 2.381) istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p=0.104) (%95 güven aralığı 0.837-6.769). Hodgkin hastalığında yüksek promotor aktivitesini gösteren varyantın fazla gözlenmesi Kuittinen O ve arklarının çalışmasında tespit ettiği, MMP-9 ile kötü prognoz arasındaki ilişki ile uyumludur .

MMP-2 -1306 C/T ve MMP-9 -1562 C/T polimorfizmleri ile hematolojik malignite ilişkisini araştıran bir çalışma olmamakla beraber, bu polimorfizmler farklı kanser tipleri için araştırılmıştır. MMP-2 -1306 C/T polimorfizmi için, Grieu ve ark.ları¹²⁴ meme kanserinde, O- Choroenrat ve ark.ları¹²⁷ baş ve boyun squamoz hücre karsinoma (HNSCC), Chunyuan Yu ve ark.ları¹²⁸ özefagus kanserinde araştırma yapmışlardır. Grieu ve ark.ları¹²⁴, MMP-2 -1306 TT genotipinin nodal tutulum, tümör tipi, histolojik evre, erb B2 amplifikasyonu ve p53 mutasyonları ile ilişkisini saptayamamışlardır. Bununla beraber MMP-2 T homozigotların, tümördeki östrojen reseptör pozitifliği veya negatifliğine bağlı olarak hayatta kalımda anlamlı farklılıklar gösterdiğini tespit etmişlerdir. Östrojen reseptörü negatif tümörlerde MMP-2 TT genotipi kötü prognoz ile ilişkili olduğunu tespit etmiştir. Östrojen reseptörü pozitif tümörlerde MMP-2 TT genotipi çok iyi hayatta kalım ile ilişkili saptanmıştır¹²⁴, O- Choroenrat ve ark.ları¹²⁷ MMP2 CC genotipinin HNSCC hastalığında 1,97 kat artmış risk ile ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir , Chunyuan Yu ve ark.ları¹²⁸, çalışmaları sonucunda MMP-2 -1306 CC genotipi taşıyanlarda taşımayanlara göre özefagus squamoz hücreli karsinom gelişme riskinin 1,52 kat yüksek olduğunu, -1306C/-735C haplotipi taşıyanlarda bu haplotipe sahip olmayanlara göre özefagus squamoz hücreli kanser gelişimi 6 kattan fazla geliştiğini saptamışlardır, bu genotipte uzak metastazlarında görülme riskinin arttığını tespit etmişlerdir . Choroenrat ve ark.ları¹²⁷, Chunyuan Yu ve ark.ları¹²⁸ çalışmalarında MMP-2 -1306 CC fenotipi ile tümör gelişim riski artışı ile ilişki tespit ederken, Grieu ve ark.ları¹²⁴ ilişki tespit edememişlerdir, ayrıca MMP-1306 polimorfizminin tümördeki östrojen varlığına bağlı olarak hayatta kalımı etkilediğini de tespit etmişlerdir.

MMP-9 -1562 C/T polimorfizmi için, Grieu ve ark.ları¹²⁴ meme kanserinde, Awakura ve ark.ları¹³⁴ renal hücreli karsinomda, Wang ve ark.ları

¹³², küçük hücreli olmayan akciğer karsinomlu hastalarda¹³², Matsumura ve ark.ları¹³⁰, Japon gastrik kanser hastalarında¹³⁰ çalışmalar yapmışlardır. Grieu ve ark.ları¹²⁴ MMP-9 CC ve CT/ TT genotip gruplarında, hastalığın ortalama tespit yaşı ve ortalama östrojen reseptör konsantrasyonu açısından anlamlı bir farklılık tespit edememişlerdir. MMP-9 -1562 CT/TT genotipli hastaların CC homozigot hastalara göre uzun hayatta kalma süresine sahip oldukları tespit etmişlerdir¹²⁴. Awakura ve ark.ları¹³⁴, -1562 C/T genotip dağılımı ile renal hücreli kanser gelişimi arasında ilişkili bulunamamışlardır . Wang ve ark.ları¹³², küçük hücreli olmayan akciğer karsinomlu hasta grubu ile sağlıklı bireyler arasında allel dağılımı açısından anlamlı bir fark saptamamışlardır. Aynı zamanda, CC genotipinin, T allel içeren genotiplerle karşılaştırıldığında, hastalık gelişimi riskini etkilemediği tespit edilmiştir¹³². Matsumura ve ark.ları¹³⁰ ilerlemiş derecedeki gastrik kanserli hastalarda, T alleli (CT ve TT), CC genotipine göre daha sık saptamışlardır¹³⁰. Buna karşın, lenf nodu metastazı açısından, genotip ile anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir¹³⁰.

MMP-2 -1306 C/T ve MMP-9 -1562 C/T polimorfizmleri arasındaki ilişki kanser dışında farklı hastalıklarda da çalışılmıştır. MMP-2 -1306 C/T polimorfizmi ilişkisini, Lamblin ve ark.ları¹¹⁹, koroner anevrizması olan hastalarda , Vasku ve ark.ları¹²⁵ koroner üçlü damar hastalığı olan hastalarda çalışmışlardır. Lamblin ve ark.ları¹¹⁹ çalışmasında CC genotipi ve C allelinin koroner anevrizma grubunda daha fazla bulunmasına karşın farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını saptamışlardır¹¹⁹, Vasku ve ark.ları¹²⁵ çalışmasında hasta ve kontrol gruplarında genotip dağılımı için anlamlı bir farklılık tespit edememişlerdir .

MMP-9 -1562 C/T polimorfizmi ilişkisini, Zhang ve ark.ları⁶² miyokard infarktüsü hastalarda, Holla ve ark.ları¹²⁹. atopik astım hastalarında, Okamoto ve ark.ları¹³⁵ kronik karaciğer hepatit ve karaciğer sirozunda, Wagner ve ark.ları¹³⁷ servikal arter disseksiyonu, Morgan ve ark.ları¹³¹ koroner artroskleroz, Blankenberg ve ark.ları¹³⁸ koroner artroskleroz, Jones ve ark.ları¹³⁶ Abdominal aort anevrizmalı (AAA), Montaner ve ark.ları¹³³ stroke tedavisi sonrası gelişen intrakranial kanamalar, Pollanen ve ark.ları¹³⁹ çeşitli derecelerdeki kronik lezyonlu kadavralarda, Ferrand ve ark.ları¹⁴⁰ preterm prematür membran rüptürü (PPROM) gelişen gebelerde araştırmışlardır.

Polimorfizm ile kardiyovasküler sistem (KVS) hastalıkları ilişkisini araştıran çalışmalar arasında, Zhang ve ark.ları⁶² çalışmalarında TT genotipini taşıyanların % 26'sının 3 arterinde % 50'den fazla darlık bulunmuşlar, buna karşın CC grubunun % 15'inde 3 damar hastalığı ile karşılaşmışlar, bu sonuçlar ile bu fonksiyonel genetik varyasyonun aterosklerozisin fenotipinde etkili olduğu saptanmıştır, Morgan ve ark.ları¹³¹ çalışmalarında CT ve TT genotip frekansları CC genotipine göre, koroner darlık gözlenen grupta gözlenmeyen gruba göre daha yüksek tespit etmişlerdir, Pollanen ve ark.ları¹³⁹, Zhang ve ark.ları⁶² ve Morgan ve ark.ları¹³¹ tarafından yapılan çalışmadaki bulguların tersine koroner trombüs veya akut miyokard enfaktüs ile MMP-9 genotiplerinin frekansı arasında ilişki tespit edilmemiştir. Blankenberg ve ark.ları¹³⁸ çalışmasında, MMP-9 -1562 C/T polimorfizmi ile kardiyovasküler hastalıklardaki kayıplar arasında ilişki tespit edememişler¹³⁸, Jones ve ark.ları¹³⁶ çalışmalarında MMP9 -1562 C/T polimorfizminin AAA için kuvvetli bir bağımsız risk faktörü olduğu saptamışlardır, Montaner ve ark.ları¹³³ çalışmada stroke hastalarında tPA uygulamasından sonra görülen intrakranial kanamalar ile -1562 C/T polimorfizmi arasında ilişki tespit edememişler¹³³, Wagner ve ark.ları¹³⁷ servikal arter disseksiyonu hasta ve kontrol grupları arasında MMP-9 -1562 C/T tek nukleotit polimorfizmi allel dağılımları açısından anlamlı bir istatistiksel farklılık saptamamışlardır¹³⁷, Sonuçların farklı çıkmasında çalışmaların farklı populasyonlarda yapılmış olması etken olabilir, Zhang ve ark.ları⁶² Kafkas ırkında, Morgan ve ark.ları¹³¹ beyaz Amerikan populasyonundan sonuçlarını elde ederken Pollanen ve ark.ları¹³⁹ Fin populasyonundan sonuçlarını elde etmişlerdir. Benzer çalışmaların benzer populasyonlarda tekrarlanması MMP-9 -1562 C/T polimorfizmi ile KVS hastalıkları arasındaki ilişkinin aydınlatılmasına yardımcı olacaktır.

Holla ve ark.ları, Kafkas ırkına mensup atopik astım hastasında MMP-9 -1562 C/T polimorfizmi ilişkisini araştırmışlardır¹²⁹. Bu çalışmada astımın düşük ya da yüksek pulmoner fonksiyon değerleri veya serum IgE'si yüksek veya düşük olan hastalarda allel frekansları ve genotip dağılımında anlamlı bir farklılık tespit edememişlerdir¹²⁹.

Okamoto ve ark.ları¹³⁵, Japon populasyonundan HCV ilişkili kronik karaciğer hepatiti, HCV ilişkili karaciğer sirozunda MMP-9 -1562 C/T ilişkisini araştırmışlardır. Bu çalışmada, kronik hepatit ile karaciğer sirozu arasında

MMP-9 -1562 C/T gen polimorfizminin genotip dağılımı ve allel frekansı açısından anlamlı bir farklılık bulunmuştur¹³⁵. Sirotik hastalarda C allel frekansı daha yüksektir ve CC genotip oranı kronik hepatite göre daha yüksek saptanmışlardır¹³⁵.

Ferrand ve ark.ları¹⁴⁰, Afrika kökenli Amerikalılardan oluşan hasta grubunda membranların preterm prematür rüptürü (PPROM) ile MMP-9 -1562 C/T polimorfizmi ilişkisini araştırmışlardır. Bu çalışmada, membranların preterm prematür rüptürü ile MMP-9 -1562 C/T polimorfizmi arasında bir ilişki tespit edilememiştir.

MMP-2 1306 C/T ve MMP-9 1562 C/T polimorfizmleri için değişik hastalıklardaki çalışmalarda, istatistiksel anlamlılığın farklı çıkması popülasyon farklılıkları, hastalıkların gelişiminde MMP'lerinin rolü, hasta ve kontrol gruplarının sayısı ile ilişkili olabilir. Bu nedenle, aynı hastalıkların farklı popülasyonlarda tekrarlanması MMP'lerinin hastalık gelişimindeki rolünü aydınlatmada faydalı olacaktır.

Popülasyon ve hastalık grubu farklılıkları nedeniyle, çalışmamızdaki genotip dağılımı ve allel frekansı verileri ile diğer çalışmalardaki hastalık grupları verileri arasında farklılıklar mevcut olduğu gözlenmiştir. Sadece çalışmamızda hastalık grubu ayrımı yapılmadan hesaplanan hasta grubu değerleri ile bazı çalışmaların uyumlu olduğu gözlenmiştir.

MMP-2 -1306, hastalık grubu ayrımı yapılmadan hesaplanan veriler, Çin popülasyonunda çalışmış Chunyuan Yu ve ark.ları¹²⁸ ve Amerikan popülasyonunda çalışmış Lamblin ve ark.larının¹¹⁹ çalışmaları ile uyumlu olduğu gözlenmiştir. Çalışmamızda T allel frekansı Chunyuan Yu ve ark.ları'dan farklı olarak bir miktar yüksek gözlenmiştir¹²⁸.

Çalışmamızın, MMP-9 -1562, hastalık grubu ayrımı yapılmadan hesaplanan hastalık grubu genotip dağılımı ve allel frekansı değerleri, Morgan ve ark.larının¹³¹ çalışmasıyla uyumludur ve CC ve CT genotipleri bir miktar çalışmamızda yüksek gözlenmesine karşın Holla ve ark.larının¹²⁹ çalışmasıyla uyumlu gözlenmiştir. MMP-9 -1562, hastalık grubu ayrımı yapılmadan hesaplanan hastalık grubu allel frekansı verileri aynı şekilde Zhang ve ark.ları'ın Kafkas ırkından örneklerle yaptığı çalışma ile uyumlu olduğu gözlenmiştir⁶².

MMP-2 -1306 C/T ve MMP-9 -1562 C/T polimorfizmlerinin lenfoid malignitelerle ilişkisini araştıran bir başka çalışma olmadığı için elde edilen sonuçları farklı populasyonlarla karşılaştırma olanağı bulamamakla birlikte, aynı çalışmanın daha büyük hasta grupları ve uzun vadede gözlenen prognoz ilişkisi ile beraber değerlendirilmesi istatistiksel anlamlılığı etkileyebilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan bu çalışmada hematolojik malignitelerin lenfoid kökenlilerinden olan KLL, ALL, NHL, HL ve MM hastalıklarında MMP-2 -1306C/T, MMP-9 -1562C/T polimorfizmleri arasındaki ilişki araştırılmıştır. Hodgkin lenfoma grubunda T alleli yüksek gözlenmesine karşın, istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bununla beraber polimorfizmler ile hastalıklar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.

1- Çalışılan örnek sayısı arttırılırsa daha anlamlı sonuçlar elde edilebilir.

2- MMP genlerindeki polimorfizmin etnik farklılıklar göstermesinden dolayı ve bu gen polimorfizmi ile ilgili bu çalışmanın lenfoid malignitelerle ilişkisini araştıran bir çalışma olması nedeni ile farklı populasyonlarda aynı çalışmanın tekrarlanması yararlı olacaktır.

3- Maligniteleri etkilemesi muhtemel diğer risk faktörleri ve genlerle yapılacak olan kapsamlı bir çalışma, daha anlamlı sonuçlar verebilir.

4- MMP-2 -1306C/T, MMP-9 -1562C/T ile çeşitli hastalıklarda tedaviye yanıtla ilgili çalışmalar yapılabilir.

5- Bu polimorfizmler ile diğer MMP'ler ve MMP-2, MMP-9'un diğer polimorfizimleri arasındaki ilişkileri araştıran çalışmalar yapılabilir. TIMP gibi inhibitör genlerle olan ilişkileri araştırılabilir.

7. KAYNAKLAR

1. Arthur K. Sullivan. Classification, pathogenesis, and etiology of neoplastic diseases of the hemopoietic system. In: Lee GR,. Bithell TC, Foerster J,Athens JW, Lukens JN, eds. Wintrobe's Clinical Hematology. 9th ed. Philadelphia, London: Lea and Febiger, 1993: 1725-91.
2. Bode W, Catalan FC, Tschesche H, Grams F, Nagase H, Maskos K, Structural properties of matrix metalloproteinases. CMLS 1999; 55: 639-652.
3. Stamenkovic I, Matrix metalloproteinases in tumor invasion and metastasis. Semin. Cancer Biol 2000; 10: 415-33.
4. Nagase H, Visse R, Murphy G, Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. Cardiovasc Res 2006; 69: 562-73.
5. Lemaitre V, D'Armiento J, Matrix metalloproteinases in development and disease. Birth Defects Res. C Embryo Today 2006; 78: 1-10.
6. Hazar B, Polat G, Seyrek E, Bagdatoglu O, Kanik A, Tiftik N, Prognostic value of matrix metalloproteinases (MMP-2 and MMP-9) in Hodgkin's and non-Hodgkin's lymphoma. Int J Clin Pract 2004; 58(2): 139-43.
7. Athens WJ. Chronic Myeloid leukemia. In: Lee GR,. Bithell TC, Foerster J,Athens JW, Lukens JN, eds. Wintrobe's Clinical Hematology. 9th ed. Philadelphia, London: Lea and Febiger, 1993: 1969-998.
8. Lukens NJ. Classification nad Differentiation of the Acute leukemias. In: Lee GR,. Bithell TC, Foerster J, Athens JW, Lukens JN, eds. Wintrobe's Clinical Hematology. 9th ed. Philadelphia, London: Lea and Febiger 1993: 1873-1891.
9. Hematopoitik ve lenfoid Malignitelerin Sınıflandırılması: Genel Bakış, Kern WF. PDQ Hematoloji, 1. baskı, İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık, 2005: 221-225.
10. Smith C, Hematopoitetic Stem Cells and Hematopoiesis. Cancer Control 2003; 10: 9-16.
11. Weksler BB, Hematolojic Malignancies. In: Andreoli TE, Bennett JC, Carpenter CCJ, Plum F, Smith LH, eds. Cecil. Essent.als of Medicine 3rd ed. Philedelphia: W.B.Saunders Company, 1993: 382-400.

12. Akut Lösemiler Kern WF. PDQ Hematoloji, 1. baskı, İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık, 2005: 227-54.
13. Pui CH. Acute Lymphoblastic Leukemia. In: Beutler E, Collier B, Lichtman M, Kipps TJ, eds. Williams Hematology. 6th ed. New York: Mc Grae Hill, 2001: 1137- 61.
14. Precursor cell lymphoproliferative disorders. In: Child JA, Jack AS, Morgan GJ, eds. The lymphoproliferative disorders. 1st ed. London: Chapman and Hall Medical, 1998: 125-52.
15. Bench A.J, Erber W.N, Scott M.A, Molecular genetic analysis of hematological malignancies: I. Acute leukemias and myeloproliferative disorders. Clin. Lab. Hematol 2005; 27: 148-71.
16. Kronik Lenfositik Lösemiler, Kern WF. PDQ Hematoloji, 1. baskı, İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık, 2005: 297-17.
17. Kipps TJ. Chronic Lymphocytic Leukemia And Related Diseases. In: Beutler E, Collier B, Lichtman M, Kipps TJ, eds. Williams Hematology. 6th ed. New York: Mc Grae Hill, 2001: 1163-94.
18. Crossen PE. Genes and chromosomes in chronic B-cell leukemia, Cancer Genet Cytogenet 1997; 94: 44-1.
19. Bain BJ, Overview, Best Pract Res Clin Haematol 2001; 3(14): 463-77.
20. Lai JL, Michaux L, Dastugue N, Vasseur F, Daudignon A, Facon T, Bauters F, Zandecki M, Cytogenetics in Multiple Myeloma: A multicenter study of 24 patients with t(11;14)(q13;32) or its variant, Cancer Genet Cytogenet 1998; 104: 133-38.
21. Horning SJ. Hodgkin Lymphoma. In: Beutler E, Collier B, Lichtman M, Kipps TJ, eds. Williams Hematology. 6th ed. New York: Mc Grae Hill, 2001: 1215-1235.
22. Malign lenfomalar: Hodgkin Dışı Lenfomalar ve Hodgkin hastalığı, Kern WF. PDQ Hematoloji, 1. baskı, İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık, 2005: 319-52.
23. Hodgkin's Disease, In: Child JA, Jack AS, Morgan GJ, eds. The lymphoproliferative disorders. 1st ed. London: Chapman and Hall Medical, 1998: 154-67.
24. Armitage OJ, Staging non Hodgkin lymphoma. CA Cancer J Clin 2005; 55: 368- 76.

25. Barlogie B, Shaughnessy J, Munshi N, Epstein J. Plasma Cell Myeloma. In: Beutler E, Collier B, Lichtman M, Kipps TJ, eds. Williams Hematology. 6th ed. New York: Mc Grae Hill, 2001: 1279-304.
26. Multipl Miyolom, Monoklonal Gammopatiler ve Diğer Plazma Hücreleri Diskrazileri. Kern WF. PDQ Hematoloji, 1. baskı, İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık, 2005: 353-71.
27. Chronic lymphoproliferative Disorders. In: Heim S, Mitelman F, eds. Cancer Cytogenetics, 2nd ed. Newyork : Wiley-Liss, 1995: 237- 65.
28. Rogers BB, Lymphoma. Seminars in Oncology Nursing 2006; 2(22): 67-2.
29. Brain CHC, Bhava JD, Aaron B, Gapstur SM, Zahm SH, Weisenburger DD 2006; 108(4): 1363-9.
30. Foon KA, Fisher RI, Lymphomas. In: Beutler E, Collier B, Lichtman M, Kipps TJ, eds. Williams Hematology. 6th ed. New York: Mc Grae Hill, 2001: 1237-62.
31. Malignant lymphomas, In: Heim S, Mitelman F, eds. Cancer Cytogenetics, 2nd ed. Newyork : Wiley-Liss, 1995: 266-09.
32. John A, Tuszynski G, The role of Matrix metalloproteinases in tumor angiogenesis and tumor metasis. Pathol Oncol Res 2001; 7(1): 14-23.
33. Poola I, Witty RL, Marshalleck JJ, Bhatnagar R, Abraham J, Leffall LD, Identification of MMP-1 as a putative breast cancer predictive marker by global gene expression analysis. Nat Med 2005; 11(5): 481-4.
34. Shiomi T, Okada Y, Emphysematous changes are caused by degradation of type III collagen in transgenic mice expressing MMP-1. Exp Lung Res 2003; 29: 1-15.
35. Mercer BA, Kolesnikova N, Sonett J, D'Armiento J, Extracellular regulated kinase/mitogen activated protein kinase is up-regulated in pulmonary emphysema and mediates matrix metalloproteinase-1 induction by cigarette smoke. J Biol Chem 2004; 17(279): 17690-96.
36. D'Armiento J, DiColandrea T, Dalal SS, Okada Y, Huang MT, Conney AH, Chada K, Collagenase expression in transgenic mouse skin causes hyperkeratosis and acanthosis and increases susceptibility to tumorigenesis. Mol Cell Biol 1995; 15(10): 5732-39.

37. Kim HE, Dalal SS, Young E, Legato MJ, Weisfeldt ML, D'Armiento J, Disruption of the myocardial extracellular matrix leads to cardiac dysfunction. *J Clin Invest* 2000; 106(7): 857-866.
38. Libby P, Ridker PM, Maseri A, Inflammation and atherosclerosis. *Circ Res* 2002; 105: 1135-143.
39. Lutgens E, Suylen RJ, Faber BC, Gijbels MJ, Eurlings PM, Bijnens AP, Cleutjens KB, Heeneman S, Daemen MJAP, Atherosclerotic plaque rupture local or systemic process. *Circ Res* 2003; 23: 2123-130.
40. Lemaitre V, O'Byrne TK, Borczuk AC, Okada Y, Tall AR, D'Armiento J, ApoE knockout mice expressing human matrix metalloproteinase-1 in macrophages have less advanced atherosclerosis, *J Clin Invest* 2001; 107(10): 1227-234.
41. Balbin M, Fueyo A, Knauper V, Pendas AM, Lopez JM, Jimenez MG, Murphy G, Otin CL, Collagenase 2 (MMP-8) Expression in murine tissue-remodeling processes analysis of its potential role in postpartum involution of uterus. *J Biol Chem* 1998; 273(37): 23959-3968.
42. Balbin M, Fueyo A, Tester AM, Pendas AM, Pitiot AS, Astudillo A, Overall CM, Shapiro SD, Otin CL, Loss of collagenase-2 confers increased skin tumor susceptibility to male mice. *Nat Genet* 2003; 35(3): 252-57.
43. Herman MP, Sukhova GK, Libby P, Gerdes N, Tang N, Horton DB, Kilbride M, Breitbart RE, Chun M, Schönbeck U, Expression of neutrophil collagenase (matrix metalloproteinase-8) in human atheroma: A novel collagenolytic pathway suggested by transcriptional profiling. *Circ Res* 2001; 104: 1899-1904.
44. Knauper V, Otin CL, Smith B, Knight G, Murphy G, Biochemical characterization of human collagenase-3. *J Biol Chem* 1996; 271(3): 1544-50.
45. Inada M, Wang Y, Byrne MH, Rahman MU, Miyaura C, Otin CL, Krane SM, Critical roles for collagenase-3 (MMP13) in development of growth plate cartilage and in endochondral ossification. *PNAS* 2004; 101(49): 17192-97.
46. Neohold LA, Killar L, Zhao W, Sung MLA, Warner L, Kulik J, Turner J, Wu W, Billingham C, Meijers T, Poole AR, Babij P, DeGennaro LJ, Postnatal expression in hyaline cartilage of constitutively active human collagenase-3 (MMP-13) induces osteoarthritis in mice. *J Clin Invest* 2001; 107(1): 35-4.

47. Kennedy AM, Inada M, Krane SM, Christle PT, Harding B, Otin CL, Sanchez LM, Pannett AAJ, Dearlove A, Hartley C, Byrne MH, Reed AAC, Nesbit MA, Whyte MP, Thakker RV, MMP13 mutation causes spondyloepimetaphyseal dysplasia, missouri type (SEMD_{MO}). *J Clin Invest* 2005; 115(10): 2832-42.
48. Sukhova GK, Schönbeck U, Rabkin E, Schoen FJ, Poole AR, Billingham RC, Libby P, Evidence for increased collagenolysis by interstitial collagenases-1 and -3 in vulnerable human atheromatous plaques. *Circ Res* 1999; 99: 2503-9.
49. Itoh T, Ikeda T, Gomit H, Nakao S, Suzuki T, Itohara S, Unaltered secretion of β -Amyloid precursor protein in gelatinase A (matrix metalloproteinase 2) deficient Mice. *J Biol Chem* 1997; 272(36): 22389-92.
50. Goodall S, Crowther M, Hemingway DM, Bell PR, Thompson MM, Ubiquitous elevation of matrix metalloproteinase-2 expression in the vasculature of patients with abdominal aneurysms. *Circ Res* 2001; 104: 304-9.
51. Spinale FG, Matrix Metalloproteinases: Regulation and dysregulation in the failing Heart. *Circ Res* 2002; 90: 520-30.
52. Matsumura SI, Iwanaga S, Mochizuki S, Okamoto H, Oganawa S, Okada Y, Targeted deletion or pharmacological inhibition of MMP-2 prevents cardiac rupture after myocardial infarction in mice. *J Clin Invest* 2005; 115(3): 599-09.
53. Longo GM, Xiong W, Greiner TC, Zhao Y, Fiotti N, Baxter T, Matrix metalloproteinases 2 and 9 work in concert to produce aortic aneurysms. *J Clin Invest* 2002; 110(5): 625-32.
54. Esparza J, Kruse M, Lee J, Michaud M, Madri JA, MMP-2 null mice exhibit an early onset and severe experimental autoimmune encephalomyelitis due to an increase in MMP-9 expression and activity. *The FASEB Journal* 2004; 18: 1682-91.
55. Visse R, Nagase H, Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases. *Circ Res* 2003; 92: 827-39.

56. Yu Q, Stamenkovic I, Cell surface- localized matrix metalloproteinase-9 proteolytically activates TGF- β and promotes tumor invasion and angiogenesis. *Genes Dev* 1999; 14: 163-76.
57. Patterson BC, Sang QXA, Angiostatin-converting enzyme activities of human matrilysin (MMP-7) and gelatinase B/Type IV collagenase (MMP-9).
58. Vu TH, Shipley M, Bergers G, Berger JE, Helms JA, Hanahan D, Shapiro SD, Senior RM, Werb Z, MMP-9/Gelatinase B is a key regulator of growth plate angiogenesis and apoptosis of hypertrophic chondrocytes. *Cell* 1998; 93: 411-22.
59. Heissig B, Hattori K, Dias S, Friedrich M, Ferris B, Hackett NR, Crystal RG, Besmer P, Lyden D, Moore MAS, Werb Z, Rafii S, Recruitment of stem and progenitor cells from the bone marrow niche requires MMP-9 mediated release of kit-ligand. *Cell* 2002; 100: 625-37.
60. Cataldo DD, Tournoy KG, Vermaelen K, Munaut C, Foidart JM, Louis R, Noel A, Pauwels RA, Matrix metalloproteinase-9 deficiency Impairs cellular infiltration and bronchial hyperresponsiveness during allergen-induced airway inflammation. *Am J Pathol* 2002; 161(2): 491-8.
61. Ducharme A, Frantz S, Aikawa M, Rabkin E, Lindsey M, Rohde LE, Schoen FJ, Kelly RA, Werb Z, Libby P, Lee RT, Targeted deletion of matrix metalloproteinase-9 attenuates left ventricular enlargement and collagen accumulation after experimental myocardial infarction. *J Clin Invest* 2000; 106: 55-62.
62. Zhang B, Ye S, Herrmann SM, Ericson P, Maat M, Evans A, Arveiler D, Luc G, Cambien F, Hamsten A, Watkins H, Henney AM, Functional Polymorphism in the regulatory region of gelatinase B gene in relation to severity of coronary atherosclerosis. *Circ Res* 1999; 99: 1788-94.
63. Cho A, Reidy MA, Matrix Metalloproteinase-9 Is Necessary for the Regulation of Smooth Muscle cell replication and migration after arterial Injury. *Circ Res* 2002; 91: 845-851.
64. Gough PJ, Gomez IG, Wille PT, Raines EW, Macrophage expression of active MMP-9 induces acute plaque disruption in apoE-deficient mice. *J Clin Invest* 2006; 116: 59-69.
65. Lutun A, Iutgens E, Manderveld A, Maris K, Collen D, Carmeliet P, Moons L, Loss of matrix metalloproteinase-9 or matrix metalloproteinase-12

- protects apolipoprotein E-deficient mice against atherosclerotic media destruction but differentially affects plaque growth. *Circ Res* 2004; 109: 1408-14.
66. Johnson JL, George SJ, Newby AC, Jacson CL, Divergent effects of matrix metalloproteinases 3, 7, 9, and 12 on atherosclerotic plaque stability in mouse brachiocephalic arteries. *PNAS* 2005; 102: 15575-80.
 67. Thompson RW, Holmes DR, Mertens RA, Liao S, Botney MD, Mecham RP, Welgus HG, Parks WC, Production and localization of 92-Kilodalton Gelatinase in Abdominal Aortic Aneurysms. *J Clin Invest* 1995; 96:318-26.
 68. Dubois B, Masure S, Hurtenbach U, Paemen L, Heremans H, Oord JVD, Sciot R, Meinhardt T, Hammerling G, Opdenaker G, Arnold B, Resistance of young gelatinase B-deficient mice to experimental autoimmune encephalomyelitis and necrotizin tail lesions. *J Clin Invest* 1999; 104: 1507-15.
 69. Nagase H, Woessner JF, Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem* 1999; 274(31): 21491-94.
 70. Lund LR, Romer J, Thomasset N, Solberg H, Pyke C, Bissell MJ, Dane K, Werb Z, Two distinct phases of apoptosis in mammary gland involution: proteinase-independent and- dependent pathways. *Development* 1996; 122: 181-93.
 71. Thomasset N, Lochter A, Sympson CJ, Lund LR, Williams DWR, Behrendtsen, Werb Z, Bissell MJ, Expression of autoactivated stromelysin-1 in mammary glands of transgenic mice leads to a reactive stroma during early development. *Am J Pathol* 1998; 153: 457-67.
 72. Sternlicht MD, Lochter A, Sympson CJ, Huey B, Rougier JP, Gray JW, Pinkel D, Bissell MJ, Werb Z, The stromal proteinase MMP3/ stromeysin-1 promotes mammary carcinogenesis. *Cell* 1999; 98: 137-46.
 73. Haro H, Crawford HC, Fingleton B, Shinomiya K, Spengler DM, Matrisian LM, Matrix metalloproteinase-7- dependent release of tumor necrosis factor- α in a model of herniated disc resorption. *J Clin Invest* 2000; 105: 143-150.
 74. Meurs JV, Lent PV, Holthuysen A, Lambrou D, Bayne E, Singer I, Berg WVD, Active matrix metalloproteinases are present in cartilage during

- immune complex-mediated arthritis: A Pivotal Role for Stromelysin-1 in cartilage destruction. *J Immunol* 1999; 163: 5633-39
75. Silence J, Lupu F, Collen D, Lijnen HR, persistence of Atherosclerotic Plaque but reduced aneurysm formation in mice with stromelysin-1 (MMP-3) gene inactivation. *Circ Res* 2001; 21: 1440-45.
 76. Li CKF, Pender SLF, Pickard KM, Chance V, Holloway JA, Huett A, Goncalves NS, Mudgett JS, Dougan G, Frankel G, Donald TTM, Impaired immunity to intestinal bacterial infection in stromelysin-1 (Matrix Metalloproteinase-3)- deficient mice. *J Immunol* 2004; 173: 5171-79.
 77. Krampert M, Bloch W, Sasaki T, Bugnon P, Rüllicke T, Wolf E, Aumailley M, Parcs WC, Wermer S, Activities of the matrix metalloproteinase stromelysin-2 (MMP-10) in matrix degradation and keratinocyte organization in wounded skin. *Mol Cell Biol* 2004; 15: 5242-54.
 78. Wilson CL, Ouellette, Andre J, Regulation of intestinal alfa-defensin activation by the metalloproteinase matrilysin in innate. *Science* 1999; 286: 543-7.
 79. Owen LAR, Hulboy DL, Wilson CL, Mudgett J, Matrisian LM, Coordinate Expression of matrix metalloproteinase family members in the uterus of normal, matrilysin-deficient, and stromelysin-1-deficient mice. *Endocrinology* 1997; 138: 4902-11.
 80. Wilson CL, Heppner KJ, Labosky PA, Hogan BLM, Matrisian LM, Intestinal tumorigenesis is suppressed in mice lacking the metalloproteinase matrilysin. *PNAS* 1997; 94: 1402-07.
 81. Zuo F, Kaminski N, Eugui E, Allard J, Yakhini Z, Dor AB, Lollini L, Morris D, Kim Y, Lustro BD, Sheppard D, Pardo A, Selman M, Heller RA, Gene expression analysis reveals matrilysin as a key regulator of pulmonary fibrosis in mice and humans. *PNAS* 2002; 99(9): 6292-97.
 82. Uria JA, Otin CL, Matrilysin-2, A new matrix metalloproteinase expressed in human tumors and showing the minimal domain organization required for secretion, Latency, and Activity. *Cancer Res.* 2000, 60, 4745-51.
 83. Ahokas K, Skoog T, Suomela S, Jeskanen L, Impola U, Isaka K, Kere US, Matrilysin-2 (Matrix Metalloproteinase-26) is upregulated in keratinocytes during wound repair and early skin carcinogenesis. *J Invest Dermatol* 2005; 124: 849-56.

84. Zhou Z, Apte SS, Soininen R, Cao R, Baaklini GY, RAuser RW, Wang J, Cao Y, Tryggvason K, Impaired endochondral ossification and angiogenesis in mice deficient in membrane-type matrix metalloproteinase I. PNAS 2000; 97(8): 4052-57.
85. Atkinson JJ, Holmbeck K, Yamada S, Hansen HB, Parks WC, Senior RM, membrane-Type 1 matrix metalloproteinase is required for normal alveolar development. Dev Dyn 2005; 232: 1079-90.
86. Abraham R, Schafer J, Rothe M, Bange J, Knyazev P, Ullrich A, Identification of MMP-15 as an anti-apoptotic factor in cancer cells. J Biol Chem 2005; 280(40): 34123-32.
87. Shofuda K, Yasumitsu H, Nishihashi A, Miki K, Miyazaki K, Expression of Three Membrane-type Matrix Metalloproteinases (MT-MMPs) in rat vascular smooth muscle cells and characterization of MT3-MMPs with and without transmembrane fomain. J Biol Chem 1997; 272(15): 9749-54.
88. Liano E, Pendas AM, Freije JP, Nakano A, Knauper V, Murphy G, Otin CL, Identification and characterization of human MT5-MMP, a new membrane-bound activator of progelatinase a overexpressed in brain tumors. Cancer Res. 1999; 59: 2570-576.
89. Kinoh HH, Kinoh H, Okada A, Komori K, Itoh Y, Chiba T, Kajita M, Yana I, Seiki M, Membrane-Type 5 matrix metalloproteinase is expressed in differentiated neurons and regulates axonal growth. Cell Growth Differ 2001; 12: 573-80.
90. Komori K, Nonaka T, Okada A, Kinoh H, Kinoh HH, Yoshida N, Yana I, Seiki M, Absence of mechanical allodynia and A β -fiber sprouting after sciatic nerve injury in mice lacking membrane-type 5 matrix metalloproteinase. FEBS 2004; 557: 125-8.
91. Valesco G, Cal S, Suarez M, Ferrando AA, Alvarez S, Nakano A, Arribas J, Otin CL, Human MT6-Metalloproteinase: Identification, Progelatinase A activation and expression in brain tumors. Cancer Res 2000; 60: 877-82
92. Pei D, Weiss SJ, Furin-dependent intracellular activation of the human stromelysin-3 zymogen. Nature 1995; 375 (6528): 244-7.
93. Murphy G, Segain JP, Sheat MO, Cockett M, Ioannou C, Lefebvre O, Chambon P, Basset P, The 28-kDa N-terminal Domain of Mouse

- Stromelysin-3 has the general properties of a weak metalloproteinase. *J Biol Chem* 1993; 268(21): 15435-41.
94. Schönbeck U, Mach F, Sukhova GK, Atkinson E, Levesque E, Herman M, Graber P, Basset P, Libby P, Expression of stromelysin-3 in atherosclerotic lesions: regulation via CD40-CD40 ligand signaling in vitro and in vivo. *JEM* 1999; 189: 843-53.
 95. Wu E, Mari BP, Wang F, Anderson IC, Sunday ME, Shipp MA, Stromelysin-3 suppresses tumor cell apoptosis in a murine model. *J Cell Biochem* 2001; 82: 549-55.
 96. Hautamaki, Dean R, Kobayashi, Dale K, Requirement for macrophage elastase for cigarette smoke-induced emphysema in mice. *Science* 1997; 277:5334.
 97. Shipley JM, Wesselschmidt, Kobayashi DK, Ley TJ, Shapiro SD, Metalloelastase is required for macrophage-mediated proteolysis and matrix invasion in mice. *Biochemistry* 1996; 93: 3942-46.
 98. Pendas AM, Knauper V, Puente XS, Liano E, Mattei MG, Apte S, Murphy G, Otin CL, Identification and characterization of a novel human matrix metalloproteinase with unique structural characteristics, chromosomal location, and tissue distribution. *J Biol Chem* 1997; 272(7): 4281-6.
 99. Stracke JO, Hutton M, Stewart M, Pendas AM, Smith B, Otin CL, Murphy G, Knauper V, Biochemical characterization of the catalytic domain of human matrix metalloproteinase 19. *J Biol Chem* 2000; 275(20): 14809-16.
 100. Sadowski T, Dietrich S, Koschinsky F, Sedlacek R, Matrix metalloproteinase 19 regulates insulin-like growth factor-mediated proliferation, Migration, and adhesion in human keratinocytes through proteolysis of insulin-like growth factor binding protein-3. *Mol Cell Biol* 2003; 14: 4569-80.
 101. Bartlett JD, Beniash E, Lee DH, Smith CE, Decreased mineral content in MMP-20 null mouse enamel is prominent during the maturation stage. *J Dent Res* 2004; 83(12): 909-13.
 102. Ahokas K, Lohi H, Elomaa O, Karjalainen MJ, Kere J, Kere US, Matrix metalloproteinase-21, the human orthologue for XMMP, is expressed during fetal development and in cancer. *Gene* 2002; 301: 31-41.

103. Marchenko GN, Marchenko ND, Strongin AY, The structure and regulation of the human and Mouse matrix metalloproteinase-21 gene and protein. *Biochemistry* 2003; 372: 503-15.
104. Yang M, Kurkiene M, Cloning and characterization of a Novel matrix metalloproteinase(MMP), CMMP, from chicken embryo fibroblasts: CMMP, Xenopus XMMP, and human MMP19 have a conserved unique in The catalytic domain.
105. Velasco G, Pendas AM, Fueyo A, Knauper V, Murphy G, Otin CL, Cloning and characterization of human MMP-23, a new matrix metalloproteinase predominantly expressed in reproductive tissues and lacking conserved domains in other family members. *J Biol Chem* 1999; 274(8): 4570-76.
106. Lohi J, Wilson CL, Roby JD, Parks WC, Epilysin, a novel human matrix metalloproteinase (MMP-28) expressed in testis and keratinocytes and in response to injury. *J Biol Chem* 2001; 276(13): 10134-44.
107. Hornebeck W, Bellon G, Emonard H, Fibronectin type II (FnII)-like modules regulate gelatinase A activity. *Pathol Biol* 2005; 53: 405-10.
108. Klein G, Vellenga E, Fraaije MW, Kamps WA, Bont ESJM, The possible role of matrix metalloproteinase (MMP)-2 and MMP-9 in cancer, e.g. acute leukemia. *Crit Rev Oncol Hematol* 2004; 50: 87-00.
109. Fridman R, Toth M, Chvyrkova I, Meroueh SO, Mobashery S, Cell surface association of matrix metalloproteinase-9 (gelatinase B). *Cancer Metastasis Rev* 2003; 22: 153-66.
110. Chakraborti S, Patel KD, Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and MMP-9 In pulmonary pathology. *Exp Lung Res* 2005; 31: 599-21.
111. Chakraborti S, Mandal M, Das S, Mandal A, Chakraborti T, Regulation of matrix metalloproteinases: An overview. *Mol Cell Biochem* 2003; 253: 269-85.
112. Coussens LM, Werb Z, Matrix metalloproteinases and the development of cancer. *Chem Biol* 1996; 3: 895-04.
113. Lafleur MA, Hollenberg MD, Atkinson SJ, Knauper V, Murphy G, Edwards DR, Aktivation of pro-(matrix metalloproteinase-2) (pro-MMP-2) by thrombin is membrane-type-MMP-dependent in human umbilical vein endothelial cells and generates a distinct 63 kDa active species. *J Biochem* 2001; 357: 107-15.

114. Souza AP, trevilatto PC, Scarel CRM, Brito JRB, Barros SP, Line SRP, analysis of the MMP-9 (C-1562T) and TIMP-2(G-418C) gene promoter polymorphisms in patients with chronic peridontitis. *J Clin Periodontol* 2005; 32: 207-11.
115. Price SJ, Greraves DR, Watkins H, Identification of novel, functional genetic variants in the human matrix metalloproteinase-2 Gene. *J Biol Chem* 2001; 279(10): 7549-58.
116. Hinterseher I, Berger H, Kuhlisch E, Bloomenthal A, Pilarsky Ch, Ockert D, Schellong S, Saeger HD, Krex D, Matrix metalloproteinase 2 polymorphisms in a Caucasian population with abdominal aortic aneurysm. *J Surg Res* 2006; 133: 121-28.
117. Miao X, Yu C, tan W, Xiong P, Liang G, Lu W, Lin D, A Functional Polymorphism in the matrix metalloproteinase-2 Gene Promoter (-1306C/T) Is Associated with risk of development but not metastasis of gastric cardia adenocarcinoma. *Cancer Res* 2003; 63: 3987-90.
118. Lin SC, Lo SS, Liu CJ, Chung MY, Huang JW, Chang KW, Functional genotype in matrix metalloproteinases-2 promoter is a risk factor for oral carcinogenesis. *J Oral Pathol Med* 2004; 33: 405-9.
119. Lamblin N, bauters C, hermant X, Lablanche JM, Helbecque N, Amouyel P, Polymorphisms in the promoter regions of MMP-2, MMP-3, MMP-9 and MMP-12 genes as determinants of aneurysmal coronary artery disease. *JACC* 2002; 40(1): 43-8.
120. Nakashima K, Hirota T, Obara K, Shimizu M, Doi S, Fujita K, Shirakawa T, Enomoto T, Yoshihara S, Ebisawa M, Matsumoto K, Saito H, Suzuki Y, Nakamra Y, Tamari M, A functional polymorphism in MMP-9 is associated with childhood atopic asthma. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 344: 300-7.
121. Hirakawa S, Lange EM, Colicigno CJ, Freedman BI, Rich SS, Bowden DW, Evaluation of genetic variation and association in the matrix metalloproteinase 9 (MMP9) Gene in ESRD patients. *Am J Kidney Dis* 2003; 42: 133-42.
122. Zhang B, henney A, Ericsson P, Hamsten A, Watkins H, Ye S, Genetic variation at the matrix metalloproteinase-9 locus on chromosome 20q12.2-13.1. *Hum genet* 1999; 105: 418-23.

123. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF, A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988; 16: 12-15.
124. Grieu F, Li WQ, Lacopetta B, genetic polymorphisms in the MMP-2 and MMP-9 genes and breast cancer phenotype. *Breast Cancer Res Treat* 2004; 88: 197-04.
125. Vasku A, Goldbergova M, Izakovicova H, Siskova L, Ladislav G, Beranek M, Tschoplova S, Znojil V, Vacha J, A haplotype consisted of four MMP-2 promoter polymorphisms (-1575G/A, -1306C/T, -790T/G and -735 C/T) is associated with coronary triple-vessel disease. *Matrix Biol* 2004; 22: 585-91.
126. Kuitinen O, Soini Y, Hujanen TT, Diverse role of MMP-2 and MMP-9 in the clinicopathological behavior of Hodgkin's lymphoma. *Eur J Haematol* 2002; 69: 205-12.
127. Charoenrat PO, Khantapura P, the role of genetic polymorphisms in the promoters of the Matrix Metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of Metalloproteinase-2 genes in head and neck cancer. *Oral Oncol* 2006; 42: 257-67.
128. Chunyuan Y, Zhou Y, Miao X, Xiong P, Tan W, Lin D, Functional haplotypes in the promotor of Matrix Metalloproteinase-2 predict risk of the occurrence and metastasis of esophageal cancer. *Cancer Res* 2004; 64: 7622-28.
129. Holla LI, Vaskü A, Stejskalova A, Znojil V, Functional polymorphism in the gelatinase B gene and astma. *Allergy* 2000; 55: 899-00.
130. Matsumura S, Oue N, Nakayama H, Kitadai Y, Yoshida K, Yamaguchi Y, Imai K, Nakachi K, Matsusaki K, Chayama K, Yasui W, A single nucleotide polymorphism in the MMP-9 promotor affects tumor progression and invasive phenotype of gastric cancer. *J. Cancer Res Clin Oncol* 2005; 131: 19-5.
131. Morgan AR, Zhang B, Tapper W, Collins A, Ye S, Haplotypic analysis of the MMP-9 gene in relation to coronary artery disease. *J Mol Med.* (2003); 81: 321-6.
132. Wang Y, Fang S, Wei L, Wang R, Jin X, Wen D, Li Y, Guo W, Wang N, Zhang J, No association between the C-1562T polymorphism in the

- promoter of matrix metalloproteinase-9 gene and non-small cell lung carcinoma. *Lung Cancer* 2005; 49: 155-61.
133. Montaner J, Cadenas IF, Molina CA, Monasterio J, Arenillas JF, Ribo M, Quintana M, Chacon P, Andreu AL, Sabin JA, Safety profile of tissue plasminogen activator treatment among stroke patients carrying a common polymorphism (C-1562T) in the promoter region of the matrix metalloproteinase-9 Gene. *Stroke* 2003; 28:51-5.
 134. Awakura Y, Ito N, Nakamura E, Takahashi T, Kotani H, Mikami Y, Manabe T, kamoto T, Habuchi T, Ogawa O, Matrix metalloproteinase-9 polymorphisms and renal cell carcinoma in a Japanese population. *Cancer Lett* 2006; 1-5.
 135. Okamoto K, Mimura K, Murawaki Y, Yuasa I, Association of functional gene polymorphisms of matrix metalloproteinase (MMP)-1, MMP-3 and MMP-9 with the progression of chronic liver disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20: 1102-08.
 136. Jones GT, Phillips VL, Haris EL, Rossaak JI, Rij AM, Functional matrix metalloproteinase-9 polymorphism (C-1562T) associated with abdominal aortic aneurysm. *J Vasc Surg* 2003; 38: 1363-7.
 137. Wagner S, Kluge B, Koziol JA, Grau AJ, Ginsbach CG, MMP-9 polymorphisms are not associated with spontaneous cervical artery dissection. *Stroke* 2004; 35: 62-4.
 138. Blankenberg S, Rupprecht HJ, Poirier O, Bickel C, Smieja M, Hafner G, meyer J, Cambien F, Tret L, Plasma concentrations and genetic variation of matrix metalloproteinase-9 and prognosis of Patients With Cardiovascular Disease. *Circulation* 2003; 107: 1579-5.
 139. Pollanen PJ, Lehtimaki T, Mikkelsen J, Ilveskoski E, Kunnas T, Perola M, Penttila A, Mattila KM, Nikkari ST, Syrjakoski K, Karhunen PJ, Matrix metalloproteinase 3 and 9 gene promoter polymorphisms: joint action of two loci as a risk factor for coronary artery complicated plaques. *Atherosclerosis* 2005; 180: 73-8.
 140. Ferrand PE, Parry S, Sammel M, Macones GA, Kuivaniemi H, Romero R, Strauss JF, A polymorphism in the matrix metalloproteinase-9 promoter is associated with increased risk of preterm premature rupture of membranes in African Americans. *Mol Hum Reprod* 2002; (8): 494-1.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AF4	İnterleukin Growth Hormone Homolog
ALL	Akut Lenfositler Lösemi
APMA	Aminofenil Merkurik Asetat
ATM	Ataxia Telangiectasia Mutated
BCL	B-cell lymphoma
BRCA2	Breast Cancer 2
CD	Cluster Determinant
Del	Delesyon
EBV	Ebstein Barr Virüs
EDTA	Ethylenediaminetetraasetik Asit
EtBr	Ethidium Bromide
v-ets	Erithroblastozis virus E26 onkogen homologu
FAB	French American British Classification (Fransız, Amerikan, İngiliz sınıflaması)
GPI	Glikozilfosfatidilinozitol
GSSG	Okside glutasyon
HH	Hodgkin Lenfoma
HHV	Human Herpesvirus
HLA	Major histocompatibility complex
HNSCC	Baş ve boyun squamoz hücre karsinoması
Hpx	Hemopeksin Benzeri Domain
HRX	Myeloid/lymphoid or mixed Lineage leukemia
HOCI	Hipoklorik asit
HTLV1	İnsan T Hücre Lösemi-Lenfoma Virus I
Ig	İmmunoglobulin
IL	İnterlökin

Kb	Kilo baz
Kd	Kilo dalton
KML	Kronik Myelositer Lösemi
LDH	Laktat dehidrogenaz
LEU	Lösin dehidrogenaz
MDM	Murine Double Minute
MDR	Multidrug Resistans
MM	Multipl Miyoloma
MgCl₂	Magnezyum Klorür
MMP	Matrix Metalloproteinaz Protrein
MT-MMP	Membran Tipi Matrix Metalloproteinaz
Na₂EDTA	DiSodyum EDTA
NEM	N-Etilmalemid
NHL	Non Hodgkin Lenfoma
NK	Natural Killer (Doğal Öldürücü)
N-RAS	Neuroblastoma RAS viral (v-ras) onkogen homologu
PACE	Paired basic amino acid residue cleaving enzyme
PVD	Periferik vaskuler hastalık
PRAD	Glycoprotein fusion protein
PPROM	Preterm Premature Rupture Of Membranes
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polimerase Chain Reaction)
RB	Retinoblastoma
RDX	Radixin
RDG	Arjinin glisin aspartik asit
RE	Restriksiyon Endonukleaz
RS	Reed-Sterberg
SDS	Sodyum dodezi sulfat
SVCAM	Soluble vascular cell adhesion molecule
TBE	Base Borik Asit EDTA

TdT	Terminal deoxynucleotidyltransferase
TE	Trisma Base EDTA
TGF	Transforming Growth Factor
TK	Timidin kinaz
TNF	Tümör Nekrozis faktör
TIMP	Tissue inhibitor of Metalloproteinase (Metalloproteinazların doku inhibitörleri)
WHO	World Health Organization
β₂M	Beta-2 mikroglobulin

ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ

Şekiller

	Sayfa No
Şekil 1 (Hematolojik kök hücre gelişimi).....	10
Şekil 2 (MMP proteininin bölgeleri).....	39
Şekil 3 (Tam uzunlukta pro MMP'nin üç boyutlu yapısı).....	39
Şekil 4 (MMP'lerin sistein switch mekanizması ile aktivasyonu).....	44
Şekil 5 (Pro MMP-9'un aktivasyon kaskadı).....	46
Şekil 6 (MMP-2 geni promoter bölgesi polimorfizmleri ve çoğalan-1306 C/T bölgesinin baz dizisi).....	49
Şekil 7 (MMP-9 promoter bölgesinde bulunan polimorfizimler ve çalışılan bölgenin baz dizisi).....	50

Resimler

Resim 1 (MMP-2 polimorfizmine ait genotiplerin elektroforez sonrası Görüntüsü).....	62
Resim 2 (MMP-9 polimorfizmine ait genotiplerin elektroforez sonu Görüntüsü).....	66

TABLOLAR DİZİNİ

Tablolar	Sayfa No
Tablo 1 (ALL FAB Sınıflaması)	12
Tablo2 (Rai ve Modifiye Rai evreleme sistemi)	18
Tablo 3 (KLL Binet evreleme sistemi)	19
Tablo 4 (HH patolojik sınıflaması)	21
Tablo 5 (ANN ARBOR evreleme sınıflaması)	21
Tablo 6 (Prognoz Skorlaması)	23
Tablo 7 (MM Tanı Kriterleri)	24
Tablo 8 (Durie-Salmon evreleme sistemi)	25
Tablo 9 (NHL'da kullanılan Working Formulation Sınıflaması)	28
Tablo 10 (Kontrol ve Grup ayrımı yapılmaksızın hasta gruplarında (GAYHGD) MMP-2 -1306 polimorfizmi genotipi dağılımı)	63
Tablo 11 (Hasta gruplarında MMP-2-1306 polimorfizmi genotipi Dağılımı)	64
Tablo 12 (Kontrol ve Hasta gruplarında MMP-2 -1306 C/T polimorfizmine ait allel frekansı dağılımı)	65
Tablo 13 (Kontrol ve Grup ayrımı yapılmaksızın hasta gruplarında (GAYHGD) (GAYHGD) MMP-9 -1562 polimorfizmi genotipi dağılımı)	67

Tablo 14 (Hasta gruplarında MMP-9 -1562 polimorfizmi genotipi dağılımı)	68
Tablo 15 (Hodgkin–Kontrol gruplarının MMP-9 -1562 C/T genotip dağılımı)	69
Tablo 16 (Kontrol ve hasta gruplarında MMP-9 -1562 C/T polimorfizmine ait allel frekanslarının dağılımı)	70
Tablo 17 (MMP-2 -1306C/T polimorfizmi ile ilgili bazı çalışmaların sonuçları)	73
Tablo 18 (MMP-9 -1562C/T polimorfizmi ile ilgili bazı çalışmaların sonuçları)	74
Tablo 19 (MMP-2 -1306C/T hakkında farklı popülasyonlardan sağlıklı bireylerden elde edilmiş değerler)	76
Tablo 20 (MMP-9 -1562C/T hakkında farklı popülasyonlardan sağlıklı bireylerden elde edilmiş değerler)	76

EK 1:

Amino Asitlerin Sembolleri

A	Ala	Alanin
B	Asx	Asparagin veya Aspartik asid
C	Cys	Sistein
D	Asp	Aspartik asit
E	Glu	Glutamik asid
F	Phe	Fenilalanin
G	Gly	Glisin
H	His	Histidin
I	Ile	Izolösin
K	Lys	Lizin
L	Leu	Lösin
M	Met	Metiyonin
N	Asn	Asparajin
P	Pro	Prolin
Q	Gln	Glutamin
R	Arg	Arginin
S	Ser	Serin
T	Thr	Treonin
V	Val	Valin
W	Trp	Triptofan
Y	Tyr	Tirozin
Z	Glx	Glutamin veya Glutamik asid