





**T.C.**  
**GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**KULAK BURUN BOĞAZ ANABİLİM DALI**

**NAZAL POLİPLİ KRONİK RİNOSİNÜZİTLERDE**  
**MMP-1, MMP-2, MMP-8 DÜZEYİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Dr. Ceyhun AKSAKAL**

**UZMANLIK TEZİ**

**TOKAT**

**2012**

**T.C.**  
**GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**KULAK BURUN BOĞAZ ANABİLİM DALI**

**NAZAL POLİPLİ KRONİK RİNOSİNÜZİTLERDE**  
**MMP-1, MMP-2, MMP-8 DÜZEYİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Dr. Ceyhun AKSAKAL**

**UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**

**Doç. Dr. Ahmet EYİBİLEN**

**TOKAT**

2012

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma süresince her türlü yardımları, uyarı ve yapıcı eleştirileri ile araştırmanın planlanmasında, yürütülmesinde ve değerlendirilmesinde büyük emeği geçen tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Ahmet EYİBİLEN' e , asistanlık eğitim boyunca bizlere emek veren ve yetişmemizi sağlayan değerli hocalarım Sayın Doç. Dr. İbrahim ALADAĞ, Yrd. Doç. Dr. Levent GÜRBÜZLER, Yrd. Doç. Dr. Sema KOÇ , Yrd. Doç. Dr. Harun SOYALIÇ' a, çalışmanın histoloji aşamasında yardımlarını gördüğüm Sayın Doç. Dr. Sevil Çaylı' ya, asistan arkadaşlarıma, beni bu günlere getiren sevgili anne ve babama ve sevgili eşim Betül' e teşekkür ederim.

## ÖZET

Nazal polipozis gelişiminin patogenezini tam olarak aydınlatılamamıştır. Fakat etyolojisi olabilecek bir çok faktör tanımlanmıştır.

Metalloproteinazlar doku remodelinginde önemli proteinler olup, ekstrasellüler matriks (ESM) elemanlarının hemen hemen tümünü degradasyona uğratırlar. Böylece doku remodelinginde aktif rol alırlar. Yapılan çalışmalarda kronik rinosinüzitlerin etyolojisinde rol oynadıkları görülmüştür. Matriks metalloproteinazlar yirmiye yakın farklı proteindir ve farklı ESM elemanlarını degrade ederler. MMP-1 ve MMP-8 kollajen I ağırlıklı olarak, MMP-2 ilaveten kollajen IV ü degrade eder. Kollajen IV bazal membran kollajeni, kollajen I ağırlıklı olarak stromal ESM elemanıdır.

Bu çalışmada MMP lerin nazal polipli kronik rinosinüzitteki etkisi araştırılmaya çalışılmıştır. Çalışmaya 35 hasta alınmıştır. (Grup 1; nazal polipozisli 25 hasta , Grup 2; Herhangi bir sistemik hastalığı bulunmayan ve orta konkalardan alınan mukozanın incelendiği kontrol grubunu oluşturan 10 hasta.) Tüm hastalardan alınan örneklerde MMP-1, MMP-2 ve MMP-8 ekspresyonu belirlenmiştir. MMP-1, MMP-2 ve MMP-8 ekspresyonu nazal polipli grupta kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde artmış olarak bulunmuştur.

Sonuç olarak nazal poliplerdeki MMP-1, MMP-2 ve MMP-8 ekspresyonu kontrol grubundan farklılıklar göstermektedir. Bu bulgular nazal polipozisin patogenezinde matriks metalloproteinazların rollerinin olabileceğini destekler niteliktedir.

**Anahtar kelimeler:** Nazal polip, Kronik rinosinüzit, Matriks metalloproteinazlar

## ABSTRACT

The pathogenesis of nasal polyposis could not be elucidated fully. However, a lot of factors available etiology to be were identified.

Metalloproteinases are important proteins in tissue remodeling; they act degradation upon almost all of the extracellular matrix (ECM) elements. Thus they take an active role on tissue remodeling. It is seen in the carried out studies that; they play role in the etiology of the chronic rhionosinuitis.

Matrix metallproteinases are almost twenty different proteins and they degrade different ECM elements. They degrade predominantly MMP-1 and MMP-8 collagen I, MMP-2 additionally collagen IV. Collagen IV basement membrane collagen , collagen I is mainly stromal ECM component.

This study was to determine the effects of MMPs on nasal polyposis with chronic rhinosinuitis. 35 patients were included in the study. (Group 1; 25 patients nasal polyposis , Group 2; 10 patients without any systematic disease and including the control group from whom the mucosa taken from middle concha been examined.) In all samples taken from all of the patients; MMP-1, MMP-2 and MMP-8 expression was determined. MMP-1, MMP-2 and MMP-8 expression was significantly increased when compared to nasal polyposis group.

As a result; MMP-1, MMP-2 and MMP-8 expression in nasal polyposis are different from the control group. These findings suggest that there may be matrix metallproteinases' roles on nasal polyposis pathogenesis.

**Key Words:** Nasal polyposis, Chronic rhinosinuitis, Matrix metallproteinases

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
İNGİLİZCE ÖZET	v
İÇİNDEKİLER	vi
KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. TANIM VE EPİDEMİYOLOJİ	2
2.2. TANI	3
2.3. KRONİK RİNOSİNÜZİT PATOFİZYOLOJİSİ	6
2.4. PATOFİZYOLOJİK MEKANİZMALAR	8
2.4.1. Ostial tıkanma	8
2.4.2. Mukosilyer aktivite bozukluğu	8
2.4.3. Mukusun tekrar dolanımı	9
2.4.4. Osteit	9
2.5.5. Allerji	9
2.4.6. Fungal rinosinüzit	10
2.4.7. İmmunoloji	10
2.4.8. Bakteriyoloji	11
2.5. Nazal polipozis	12
2.5.1. Etyoloji	12
2.5.2. Kronik lokal enfeksiyonlar	12
2.5.3. Alerji	13
2.5.4. Astım ve aspirin intoleransı	13
2.5.5. Bernoulli fenomeni	14

2.5.6. Genetik faktörler	15
2.5.7. Patogenez	15
2.6. Matrix metalloproteinazlar	16
2.6.1. MMP-1 (Fibroblast kollajenaz)	22
2.6.2. MMP-2 (Jelatinaz A)	22
2.6.3. MMP 8 (Nötrofil kollajenaz)	23
2.7. Nazal polipli KRS' nin matriks metalloproteinazlar ile ilişkisi	24
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	27
3.1. Örneklerin elde edilmesi	27
3.2. İmmunohistokimya yöntemi	28
3.2.1. Malzeme ve solüsyonların hazırlanması	28
3.2.2. İmmunohistokimya yönteminin uygulanması	28
4. BULGULAR	30
5. TARTIŞMA	39
6. SONUÇ	44
7. KAYNAKLAR	45



## KISALTMALAR

NP: Nazal polip

MMP: Matriks metalloproteinaz

KRS: Kronik rinosinüzit

VAS: Visual analog scala

MR: Manyetik rezonans

BT: Bilgisayarlı tomografi

Th-1: T helper 1 hücreler

Th-2: Thelper 2 hücreler

IL: Interlökin

IFN  $\gamma$ : Interferon gama

TGF  $\beta$ : Transforme edici büyüme faktörü-beta

COX-1: Siklooksijenaz 1

COX-2: Siklooksijenaz 2

LTC 4: Lökotrien C4

RANTES: Regulated Upon Activation T Cell Expressed and Recreated

VEGF: Vasküler endotel büyüme faktörü

TNF alfa: Tümör nekrozis faktörü-alfa

VCAM-1: Damar hücresi adezyon molekülü

ESM: Ekstraselüler matriks

ECP: Eozinofilik katyonik protein

TGF-beta: Transforming growth faktör-beta

ASA: Asetilsalisilik asit

NSAİİ: Nonsteroid antiinflamatuvar

GM-CSF: Granülosit monosit stimüle edici faktör

## ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Kronik rinosinüzit ve nazal polip ilişkisi

Şekil 2.2. VAS skoru skalası

Şekil 2.3. MMP lerin yapısal özellikleri

Şekil 2.4. Matriks metalloproteinaz aktivitesinin düzenlenmesi ve TIMP ile ilişkisi.

Şekil 4.1. Kontrol dokusunda MMP-1 ekspresyonu

Şekil 4.2. Nazal polip dokusunda MMP-1 ekspresyonu

Şekil 4.3. Kontrol dokusunda MMP-2 ekspresyonu

Şekil 4.4. Nazal polip dokusunda MMP-2 ekspresyonu

Şekil 4.5. Stromada MMP-8 ekspresyonu

Şekil 4.6. Nazal polip dokusunda MMP-8 ekspresyonu

Şekil 4.7. H SCORE analizi sonucunda kontrol dokularıyla nazal polip dokularının karşılaştırmalı analizi

## **TABLolar**

Tablo 2.1: Erişkin rinosinüzit için tanı kriterleri

Tablo 2.2: Nazal polipte radyolojik Lund-Mackay evrelemesi

Tablo 2.3: Kronik rinosinüzitin potansiyel iç ve dış nedenleri

Tablo 2.4: İnsanlarda metalloproteinaz ailesinin üyeleri

Tablo 4.1: Hasta ve kontrol grupları

Tablo 4.2: Hastaların cinsiyet dağılımı

## GİRİŞ

Nazal polip (NP), nazal mukozanın skuamoz metaplazi, sekretuar hiperplazi, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, ekstraselüler matriks (ESM) birikimi ve fibrozisi ile karakterize kronik inflamasyona bağlı ödematoz kitlesidir. Nazal polip insidansı %2,7 civarındadır (1).

Nazal polipozis gelişimi ile ilgili olarak günümüze kadar ortaya atılan pek çok teori arasında, henüz kesinlik kazanan bir teori bulunmamakla birlikte NP oluşumunda bazı faktörlerin rol oynadığı düşünülmektedir. Bu faktörler, kronik lokal infeksiyonlar, alerji, astım, aspirin intoleransı, genetik faktörler, mukozal temas, Bernoulli fenomeni ve nazal mastositozdur (1,2).

Nazal Polipozis te mukozanın bazı hücrelerce istilası ile salınan mediyatör ve sitokinlere bağlı kronik bir inflamatuvar yanıt oluşmaktadır. İnflamatuvar hücreler arasında poliplerin %80'inde bulunan ve en belirgin olan hücreler eozinofillerdir. Eozinofillerin yanısıra, mast hücreleri, fibroblastlar da bu süreçte önemli rol oynamaktadırlar (2). Nazal polipli KRS etyopatogenezinde pek çok sitokin, araşidonik asit metabolitleri, büyüme faktörleri, adezyon molekülleri ve kemokinlerin rol oynadığı da bildirilmiştir (3) .

Matriks metalloproteinazların (MMP) tümü çok geniş yayılım gösterir. ESM proteinlerinin yıkımından sorumlu olan bir grup çinko bağımlı endopeptidlerden oluşan MMP'lerin tümü normal hücrelerde ve patolojik dokularda artmış olarak görülür (4) . Matriks metalloproteinazların birçok alt tipi vardır. Matriks metalloproteinazların alt tiplerinden biri olan MMP-1, MMP-2 ve MMP-8 in ekspresyonunun üst solunum yolu enflamatuvar hastalıklarında artmış olduğu görülmüştür (5,6).

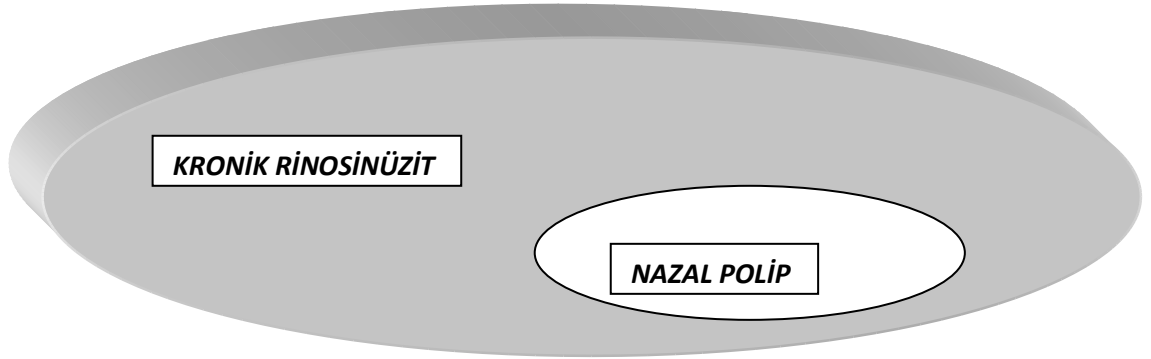
Bu çalışmada nazal polipli kronik rinosinüzitin patogenezinde rolü olduğu düşünülen MMP-1, MMP-2 ve MMP-8 in düzeyleri nazal polip dokularında immunohistokimyasal yöntemle araştırılmıştır.

## GENEL BİLGİLER

### 2.1. Tanım ve epidemiyoloji

Kronik rinosinüzit (KRS), nazal ve paranasal sinüs mukozalarının üç aydan daha uzun süren enflamatuvar hastalığıdır. Enflamasyon mukozal kalınlaşmadan yaygın polipozise kadar değişik formlarda görülebilir. Paranasal ve nazal mukoza enflamasyonu sıklıkla birliktelik gösterdiği için sinüzit tanımının yerini rinosinüzit tanımı almıştır (7).

Polipli ve polipsiz KRS ise genellikle tek bir hastalık olarak ele alınır. Çünkü bu iki durumu birbirinden ayırmak neredeyse imkansızdır. Bundan dolayı NP' li KRS' nin bir alt grubu olarak kabul edilir (Şekil 2.1) (8) .



Şekil 2.1. Kronik rinosinüzit ve nazal polip ilişkisi

Kronik rinosinüzit ülkemizde verilen poliklinik hizmetlerinde önemli bir yer tutmasına rağmen tam insidansını gösteren sağlıklı istatistikler yoktur. Ancak KRS Amerika Birleşik Devletlerinde yaklaşık 30 milyon kişiyi etkilemekte ve hayat kalitesini diyabet ve kalp hastalıklarından daha fazla bozmaktadır (9,10) .

Johanson ve ark. (11) nazal polipli KRS prevalansını toplumda %2,7 olarak rapor etmişlerdir. Yine aynı çalışmada NP' nin eşlik ettiği KRS nazal endoskopi ile araştırılmış ve erkeklerde %1 yaşlılarda %5 ve astımlılarda daha sık görülmüştür .

Genel olarak nazal polipli KRS tüm ırklarda ortaya çıkar. Kırk iki yaş ortalama olarak ortaya çıkma yaşıdır. Nazal polibin ortaya çıkması 20 yaşından önce pek görülmez ve erkeklerde ortaya çıkma yaşı daha erkendir (3).

## 2.2 Tanı

Rinosinüzit tanısında öncelikle subjektif değerlendirme yapılır. Burun tıkanıklığı, konjesyon, nefes alma güçlüğü burun akıntısı veya postnazal akıntı, yüz ağrısı ve yüzde basınç hissi, baş ağrısı ve koku duyusunun azalması veya kaybolması rinosinüzitte görülen lokal semptomlardır. Bu lokal semptomlara eşlik eden boğaz ağrısı, disfoni ve öksürük gibi uzak semptomlar da görülebilir(3).

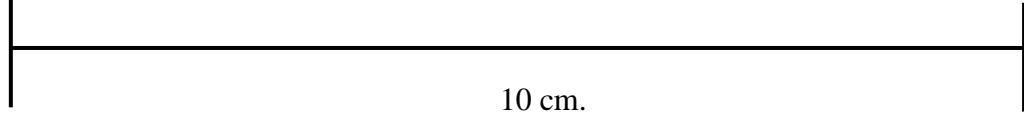
Akut ve kronik rinosinüzitte olduğu gibi nazal polipli KRS' de de semptomlar temel olarak aynı olmasına rağmen semptomların paterni ve sıklığı farklı olabilir. Nazal polipler burun ve paranasal kavitede basınç ve dolgunluk hissine neden olabilen nazal konjesyon yapabilirler. Nazal polibin eşlik ettiği KRS' de koku alma güçlüğü şikayetleri nazal polipsiz KRS' lere göre daha yüksektir (12).

Semptomların subjektif değerlendirilmesinde, semptomların şiddet veya derecesi ve süresi dikkate alınmalıdır. Geçtiğimiz yıllarda yalnızca semptomlar değil bunların yaşam kalitesi üzerine olan etkisi de çalışılmıştır.

Semptomların değerlendirilmesinde şu şekilde yapılabilir:

-Şiddetli, orta, hafif

-Ölçülebilir, kesintisiz bir çizgi üzerinde VAS (Vizüel analog skor) skoru olarak kaydedilebilir(0-10) (3) . ( Şekil 2.2)



10 cm.

Rahatsız edici değil

Düşünülebilen en rahatsız edici

### Şekil 2.2. VAS skoru skalası

Rinosinüzit için semptom ve süreye dayalı tanı koymak çok gerçekçi değildir. Bunun için yanlış negatiflik oranlarını azaltmak için tablo 2.1 teki algoritma önerilmiştir(13).

Tablo 2.1. Erişkin rinosinüzit için tanı kriterleri

1. Hastalığın süresi ve fizik muayene bulguları 12 haftadan fazla devam ediyor.
2. Devam eden kronik rinosinüzit semptomlarıyla ilişkili olarak aşağıdaki enflamasyon bulgularından biri de görülmeli ve belirtilmelidir. a. Nazal pasaj kaynaklı rengi bozuk akıntı, nazal polipler veya anterior rinoskopi ya da endoskopi ile saptanmış polipoid şişlikler b. Orta meatusta ya da etmoid bullada ödem yada eritemin nazal endoskopiyle görülmesi. c. Yaygın ya da lokalize eritem, ödem ya da granülasyon dokusu, orta meatus yada etmoid bullada tutulum yoksa tanıyı doğrulamak için radyolojik görüntüleme gereklidir. d. Görüntüleme yöntemleriyle tanıyı doğrulama: i. BT görüntüleme: Diffüz ya da izole mukozal kalınlaşma, kemik değişiklikleri ve hava sıvı seviyesi görülmesi. ii. Waters grafisinde bir yada birden fazla sinüs mukozasında 5 mm den fazla kalınlaşma ya da tam opaklaşma. iii. MR görüntüleme rutinde BT ye alternatif olarak önerilmemektedir. Çünkü duyarlılığı yüksek iken özgüllüğü düşüktür.

Özellikle KRS tanısında Bilgisayarlı tomografi (BT) ve endoskopik muayene önemli bir yer tutmaktadır (14). Bilgisayarlı Tomografi patolojinin yayılımı ve

anatomi gösterbilmesi nedeniyle seçilmesi uygun olan görüntüleme yöntemidir. Yine de tanıda ilk basamak olarak düşünülmemelidir. Bilgisayarlı tomografi görüntülemesi üzerine kurulu 0-4 arası skorlamayı kullanan, farklı karmaşıklıkta bir çok sınıflandırma sistemi vardır.

Lund Mackay sisteminde, her sinüs sisteminin veya osteomeatal kompleksin açık, kısmi kapalı olmasına göre 0-2 arası puanlar verilir ve her bir taraf için 12 puan üzerinden puanlama yapılır(Tablo 2.2)(15).

Tablo 2.2. Nazal Polipe Radyolojik Lund-Mackay Evrelemesi.

Sinüs	Sol	Sağ
Maksiller (0,1,2)		
Anterior etmoid (0,1,2)		
Posterior etmoid (0,1,2)		
Sfenoid (0,1,2)		
Frontal (0,1,2)		
Ostiomeatal kompleks (0 veya 2)*		
Toplam puan		

0-Normal; 1-Parsiyel opasifikasyon; 2-Total opasifikasyon.

\*0-Tıkalı değil; 2-Tıkalı.

Bunlara ilaveten endoskopi ile sinüs kültürleri alınabilir. Alerjik hastalarda alerji testleri yapılabilir. Nazal sitoloji, olfaktör değerlendirme testleri de yine tanıda kullanılabilir. Ayrıca sinüzitle ilgili olabilecek sistemik hastalıkların tespiti içinde bazı laboratuvar testleri yapılabilir ( Genetik testler, eozinofil sayısının ölçümü gibi.) (14).



### **2.3 Kronik rinosinüzit patofizyolojisi**

Rinosinüzit ile ilgili deneysel hayvan çalışmalarına ek olarak, insanlarda ostium açıklığı, gaz değişimi, mukozal kan akımı konusunda yapılan fizyolojik testler rinosinüzite neden olan değişik faktörlerin önemini açığa çıkarmıştır. Son zamanlarda immun reaksiyonlar hakkında artan bilgiler bu faktörlerin KRS başlangıcı ve devamında önemli olabileceğini ortaya koymuştur. Pek çok sebep KRS oluşumunda ve gelişiminde değişik oranlarda pay sahibidir (Tablo 2.3) (12).

**Tablo 2.3.** Kronik rinosinüzitin potansiyel iç ve dış nedenleri

<b>Dış sebepler</b>	<b>İç sebepler</b>
1. Enfeksiyöz ( Viral, bakteriyel, fungal, parazitik)	1. Genetik a. Mukosilyer anormallik -Silyer dismotilite -Kistik fibrozis b. Yapısal c. İmmün yetmezlik
2. Enfeksiyöz olmayan enflamasyon a. Alerjik/Ig aracılı b. Ig aracılı olmayan duyarlılıklar c. Farmakolojik d. İritanlar	2. Edinilmiş a. Nazal polip ve astımla ilişkili aspirin duyarlılığı b. Otoimmün regülasyon bozukluğu c. Hormonal d. Yapısal i. Neoplazm ii. Osteoneogenezis ve hava atılımında tıkanma iii. Retansiyon kisti. e. Otoimmün i. Sarkoidozis ii. Wegener iii. Sistemik Lupus Eritematozus iv. Churg- Strauss sendromu f. İmmün yetmezlik
3. Normal ventilasyon ve mukosilyer drenajın bozulması a. Cerrahi b. Enfeksiyon c. Travma	

## **2.4 Patofizyolojik mekanizmalar**

### **2.4.1 Ostial tıkanma**

Sağlıklı bir sinüs fizyolojisinin devamı için normal akışkanlıktaki mukus sekresyonu, hacmi ve içeriği, normal mukosilyer akım, yeterli drenaja ve havalanmaya izin veren sinüs ostium açıklığı gereklidir. Bu fizyolojik basamaklardan herhangi birindeki eksiklik rinosinüzitle sonuçlanır. Bunlar içinde en büyük etken ostial tıkanmadır. Anatomik varyasyonların görüldüğü bireylerde artmış paranasal sinüs enfeksiyonlarının görülmesinin nedeni bu varyasyonlardır (16) .

Anterior etmoid ve maksiller sinüsler en çok etkilenen bölgelerdir. Frontal sinüzit nazofrontal duktusun tıkanması ile oluşurken sfenoid sinüzit ise sfenoetmoid resesteki ostiumların tıkanması sonucu gelişir(16).

Uzamış ostium tıkanması sonucunda iki tip sinüzit tanımlanmıştır. Birincisi ödemli polipoid mukoza, eozinofil , T ve B lenfosit infiltrasyonu ve eozinofil aktivasyonu sonucu epitelyum hasarıyla giden tiptir. İkincisi ise submukozal serömüköz bezlerin sınırlı hiperplazisi ile karakterize tiptir (16).

### **2.4.2 .Mukosilyer aktivite bozukluğu**

Mukostaz, hipoksi, mikrobiyal ürünler ve kronik inflamasyon durumları mukosilyer fonksiyonda azalmaya neden olur. Silyer kayıp, mukusun viskoelastik özelliğindeki değişimler ve epitelyum hasarı mukosilyer temizlemeyi azaltan faktörlerdir. Sinüs cerrahisi ile yeterli havalanma sağlanan hastalarda mukosilyer fonksiyon 1-6 ay içinde giderek iyileşir (17) .

### **2.4.3 Mukusun tekrar dolanımı**

Kronikleşmeye katkıda bulunan faktörlerden bir tanesi de mukusun tekrar dolanımıdır. Aksesuar ostiumu bulunan hastalardan bazılarında maksiller sinüslerde mukusun tekrar dolanımı tanımlanmıştır. Sekresyonlar doğal ostiumdan orta meatusa boşalır. Sekresyonların bir kısmı ise lateral nazal duvarda ostiomeatal üniten inferiorunda yerleşmiş olan aksesuar ostiumdan tekrar maksiller sinüse girer (18)

### **2.4.4. Osteit**

Bu durum, enfeksiyon ya da geçirilen cerrahilere bağlı olarak mukozal korumanın bozulması sonucu ortaya çıkar. Histolojik bulgu olarak sınırlı kemik döngüsünde artış, fibrozis ve enflamatuar hücrelerin bulunmasını içerir. Osteit durumu tedaviye direnç yaratır (18).

Tavşan çalışmalarında, sadece tutulan maksiller sinüse komşu kemiğin etkilenmediği, inflamasyonun tipik olarak Haversian kanalları ile yayılması sonucu primer infeksiyondan uzakta da kronik osteomyelit ile uyumlu kemik değişimlerinin ortaya çıktığı gösterilmiştir. Bu değişikliklerin, eğer hastalar üzerinde de doğrulanabilirse, KRS' nin göreceli olarak neden tedaviye dirençli olduğunu açıklayabilmesi mümkündür (3) .

### **2.4.5. Allerji**

Allerji ve KRS birlikteliği %25-50 arasında değişmektedir. Semptomatik ve cerrahi tedavi gerektiren olgularda allerji oranı %40-84 arasındadır. Ramadan ve ark.(19) KRS' li ve allerjik rinitli hastalarda BT puanlarının allerjik olmayan rinitli hastalardan anlamlı derecede yüksek olduğunu buldu . Allerjik rinitte sinüs mukozasında ortaya çıkan ödem, ostial tıkanma, nörojenik uyarı sonucunda ikincil bakteriyel enfeksiyona zemin hazırlanır. Kronik allerjen uyarımının devam etmesi

sonucunda ise polipoid mukoza değişiklikleri, vasküler geçirgenlik artışı, müköz sekresyon artışı gibi durumlar meydana gelir (3).

#### **2.4.6. Fungal rinosinüzit**

Mantar enfeksiyonlarının sinüzit patofizyolojisinde önemli bir yeri olduğu öne sürülmüştür. Özellikle invaziv mantar enfeksiyonlarının olduğu KRS' de bağışıklık sisteminin ileri derecede baskılandığı görülür. Ebbens ve ark. (21) da sağlıklı kontrol grubu ile KRS' li hastaları karşılaştırdıkları çalışmalarında KRS' li hastalarda mantar izolasyonun anlamlı derecede yüksek olduğunu tespit ettiler. Bununla birlikte burunda mantar bulunmasının direk olarak sinüzite neden olduğu söylenemez. Ancak birkaç çalışmada mantarlara karşı IgE yapısında olmayan inflamatuvar cevap gösterilmiştir (3). Ponikau ve ark. (20) sinüslerdeki müsinin eozinofiller için kemotaktik stimulan olabileceği ve aktif eozinofillerin de inflamatuvar mediatör olarak majör temel proteinlerin salınımına yol açan lokal mukozal hasara neden olabileceğini göstermiştir. Shin ve ark. (3) da KRS li hastaların sık görülen ve havayla taşınan mantarlara, özellikle *Alternaria*' ya karşı abartılı humoral ve Th-1 ve Th-2 hücre sel cevap verdiğini bulmuşlardır.

Çeşitli boyama ve kültür teknikleri ile, sinüziti olan hastaların sinüs kavitelerinde çok çeşitli mantarlar tanımlanmıştır. Bu hastalarda sinüs boşluklarından bakteri izolasyonunda olduğu gibi, mantarların varlığı, bu patojenlerin direkt olarak hastalığı ortaya çıkardığı ya da hastalığın oluşmasını kolaylaştırdığı anlamına gelmemektedir. Topikal veya sistemik antifungal kullanımının KRS hastalarına her zaman faydalı olduğu gösterilememiştir (21).

#### **2.4.7. İmmunoloji**

Kronik rinosinüzitli hastalarda yapılan histopatolojik incelemelerde eozinofilik infiltratın nötrofillerden fazla oluşu enfeksiyondan ziyade allerjik mekanizmaların ön planda olduğunu düşündürmüştür. Enfeksiyöz olduğu düşünülen

KRS' lerde IL-8 ve Interferon-gama (INF  $\gamma$ ) yüksek oranlarda bulunmuştur. Bununla birlikte NP' le birlikte sinüzitin birlikte görüldüğü durumlarda yüksek IL-5 ve ECP düzeyleri görülürken NP' nin eşlik etmediği KRS' lerde Th- 1 in indüklemesiyle yüksek düzeylere ulaşan INF  $\gamma$  ve düşük oranda ECP görülür (1). Nazal polipsiz KRS' de Th-1 polarizasyonu ve yüksek INF  $\gamma$  ve Transformik growth faktör (TGF-beta) düzeyleriyle ilişkiliyken, nazal polipli kronik rinosinüzit artmış IL-5 ve IgE konsantrasyonuyla Th-2 polarizasyonuna sahiptir (22).

Cheng ve ark. (23) yaptıkları bir çalışmada flow sitometri yöntemini kullanarak Th-1 ve Th-2 hücrelerinin sayı ve oranlarını NP'de araştırmışlardır. Bu çalışmada Th-1 lenfositler atopik ve atopik olmayan NP hastalarında karşılaştırılmıştır. Sonuçta atopik olan ve olmayan NP dokularında Th-1 hücre sayıları arasında anlamlı bir fark yokken Th-2 hücre sayıları atopik hastalarda atopik olmayan NP hastalarına göre anlamlı derecede artmış olarak bulunmuştur.

#### **2.4.8. Bakteriyoloji**

Akut rinosinüzit ile KRS karşılaştırıldığında bakteriyolojik etyoloji farklılık gösterir. Akut sinüzitlerde ağırlıklı olarak Streptococcus pneumonie, Moraxella catarrhalis, Haemophilis influenza görülürken, KRS' de bundan farklı olarak Staf. Aureus, koagülaz negatif staf. aureus, anaeroplara ve gram negatif bakteriler öne çıkar (24,26).

Sanclement ve ark. (24) 30 KRS' li hastanın 24 ünde bakteriyel biyofilmi tanımlamışlar ve KRS patogenezinde bakteriyel biyofilmin rolü olabileceğini bildirmişlerdir .

Sonuç olarak burunda bakterilerin varlığı kronik rinosinüziti başlatıp devamlılığını sağlayabilir.

## 2.5 Nazal polipozis

Yunanca kokenli bir kelime olan “polip” çok ayaklı anlamına gelmekte olup, “nazal polip”, nazal mukozanın skuamoz metaplazi, sekretuar hiperplazi, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, ESM birikimi ve fibrozisi ile karakterize, kronik inflamasyona bağlı ödematöz kitledir. Milattan önce 5000 yıllarına kadar uzanan tarihçesine rağmen, poliplerle ilgili ilk tanımlar Hipokrat’a aittir (1).

Johannson ve ark. (11) yapmış oldukları bir çalışmada, İsveç’te NP insidansının %2.7 olduğu ve NP’nin erkeklerde kadınlardan daha sık görüldüğü (erkek/kadın oranı: 2.2) tespit edilmiştir

Son yıllarda endoskopik muayenenin uygulanmaya başlanmasıyla birlikte NP insidansı daha da artmaya başlamıştır. Postmortem otopsi çalışmalarında, anterior rinoskopi ile NP prevalansı %2 olarak saptanmıştır. Endoskopik muayene ile bu oran %42’ye kadar yükselmiştir (11).

### 2.5.1 Etiyoloji

Nazal polip gelişimi ile ilgili olarak günümüze kadar ortaya atılan pek çok teori arasında, henüz tam anlamıyla kabul görmüş ve kesinlik kazanmış bir teori bulunmamaktadır. Nazal polipin etiyojisinde pek çok faktörün rol oynadığı düşünülmektedir. Nazal polip etiyojisinde rol oynadığına inanılan faktörler şunlardır.

### 2.5.2 Kronik lokal enfeksiyonlar

Nazal polipli hastalarda sıklıkla eşlik eden kronik bir sinuzit ya da rinit mevcuttur. Bu hastalardan elde edilen kültürlerde en sık izole edilen mikroorganizmalar Staphylococcus Aureus, streptokoklar ve Hemophilus Influenza’dır. Yapılan bir çalışmada, NP’li hastalardan alınan musin örneklerinin %60’ında S. Aureus izole edilmiştir. S. Aureus ekzotoksinleri, superantijen etkisi göstererek Ig E antikorlarını artırmaktadır. Oluşan Th-1 ve Th-2 lenfositlerin ürettiği sitokinler, nazal mukozada hasara yol açarak inflamasyonu şiddetlendirmektedir .

Son yıllarda, özellikle *Aspergillus Flavus* ve *Candida Albicans* mantarlarının NP'li hastalarda izole edilmeleriyle birlikte, allerjik fungal sinüzit ile NP arasında bir ilişki olduğuna dair görüşler artmaktadır (2,27).

### **2.5.3. Allerji**

Nazal polipli hastaların büyük bir çoğunluğunda allerjik rinit semptomları mevcuttur. Nazal polipli hastalarda yapılan çalışmalarda, allerji prevalansı %10 ile %64 arasında değişmektedir. Allerjisi olan hastalarda ise NP insidansı % 5'ten azdır. Nazal polipli hastaların nazal mukoza örneklerinde eozinofil ve nötrofil hakimiyeti vardır; ki bu da etiyolojisinde allerjinin yeri olabileceği görüşünü desteklemektedir ancak allerjik bireylerde NP gelişimi açısından normal popülasyona oranla artmış risk olup olmadığı tartışmalıdır. Yapılan son çalışmalarda, polipli hastaların deri testlerinin pozitif olma oranının normal kişilerden farklı olmadığı gösterilmiştir. Günümüzde, nazal mukozada artmış olan Ig E miktarının *S.aureus* enterotoksinin süperantijen gibi davranarak poliklonal Ig E yapımını başlatmasına neden olduğuna inanılmaktadır (1).

### **2.5.4 Astım ve aspirin intoleransı**

Nazal polipli bir hastada asetil salisilik asit (ASA) intoleransı, özellikle persistan ve tedaviye dirençli rinosinüzit ve genellikle buna eşlik eden ağır bronşiyal astma varlığı ile birliktedir. Buna, Samter Sendromu (Aspirin Triadı) denilmektedir. Asetilsalisilik asit intoleransı olan bronşiyal astma hastalarında NP prevalansı %60–70 oranında iken, ASA'e toleransı olan bronşiyal astma hastalarında prevalans %10'dan daha azdır. Aspirine duyarlı rinosinüzit, sıklıkla allerji ve yüksek lokal Ig E düzeyi ile birlikte olsa da, Ig E aracılı bir mekanizma gösterilememiştir. Atopi, aspirin intoleransının gelişmesi için bir risk faktörü gibi görülmemektedir (28). Bununla beraber, araşidonik asit metabolizmasındaki değişikliklerin, aspirine karşı hücrel yanıtın değişmesine yol açtığı düşünülmektedir. Burada prostoglandinler devreye girer. Siklooksijenaz , aspirin tarafından inhibe edildiğinde, araşidonik asit



metabolizması lipooksijenaz yoluna sapor ve sonuçta prostoglandinlerin miktarı azalırken lökotrienlerin sentezi artar(29). Lökotrienler (LT) bronkokonstriksiyon, mukus hipersekresyonu ve havayolu ödeminin en güçlü mediatörüdür. Ayrıca eozinofiller için güçlü kemoatraktanlar olup, havayolu eozinofil inflamasyonu oluşumunda önemli rolleri vardır(30). Prostoglandin E 2 lipooksijenaz inhibisyonu ile lökotrien üretimini azaltır, mast hücre degranülasyonunu önler ve eozinofil aktivasyonu ve kemotaksis üzerine inhibitör etkiye sahiptir. Koruyucu ve modüle edici PGE 2 düzeyinin azalması ve proinflamatuvar özellikli lökotrienlerin artmasıyla oluşan imbalans ASA intoleransın da temel kavram olarak görülmektedir(31). Tüm bunların bir sonucu olarak COX-1 ve COX-2 enzimlerini inhibe edebilen aspirin ve diğer steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçların alımı, bronşiyal astma ve rinit ataklarına neden olabilmektedir.

Çalışmalarda astım hastalarının %3 ile %20 sinde Nonsteroid antiinflamatuvar ilaç (NSAİİ) intoleransı görülmektedir(3). Astım ve NP' li KRS hastalarında aspirin duyarlılık prevalansı %30 ile %40 arasındadır (3).

Klinik olarak ASA intoleransı ve bronşiyal astması olan bir grup NP'li hastada yapılmış olan bir çalışmada, dokuda belirgin eozinofili, IL-5 ve eotaksin ekspresyonunun artması ve LTC4-LTE4 aşırı yapımının S. Aureus enterotoksinlerine karşı gelişen bir immün yanıtla bağlantılı olduğu ve lokal olarak multiklonal Ig E cevabını başlattığı bulunmuştur (4,31).

### **2.5.5 Bernoulli fenomeni**

Bernoulli Fenomeni, havanın dar bir bölgeden geçtikten sonra, bu bölgenin arkasındaki düşük basıncın, mukozayı o bölgeye doğru emerek çekmesi ve polip oluşumuna bu şekilde neden olması prensibine dayanmaktadır. Ancak, burnun her bölgesinde burun kesitlerinin farklı alana sahip olmaları ve hava akımını etkileyen değişik kuvvetlerin söz konusu olması nedeniyle, burun içi basıncın ve hava akımının hızının devamlı değişkenlik gösterdiğini ve Bernoulli Fenomeninin NP oluşumunda etkin olmadığını düşünen araştırmacılar da bulunmaktadır (1).

### 2.5.6 Genetik faktörler

Nazal polipli hastalarda %14 oranında aile öyküsü mevcut olup, human lökosit antijen A1 ve B8 doku antijenleri ile NP varlığı arasında ilişki olduğu gösterilmiştir. Fenotipi bilinmemekle birlikte, 7. kromozomda gen defekti olduğu bilinmektedir. Bu hastalarda G551D mutasyon sıklığı beklenenden yüksek olarak bulunmuştur. Tüm bu bulgular, genetik faktörlerin NP etiyolojisinde rolü olduğunu düşündürmekle beraber, bu konuda henüz tatmin edici sonuçlar alınamamıştır (25).

### 2.5.7 Patogenez

Etiyolojilerinde bir takım farklılıklar olmakla beraber, NP mukozanın bazı hücrelerce istilası ile birlikte salınan mediator ve sitokinlere bağlı olarak kronik bir inflamatuvar yanıtın gelişmesi sonucu oluşmaktadır. İnflamatuvar hücreler arasında en belirgin olanı, poliplerin %80'inde bulunan eozinofillerdir. Nazal poliplerde, eozinofillere aynı zamanda IL-5 ve GM-CSF gibi sitokinlerin artışı da eşlik etmektedir. Eozinofillerin infiltre ettiği NP dokusunda, nötralizan anti-IL-5 monoklonal antikorların eozinofillerde apoptozis ve dokudaki eozinofillerde azalmaya yol açmasından da anlaşılabilceği gibi, IL-5 burada anahtar rolü oynamaktadır. Eozinofillerin yanı sıra, mast hücreleri de bu süreçte önemli rol oynamaktadırlar. Transforme edici büyüme faktörü-beta potent bir fibrojen büyüme faktörüdür ve ESM yapımını uyarır ve fibroblastlar için de bir kemoatraktandır. Ancak, IL-5 sentezini inhibe etmektedir ve eozinofiller üzerinde hematopoetinlerin (IL-5, GM-CSF) yaşamı uzatıcı etkisini ortadan kaldırmaktadır. Nazal polipli hastalarda, IL-4'un uyarımı ile birlikte TGF- $\beta$  düzeyinde artış olmaktadır. Transforme edici büyüme faktörü- $\beta$  ise, fibroblastların proliferasyonuna ve yoğun stromal oluşuma öncülük etmektedir. Bu hastalarda tanımlanan inflamasyonun özgül olmayan belirleyicileri arasında ise IL-6, IL-8 ve IL-11 sayılabilmektedir (1).

Nazal polip epitel hücreleri çeşitli inflamatuvar sitokinler ve büyüme faktörleri üretmektedirler ki bu sitokin ve büyüme faktörleri; IL-8, GM-CSF, IL-6, IL-1 $\beta$ , Tümör nekrozis faktörü-alfa (TNF- $\alpha$ ), Vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) ve Regulated Upon Activation T Cell Expressed and Recreated (RANTES)'dir. Bu sitokinler, inflamasyon bölgesine periferik dolaşımdan eozinofil ve lenfositleri

toplayabilmekte, hücre aktivasyonunu sağlamakta ve hücrelerin yaşam sürelerini uzatmakta, dolayısıyla lokal inflamasyonun gelişimine katkı sağlamaktadırlar (32,33).

Nazal poliplerdeki eozinofiller, MBP, eozinofil peroksidaz ve sisteinil LT'ler gibi inflamatuvar mediatörlerin güçlü bir kaynağını oluşturmaktadırlar. Bu mediatörler, damar geçirgenliğini ve plazma eksüdasyonunu uyarıcı etkiyle inflamatuvar süreci başlatmaktadırlar. Ayrıca, eozinofil sayısının ve TNF- $\alpha$ , makrofaj inflamatuvar protein-1 $\alpha$ , TGF- $\beta$  1,2, ve 3, ve TGF- $\alpha$ , TGF- $\beta$  (esas olarak TGF- $\beta$ 1) ekspresyonunun NP'de normal nazal mukozadan daha yüksek olduğu bulunmuştur ve havayolu remodelinginde bu sitokinlerin rolleri olduğu varsayılmaktadır. TGF- $\beta$ , epitel hücreleri ve fibroblastlardaki değişime ve VEGF'un yapımına öncülük ederek, NP patogeneze katkı sağlamaktadır. Bundan başka, IL-4'e cevap olarak, TGF- $\beta$  geninin transkripsiyonu artmaktadır; ki bu da stromadaki proliferasyon ve NP oluşumundan Th-2 aracılı mekanizmanın sorumlu olduğunu düşündürmektedir. Nazal poliplerde eozinofillerin %30'u GM-CSF mRNA taşımaktadır ve GM-CSF eksprese eden hücrelerin sayısı, epidermal büyüme faktörü-2 (EGF2) ve IL-3 mRNA taşınması ile de uyumludur. İnterlökin-4, nazal mukoza damarlarında Damar hücresi adezyon molekülü (VCAM-1) ekspresyonunu arttırarak eozinofil akışının artışında önemli rol oynar (32).

## **2.6. Matrix metalloproteinazlar**

Matriks metalloproteinazlar hücre dışı doku ESM makromoleküllerinin büyük kısmını yıkabilen nötr, metale bağımlı endopeptidaz grubudur. Tüm MMP ler katalitik bölgelerinde Zn<sup>+2</sup> içerirler ve aktivitelerinin stabilizasyonu için Ca<sup>+2</sup> gerekir ( 34) .

Tüm MMP ler adlarına uygun biçimde ESM yıkımıyla ilintilidir. Ekstraselüler matriksi oluşturan yapılar; tip 4 kollajen, laminin, elastin gibi fibröz proteinler, proteoglikanlar ve glikozaminoglikanlardır. Bunlar aynı zamanda bazal membranın yapısını oluşturur. Bazal membran ise dokular arasında bariyer görevi üstlenen ve tüm dokularda bulunan bir yapıdır (35).

Bugüne kadar insanlarda farklı genler tarafından kodlanan ve farklı hücre tipleri tarafından salınımları yapılan 23 MMP ailesi üyesi tanımlanmıştır. Bu 23 MMP ailesi 6 subgruba ayrılmıştır. Bunlar kollajenazlar, jelatinazlar, stromelysinler, membran tip MMP ler (MT-MMPs), matrilisinler ve diğer MMP lerdir (Tablo 2.4) (4).

MMP ailesi 6 subgruba ayrılmıştır.

**Tablo 2.4.** İnsanlarda metalloproteinaz ailesinin üyeleri( 4)

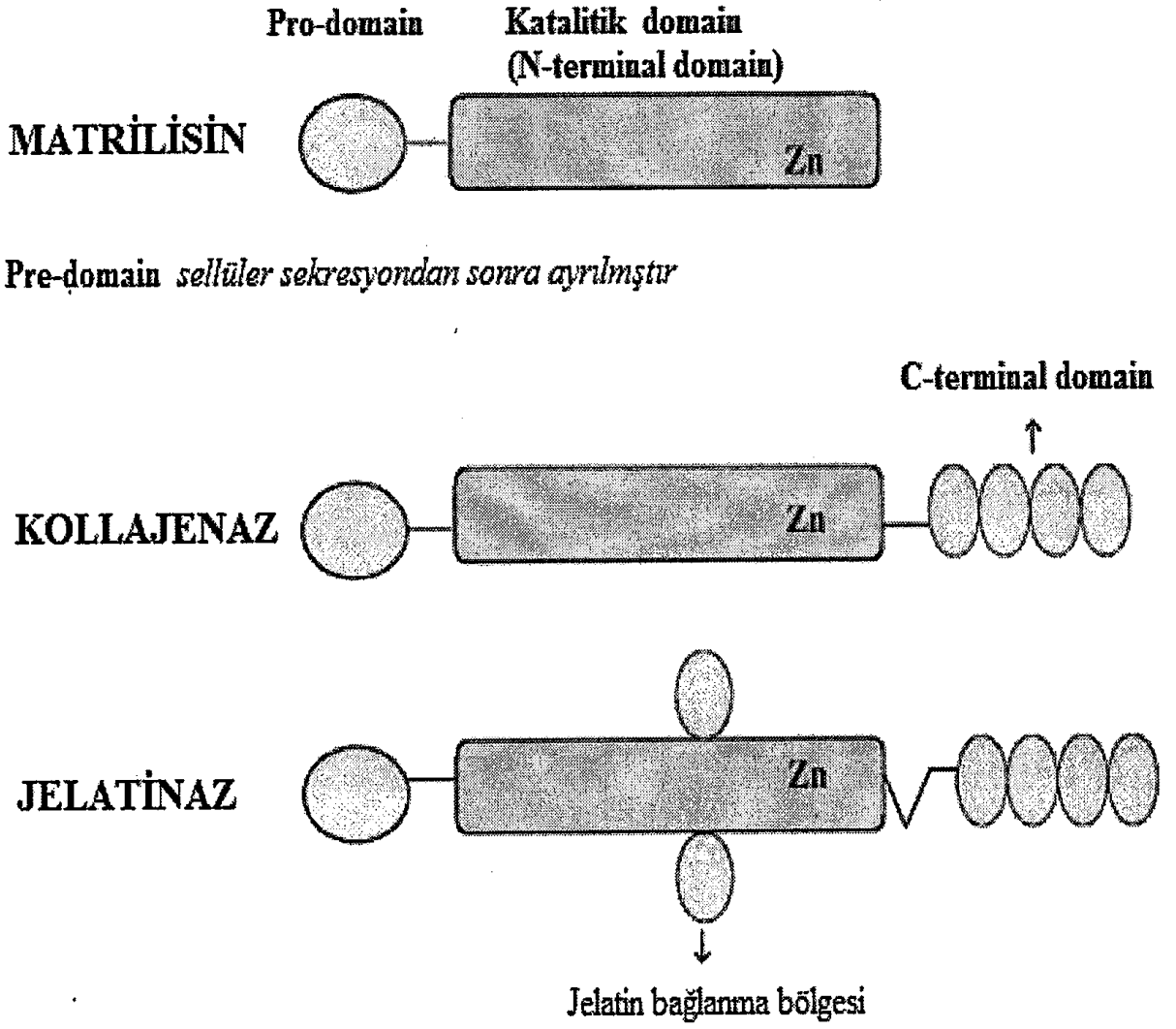
Grup	MMP	Etki ettiği substrat
<i>Kollajenazlar</i>		
İnterstisyel kollajenaz (Fibriler)	MMP-1	Kollajen tip I, II, III, VII, X
Nötrofil kollajenaz	MMP-8	Kollajen tip I, II, III
Kollajenaz 3	MMP-13	Kollajen tip I, II, III, IV, gelatin
<i>Gelatinazlar</i>		
Gelatinaz A	MMP-2	Gelatin, kollajen IV, V, VII, X, elastin, fibronektin
Gelatinaz B	MMP-9	Gelatin, kollajen tip IV,V, I, III fibronektin, elastin
<i>Stromelysinler</i>		
Stromelysin 1	MMP-3	Kollajen tip III, IV, V, IX, proteoglikanlar, fibronektin
Stromelysin 2	MMP-10	Gelatin, tip III, IV, V kollajen
Stromelysin 3	MMP-11	a1 proteinaz inhibitörleridir.
<i>MT-MMPs</i>		
MT1-MMP kollajenler, fibronektin	MMP-14	Pro MMP-2, pro MMP-13,
MT2-MMP	MMP-15	MT1-MMP ile benzerdir.
MT3-MMP	MMP-16	Pro MMP-2
MT4-MMP	MMP-17	Pro MMP-2

MT5-MMP	MMP-24	Pro MMP-2
<i>Diğerleri</i>		
Matrilysin	MMP-7	Gelatin, fibronektin, elastin, kollajen tip IV
Metalloelastaz	MMP-12	Elastin, fibronektin, kazein

MMP lerin başlıca karakteristik özellikleri şunlardır.

- %40- %80 homolog aminoasit içeriği ile yapısal homoloji.
- Enzimin katalitik bölgesindeki Zn<sup>2</sup> varlığı.
- Proteaz aktivitesi için Ca<sup>2</sup> varlığı
- Latent zimojenler biçiminde (Pro MMP) şeklinde olan inaktif formlarda sentez ve salınım
- Fizyolojik pH değerlerinde ESM komponentlerini yıkabilme kabiliyeti.  
Tüm MMP ler matriksin en az bir komponentini yıkar. Substrat spesifitesi yalnızca bir ESM proteini ile sınırlı olmasa da her bir MMP spesifik bir substratı ayrıcalıklı olarak yıkar.
- Enzim aktivitelerinin bir çok basamakta gerçekleşiyor olması(36).

Tüm MMP ler yapısal olarak 3 bölge içerirler (Şekil 2.3). Bir prodomain, bir prodomain ve bir katalitik domain. Predomain, intraselüler olarak sentezlenen enzimin membrana transferi için gereklidir ve sellüler sekresyondan sonra hızla ayrılır. Prodomain enzimatik aktivitenin latent formda tutulmasını sağlar ve katalitik bölgedeki sistein rezidüsünü içeren peptid zinciri ile etkileşir. Üç boyutlu yapı incelendiğinde ise sistein rezidüsünden oluşan bölgede bir Zn<sup>+2</sup> vardır. Bu sistein rezidüsünden bir Zn<sup>+2</sup> nin ayrılması katalitik bölgenin aktivasyonu ile sonuçlanır. Matriks metalloproteinazların çoğunda karboksiterminal pozisyonda bir dördüncü bölge daha vardır. Bu bölge ise MMP lerin substratı tanınmasıyla ilişkilidir (34,35, 36,37).



Şekil 2.3. MMP lerin yapısal özellikleri

Matriks metalloproteinazların çoğu istirahat halindeki yetişkin dokularında hiç yoktur veya çok az eksprese edilir. Ancak; embriyogenezis, yara iyileşmesi, kemik yeniden yapılanması, aterosklerozis, menstrüel siklus süresince endometrial damarlanma, plasental damarlanma gibi ESM'in yeniden yapılanması olan birçok fizyolojik durum yanı sıra; romatoid artrit, diabetes mellitus, tümöral büyüme ve metastaz gibi patolojik durumlarda da MMP ekspresyonu hızla artırılır (37).

MMP aktivitesi en az 3 seviyede sıkı bir şekilde kontrol edilir(38):

- 1) Transkripsiyon,
- 2) Zimojen enzim formunun proteolitik aktivasyonu
- 3) Aktif enzimin doğal inhibitörler aracılığıyla inhibisyonu (Şekil 2.1)

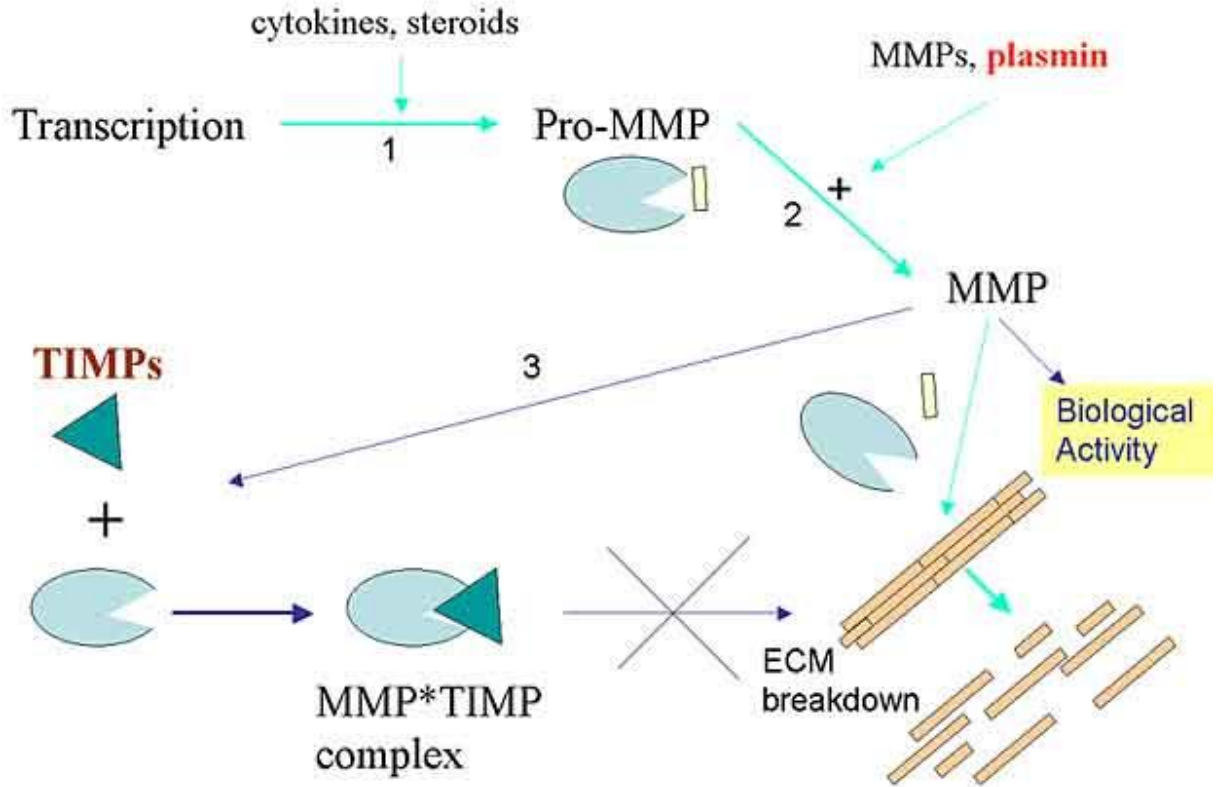
Birçok büyüme faktörü, sitokinler ve hormonlar MMP ekspresyonunu transkripsiyon seviyesinde düzenlerler. Proinflamatuvar sitokinler MMP üretimini indükleyebilirken, İnterlökin-10, retinoik asit, glukokortikoidler ve steroidler bazı MMP'lerin ekspresyonunu negatif yönde etkiler . Matriks metalloproteinazlar in vivo olarak yeniden yapılanma olayları sırasında dokuyu invaze eden majör hücre tipleri yanısıra, o bölgede bulunan konnektif doku hücreleri tarafından da eksprese edilir (38).

Matriks metalloproteinaz aktivitesinin ikinci kontrol yolu olan enzim aktivitesinin regülasyonu hücre içinde veya dışında meydana gelebilir. Pro-MMP'lerin ekstrasellüler olarak başlıca aktivatörü plazmindir (38) . Matriks metalloproteinaz aktivitesinin daha sonraki seviyeleri, bir MMP aktivasyonunun diğerlerine yol açması şeklinde bir geri iletim mekanizması oluşturur. Bu yolla, plazmin, pro-MMP-1, -3 ve -9'u aktif formlarına çevirir. MMP-1, pro-MMP-9'u aktive edebilir. MT-MMP'ler de özellikle MMP-2 olmak üzere birçok pro-MMP' nin aktivatörüdürler.

Doğal endojen inhibitörler aracılığıyla MMP aktivitesinin düzenlenmesi noktasında doku sıvılarındaki başlıca MMP inhibitörü alfa 2-makroglobülin dir. MMP'lere bağlanarak irreversibl bir kompleks oluşturan alfa 2-makroglobülin, çöpçü reseptörler aracılığıyla MMP'lerin ortamdan uzaklaştırılmalarını sağlar . Bununla

birlikte üzerinde en çok çalışılmış olan MMP inhibitörleri metalloproteinazların doku inhibitörleri olan matriks metalloproteinaz doku inhibitörü (TIMP) ailesidir. TIMP ler, moleküler ağırlıkları 21–30 kDa arasında değişen solubl proteinlerdir. 4 tipi tanımlanmış olan bu proteinler, aktive olmuş MMP'lerle güçlü, reversibl, nonkovalent kompleksler oluşturup, MMP katalitik bölgesini etkileyerek enzim aktivitesini inhibe ederler (Şekil 2.4) (39,28).

## The Metalloproteinase System



Şekil 2.4. Matriks metalloproteinaz aktivitesinin düzenlenmesi ve TIMP ile ilişkisi. (www.bioscience.org) (40)



### 2.6.1 Matriks metalloproteinaz-1 (Fibroblast kollajenaz)

Matriks metalloproteinaz ailesinin prototipik üyesidir. İlk kez 1962 yılında bir proteaz olarak tanımlanmıştır. Aktif formu 43 dA ağırlığındadır. Tip 1, Tip 2, Tip 3 kollajeni sindirir. İnterstisyel kollajenler bazal membranda bulunan Tip 4 kollajenden farklıdır Ayrıca Tip 5, Tip 10 kollajenin yıkılmasından sorumludur.

Matriks metalloproteinaz-1 ler sadece ESM yıkımında değil aynı zamanda bu proteinlerin düzenlenmesinde görev alır. Matriks metalloproteinaz-1 hücrel olaylarda multifonksiyonel bir enzim olarak düşünülmelidir. Yapılan çalışmalar MMP-1 lerin doku morfogenezi, onarımı gibi çeşitli fizyolojik olaylarda da rol oynadığını gösterir. Bu enzimin aktivasyonu veya inhibisyonu da pulmoner amfizem, romatoid artrit ve akciğer kanseri gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde rol sahibi olabilir (39).

Yapılan çalışmalarda MMP-1 in kanser tipleriyle olan ilişkisi gösterilmiştir(41). Matriks metalloproteinaz -1 in özellikle meme, beyin, mide baş boyun kanserleriyle olan ilişkisi gösterilmiştir(4). Kolorektal kanserlerde insitu hibridizasyon tekniğiyle eozinofillerde artmış MMP-1 düzeyleri ve bazal hücre karsinomlarında yine insitu hibridizasyon yöntemiyle stromada MMP-1 ekspresyonunun arttığı gözlenmiştir(4). Mide kanserinde yine MMP-1 ekspresyonu stromada artmıştır.

Matriks metalloproteinaz-1 MMP'lerin interstisyel kollajenaz subfamilyasına ait bir proteindir. Özellikle tip 1 kollajeni degrade eder. Matriks metalloproteinaz-1 le ilişkili yapılan bir çok çalışmada ESM'nin degradasyonuna katılan bu proteazın özellikle bir takım kanserlerde arttığı görülür. Özellikle kolorektal kanserlerde, oral karsinomlarda, nazofarengeal kanserlerde miktarın arttığı görülür (49).

Chintala ve ark. (42) beyin dokusu stromasına kadar ilerleyerek oldukça invaziv bir karakter sergileyen malign gliomanın MMP' lerle olan ilişkisi ortaya koymuştur. Matriks metalloproteinazların bu tümörlerin invazyonuna eşlik ettiği

bulunmuştur (42). Glioma hücrelerinin in vitro koşullarda MMP-1, MMP-2 ve MMP-3 salgıladıkları bulunmuştur (4).

### **2.6.2 Matriks metalloproteinaz-2 (Jelatinaz A)**

Aktif formu 66 kDa ağırlığındadır. Tip 4 kollajenin yanı sıra jelatini, Tip 5, Tip 7 ve Tip 10 kollajeni elastini, fibronektini ve elastini yıkarlar (4).

Jelatinaz A oldukça yaygın bir dağılıma sahiptir. Bunlar düz kas hücreleri, fibroblastlar ve osteoblastlar tarafından sentezlenirler. Matriks metalloproteinaz-2 ayrıca menstrüasyonda endometriyumun düzenlenmesi, vaskülarizasyonun düzenlenmesinde ve inflamatuvar olaylarda rol oynar. Ayrıca MMP-2'nin sentezini düzenleyen gende ortaya çıkan bir mutasyon Torg-Winchester sendromuna sebep olur (28) .

Matriks metalloproteinaz -2 kolon, pankreas, mesane, prostat, deri kansinomlarında meme ve over kanserinde ve hemen hemen tüm kanserlerde tümör stromasına invaze olarak görülmüştür(4).

Yapılan bir çalışmada ilerlemiş ürettelyal karsinomlu hastalarda tam rezeksiyon sonrasında MMP-2 ve MMP-3 düzeyleri enzim immünassay yöntemi ile değerlendirilmiş ve rekürrens değerlendirilmesinde yeni belirleyiciler olacak biçimde MMP-2 ve MMP-3 ün düzeyinin artmış olduğu görülmüştür(43).

### **2.6.3 Matriks metalloproteinaz-8 (Nötrofil kollajenaz)**

75 kDa büyüklüğünde olan bir proenzimdir ve Tip 1, Tip 2 ve Tip 3 interstisyel kollajeni yıkar. Nötrofiller tarafından üretilir ve diğer interstisyel kollajenlerden farklı bir gen tarafından üretimi düzenlenir.

Matriks metalloproteinaz- 8 çeşitli inflamatuvar olayların patogeneğinde rol oynamaktadır. Yapılan bir çalışmada MMP-8 düzeyi düşük olan farelerde allerjene

bağlı oluşan inflamatuvar durumda bronkoalveoler lavajda bulunan nötrofil miktarının normal düzeyde MMP-8 düzeyine sahip farelere göre daha yüksek olduğu bulunmuştur (44). Bunun yanında allerjik astım da rolü olan nötrofillerin apoptozisinde yine MMP 8 in rolü vardır ve antiinflamatuvar olarak görev yapar (45).

Matriks metalloproteinaz -8 in baş boyun kanserlerinde ve over kanserinde ekspresyonun artmış olduğu görülmüştür(46).

Matriks metalloproteinaz -8 in en etkili degradasyonu yaptığı tip 1 kollajenin üzerindeki proteolitik etkisinin bulunmasıyla birlikte bu metalloproteinazın skuamoz hücreli kanserin değişik tiplerinde yayılımında etkili olabileceği savunulmuştur(46).

## **2.7. Nazal polipli kronik rinosinüzitin matriks metalloproteinazlar ile ilişkisi**

Kronik rinosinüzit epitelyum hasarı, kalınlaşmış bir fibrotik mukoza ve psödokist formasyonu ile ortaya çıkan bir durumdur. Bunun yanında mukozal ödem ve eozinofil infiltrasyonu KRS' nin karakteristik bir özelliğidir. Matriks metalloproteinazlar embriyonik gelişim ve doku morfogenezisi ile ilişkilidir. Aynı zamanda inflamasyon ve tümör metastazı gibi çeşitli fizyolojik olaylara katılırlar. Son zamanlarda MMP' ler ile onların doku inhibitörleri olan TIMP' ler arasındaki dengesizliğin KRS gelişiminde rolü olabileceği bildirilmiştir. Bunun sonucunda mast hücreleri ve nötrofiller gibi hücrelerin MMP ile kuracağı iletişim ESM'nin etkilenmesine yol açar. Bu durumunda psödokist formasyonuna neden olabileceği bildirilmiştir ( 47). Son çalışmalarda yine MMP-8 ve MMP-9 un düşük seviyelerinin havayolu hastalıkları ile olan ilişkisi bildirilmiştir. Bunun yanında bazı çalışmalarda MMP-9 ve TIMP-1 in seviyelerinin KRS' de arttığı gözlenmiştir (47,48) .

Nazal polipte MMP-1 seviyeleri yükselir. Bir çalışmada özellikle allerjik rinitle birlikte NP' nin birlikte görüldüğü hastalarda MMP-1 seviyeleri artmış olarak bulunmuştur (50). Yine yapılan bir çalışmada MMP-1 seviyelerinin kontrol grubuna göre KRS'li ve NP' li hastalarda arttığı görülmüştür (5).

Matriks metalloproteinaz- 9 un artmış seviyesi astım gibi havayolu hastalıkları yanında akut akciğer hasarı, akut akciğer hasarında ve akciğer kanserinde gösterilmiştir (48, 51).

Matriks metalloproteinaz- 9 un seviyesi fonksiyonel endoskopik sinüs cerrahisi ardından iyileşmenin derecesinin değerlendirilmesinde bir parametre olarak kullanılmıştır (47, 52). Matriks metalloproteinaz- 9 un postoperatif dönemde artmış seviyeleri operasyona kötü yanıtın bir göstergesi olabilir (53).

Matriks metalloproteinaz -9 un KRS 'de seviyesinin artmasıyla birlikte NP'nin eşlik ettiği KRS'de psödokistlerin içinde boyanması bu enzimin bazal mambran degradasyonu göreviyle örtüşür (48, 53).

Wang ve ark. (54) çalışmalarında NP'nin eşlik ettiği KRS' de normal mukozayla karşılaştırıldığında MMP-2 seviyeleri kontrol grubuyla aynı seviyede bulmuşlardır.

İlginç bir şekilde MMP-2 nin astımdaki fibrozisle ilişkili oluşu bunun aynı zamanda NP' nin eşlik etmediği KRS ile de ilişkili olabileceğini düşündürür ( 53). Yine MMP-2 nin solunum epitelindeki yeniden şekillenmeye ve onarıma olan katkısı invitro olarak kanıtlanmıştır (42) . Matriks metalloproteinaz -2 nin yine doku yaralanması ardından oluşan inflamasyonda rolü olduğu immunohistokimyasal çalışmalarla gösterilmiştir ( 53) .

Matriks metalloproteinaz -2 submukozal glandlarda yüksek miktarlarda izole edildi. Bu da özellikle NP' nin eşlik ettiği KRS' deki rolünü açıklayan bir göstergedir ( 53, 55) .

Matriks metalloproteinaz -8 interstisyel kollajenaz subfamilyasının bir üyesidir. Özellikle matriksin düzenlenmesinde kollajen tip 1 üzerinden etki ederek inflamasyonda rol oynar. Matriks metalloproteinaz -8 özellikle bronşiektazi hastalarında bronkoalveolar lavaj sıvısında yüksek miktarda izole edilmiştir.

Matriks metalloproteinaz -8 NP'nin eşlik ettiği KRS'li hastalarda görülür ve tabloya astımda eşlik edebilir. Mezenkimal ve PMN tip olmak üzere iki formu

bulunan MMP-8 in özellikle şiddetli astımın eşlik ettiği NP li KRS'de her iki tipinin miktarında aşırı miktarda yükseldiği görülür (56, 57) .

Mezenkimal tip MMP-8 in dokuda IL-8 ile paralel bir artış gösterdiği bilinir. İnterlökin-8 in eozinofilleri artırdığı bilindiğinden bu durum alerjik kişilerde neden MMP-8 ve IL-8 in birlikte arttığını gösteren bir gösterge olabilir (58). Dolayısıyla özellikle astımın eşlik ettiği kronik rinosinüzitlerde patofizyolojiye katkıda bulunan faktörlerden bir tanesi de IL-8 sitokini ve MMP-8 in birlikte oluşturduğu kaskaddır (57) .

Matriks metalloproteinazların doku inhibitörleri (TIMP)'lar içinde fibroblastlar, keratinositler, makrofajlar, ve endotel hücrelerinin de bulunduğu bir çok hücre tarafından üretilmektedir. Ayrıca, aktif ve bazende pasif halde bulunan MMP molekülleri ile non-kovalent yapılar oluşturarak etkilerini gösterirler. TIMP-1 ve TIMP-2 yapısal olarak birbirlerine benzemelerine karşın etkiledikleri MMP'ler yönünden birbirlerinden ayrılmaktadırlar. TIMP-1 MMP-1'i baskılamak, TIMP-2 tip IV kollajeni yıkan kollajenazları baskılamaktadır. TIMP-1'in ekspresyonu, (EGF, IL-1, TGF-beta, TNF-alfa) gibi çeşitli büyüme faktörleri forbol esterleri, retinoidler, glukokortikoidler tarafından arttırılmakta iken TIMP-2, TGF-beta tarafından azaltılır ve forbol esterlerine cevap vermez (59).

TIMP-2 daha çok tip 4 kollajeni degrade eden metalloproteinazları etkilediğinden MMP-2 üzerinde özellikle etkisi vardır. TIMP-2 düzeyi kronik rinosinüzitlerde artmıştır. Bu da MMP-2 düzeyinin artmış olduğu kronik rinosinüzitlerde TIMP-2 düzeyinin artmasının kompensatuar bir mekanizmaya bağlı olduğunu gösterir (60) .

## GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada KRS' nin patogeneğinde MMP' ların rolünün belirlenmesi amacıyla nazal mukoza epitelinden daha önce operasyonda alınan örneklerde bulunan MMP' ye karşı oluşan monoklonal antikorlarlar kullanılarak immunohistokimyasal inceleme yapılmıştır. Bu amaçla çalışmada MMP-1, MMP-2, MMP-8 antijenleri kullanılmıştır.

### 3.1 Örneklerin elde edilmesi

Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Ana Bilim Dalı' nda 22.3.2010 ile 23.9.2010 tarihleri arasında semptomatik durumları ve nazal endoskopi ile bilateral nazal polip tespit edilen ve bu nedenle fonksiyonel endoskopik sinüs cerrahisi yapılan 25 hasta ile obstrüktif nazal deformite nedeniyle septoplasti yapılan 10 hasta dahil edilmiştir. Kontrol grubu hastalarının orta konkalari, NP hastalarının etmoid sinüsten eksize edilen nazal polip materyalleri çalışmaya alınmıştır. Hastalar NP' li ve kontrol grubu olarak gruplara ayrılarak incelenmiştir.

Yukarıda belirtinen gruplara ait hastalardan, cerrahi sırasında elde edilen mukoza ve konka materyalleri immunohistokimyasal analiz için aşağıdaki gibi hazırlanmıştır.

Çalışmaya dahil edilen hastalara araştırmanın amacı ve içeriği anlatıldı ve gönüllü olarak çalışmaya katıldıklarına dair bilgilendirilmiş onay formu imzalatıldı. Araştırma için Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan onay alındı.

## 3.2 İmmunohistokimya yöntemi

### 3.2.1. Malzeme ve solüsyonların hazırlanması

İmmunohistokimyasal analiz sırasında kullanılan malzemeler şunlardı:

- Fosfat tamponlu serum fizyolojik (PBS)
- Primer antikor
- Sekonder antikor

#### PBS SOLÜSYONU

NaCl	87,6 gr	
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	22,8 gr	ph 7,4
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	6,8 gr	
Adwates	1 lT	

#### BOUİN FİKSATİFİ HAZIRLANMASI

Picric asit	75 ml
Formalin	75 ml
Gliacil asetik asit	5 ml

### 3.2.2 İmmunohistokimya yönteminin uygulanması

Polilizinli lam üzerine alınan kesitlerde immünohistokimyasal MMP-1, MMP2-, MMP-8 proteinin lokalizasyonu belirlendi. İmmünohistokimyasal inceleme için daha önce Çaylı ve ark. (61) tarafından 2011 tarafından tanımlanan yöntem kullanıldı. Kısaca, elde edilen dokuların bir kısmı immünohistokimyasal değerlendirme için Bouin çözeltilisinde tespit edilip parafin gömme uygulandı. 5µm kalınlığındaki kesitler poli-L-lizin kaplı lamlarda (Sigma, St. Louis, MO, USA) toplandı ve bir gece 56°C' da inkübe edildi. Kesitler ksilen ve dereceli alkol serilerinden geçirilip dehidrate edildi. Daha sonra kesitler 2 kez pH'sı 6.0 olan 10mM sitratlı tampon içinde mikrodalga fırında 600W 5 Dakika kaynatıldı ve sonrasında soğuyana kadar 20 dakika bu tamponda bekletildi. Fosfat tamponlu salinle (PBS) 5'er dakika üç kez yıkandıktan sonra endojen peroksidaz aktivitesi %3'lük hidrojen peroksidazla baskılandı. PBS'de 3'er kez 5'er dakika tekrar

yıkandı. Kesitler spesifik olmayan reaksiyonu engellemek için 10 dakika bloklama serumla (ScyTek Laboratuvarları, USA) bloklandı. Sonrasında kesitler bir gece 4°C'da primer antikolar eklenerek inkübe edildi. Primer antikor olarak poliklonal Rabbit monoclonal MMP1 (AB52631,1:50,Abcam,UK), Rabbit polyclonal MMP8 (PAB4797,1:50, Abnova,USA), Rabbit polyclonal MMP2(GTX73120, 1:50,Genetex,USA) kullanıldı. İnkübasyon sonrası, PBS ile oda sıcaklığında 3 kez yıkamadan sonra sırayla biotinlenmiş sekonder antikolar (ScyTek Laboratories, USA) ve peroksidaz işaretli strep-tavidin (ScyTek Laboratories, Utah, USA) ile toplam 50 dakika inkübe edildi. Peroksidaz aktivitesi, 3-amino-9-ethylkarbazol (AEC) (ScyTek Laboratories, USA) kromojeni ile inkübasyon sonucu görünür hale getirilip, Mayer'in hematoksileni (ScyTek Laboratories, Utah, USA) ile zıt boyama yapıldı. Sonrasında, slaytlar su bazlı kapatma solusyonu (Fisher Chemicals, Springfield, NJ, USA) ile kapatıldı. Kontroller için, kesitler primer antikorla benzer konsantrasyonda normal tavşan serumuyla inkübe edildi. MMP1, MMP2, MMP8 ile boyanan kesitler Leica mikroskop (Leica DM2500, Nussloch, Almanya) altında fotoğraflandı. İmmünohistokimyasal boyanmanın değerlendirilmesi daha önce Cayli ve ark tarafından tarif edilen HSCORE analizi ile yapıldı (61). MMP1, MMP-2, MMP-8 immünreaksiyonunun şiddeti ve boyanan hücre sayısı şu şekilde değerlendirildi. Herbir kesit için ışık mikroskobu altında 40 X büyütmede birbirinden habersiz iki araştırmacı tarafından rastgele beş alan seçildi ve bu alanlar içinde hücrelerin boyanma yoğunluğuna göre [0 (boyanma yok), +1 ( zayıf, fakat tespit edilebilir boyanma ), +2 ( orta şiddetli boyanma) ve +3 (yoğun boyanma)] hücre sayımı yapıldı. Hesaplama için HSCORE formülü kullanıldı [ $\sum Pi(i+ 1)$ ]: i boyanma yoğunluğu skorunu, Pi boyanan hücrelerin yüzdesini gösterir]. İki gözlemcinin hesapladığı skorların ortalaması alındı ve HSCORE değerleri grafikte gösterildi.



## BULGULAR

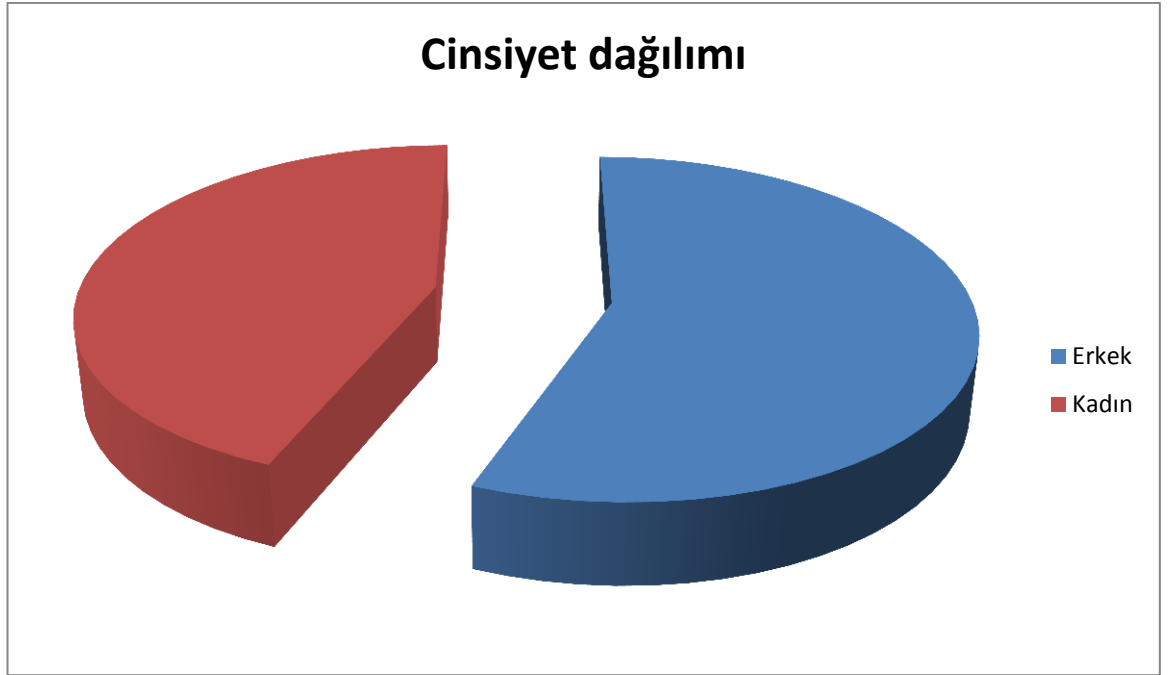
### 4.1. Klinik ve demografik bulgular

Çalışmaya dahil edilen 35 hastanın 10 tanesini kontrol grubu 25 tanesini NP grubu oluşturdu. NP' li hastaların 11 tanesi kadın 14 tanesi erkekti. Kontrol grubundaki 10 hastanın 6 tanesi erkek ve 4 tanesi kadındı. NP grubundaki hastaların yaşları 25 ile 64 arasındaydı ve ortalama yaşları 55,3 idi. Kontrol grubundaki hastaların yaşları ise 22 ile 52 arasında değişmekteydi ve ortalama yaş 37,4 idi. (Tablo 4.1, 4.2)

Tablo 4.1: Hasta ve kontrol grupları

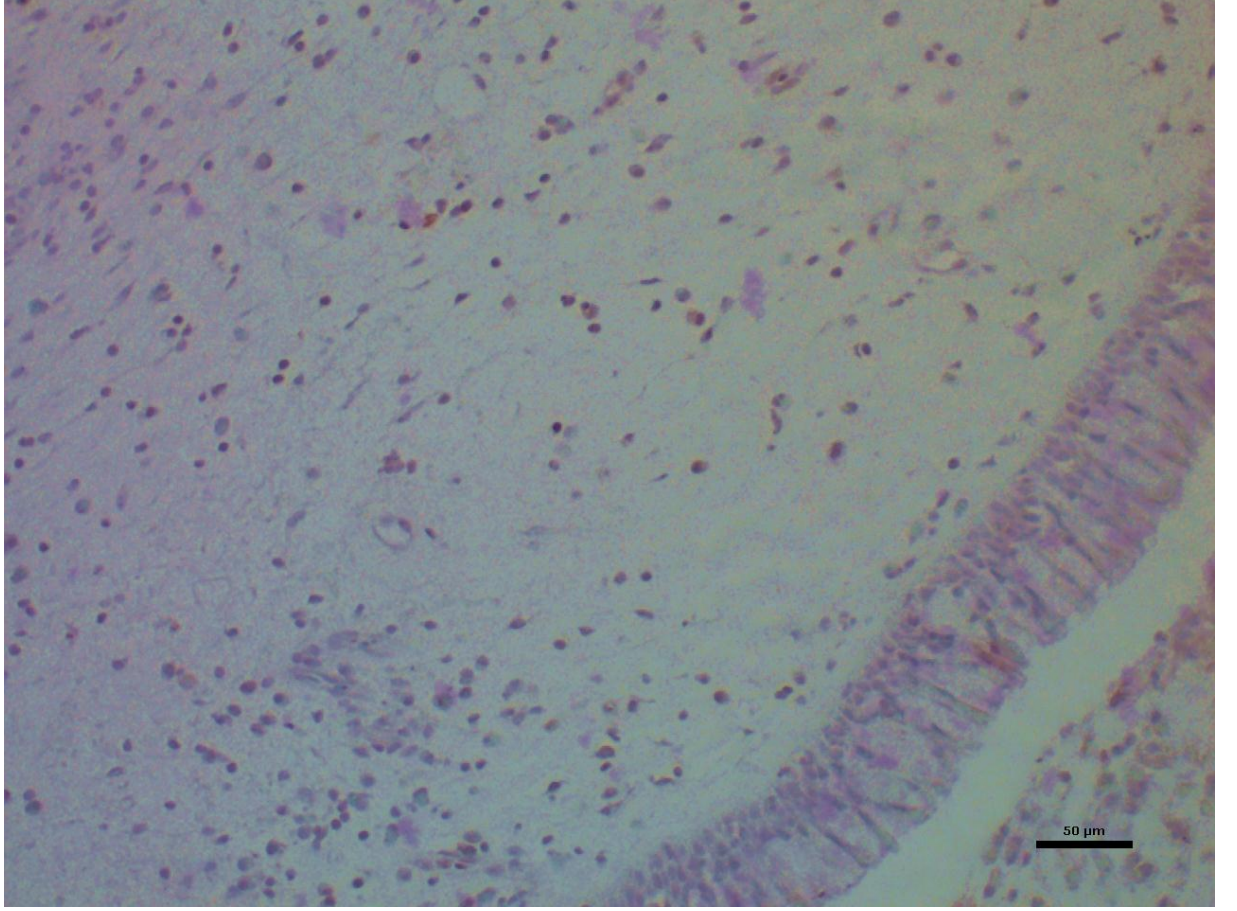


Tablo 4.2: Hastaların cinsiyet dağılımı

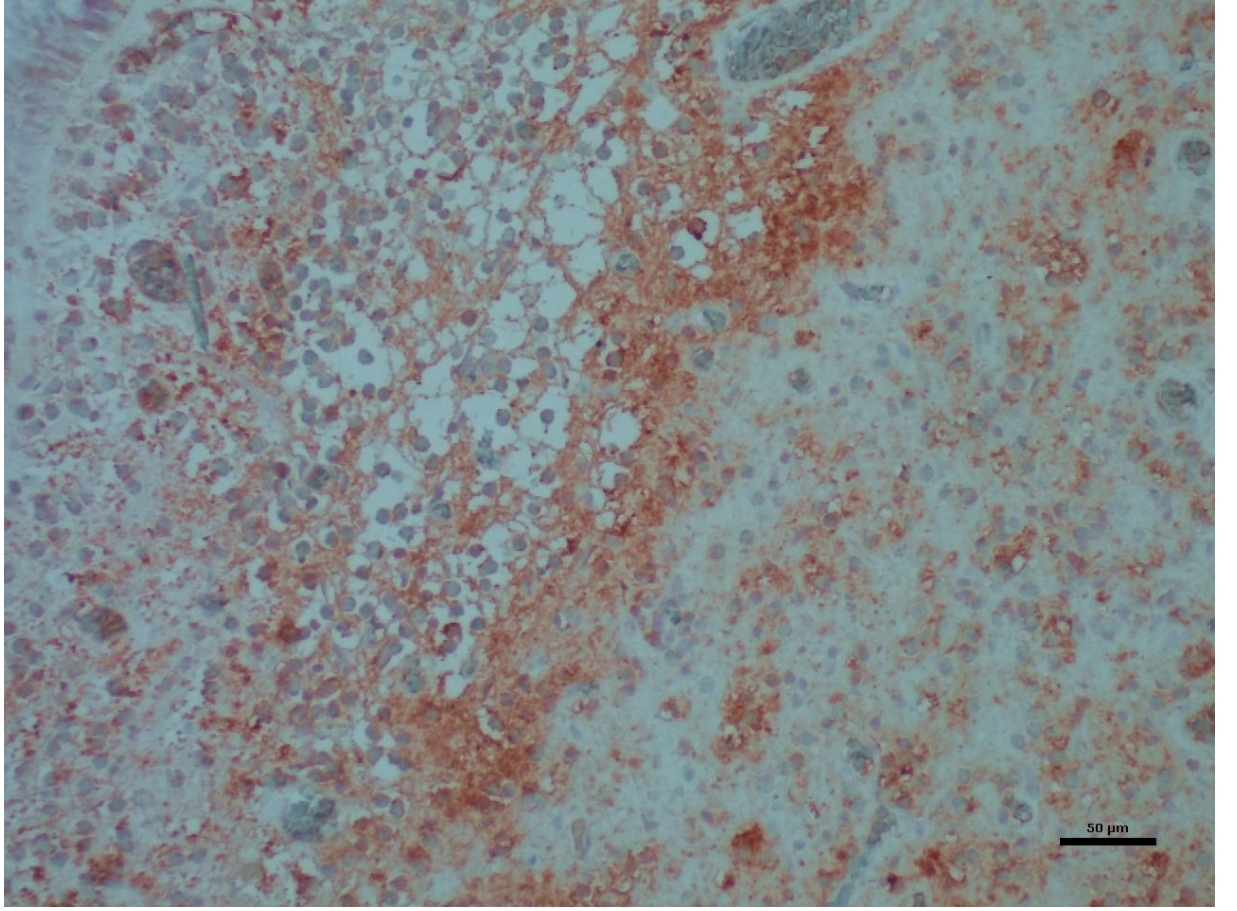


### 4.3. İmmunohistokimyasal bulguların analizi

Matriks metalloproteinaz -1 antijen ekspresyonu ESM'de kontrol mukozasında ve hastalıklı mukozada tespit edildi. Kontrol mukozasına zayıf ve orta immün boyanma gözlenirken polip dokusunda güçlü boyanma gözlemlendi. (Şekil 4.1, Şekil 4.2)

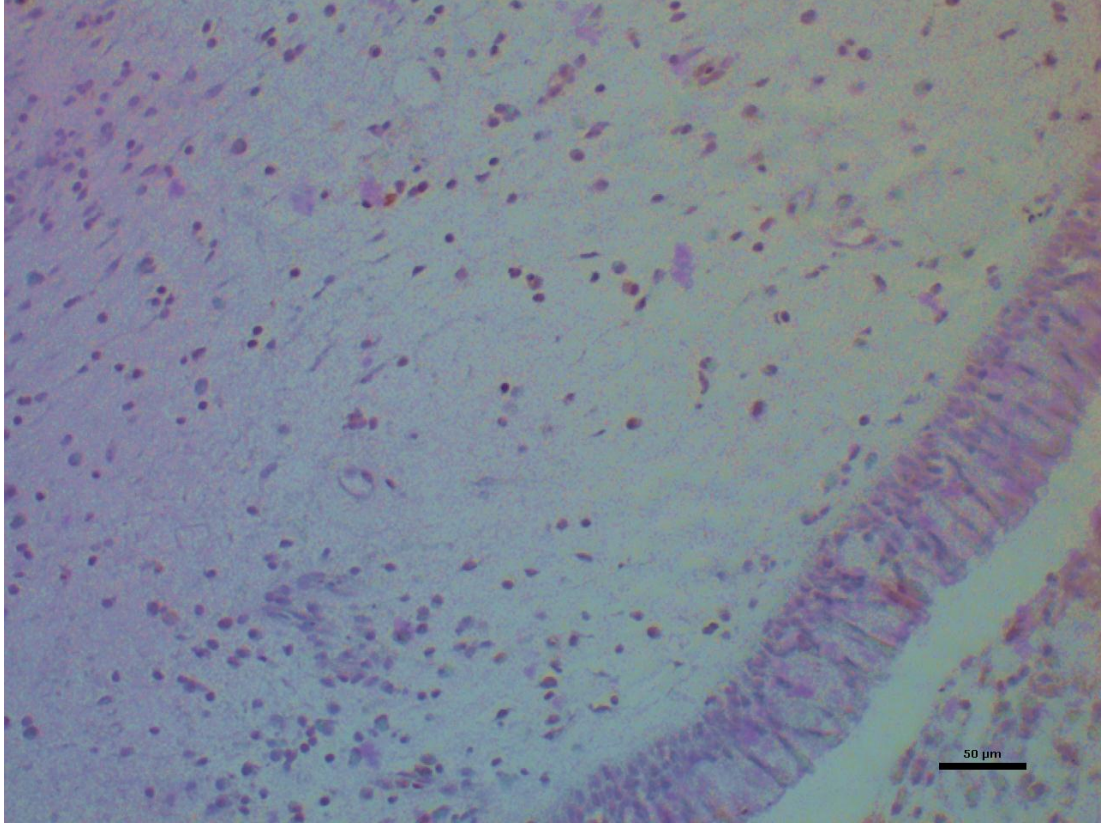


Şekil 4.1 Kontrol dokusunda MMP-1 ekspresyonu. Stromada zayıf- orta yoğunlukta MMP-1 antijeni boyanması görülmektedir. ( orijinal büyütme X 20 )



Şekil 4.2 Nazal polip dokusunda MMP-1 ekspresyonu. Stromada güçlü MMP-1 ekspresyonu görülmektedir.

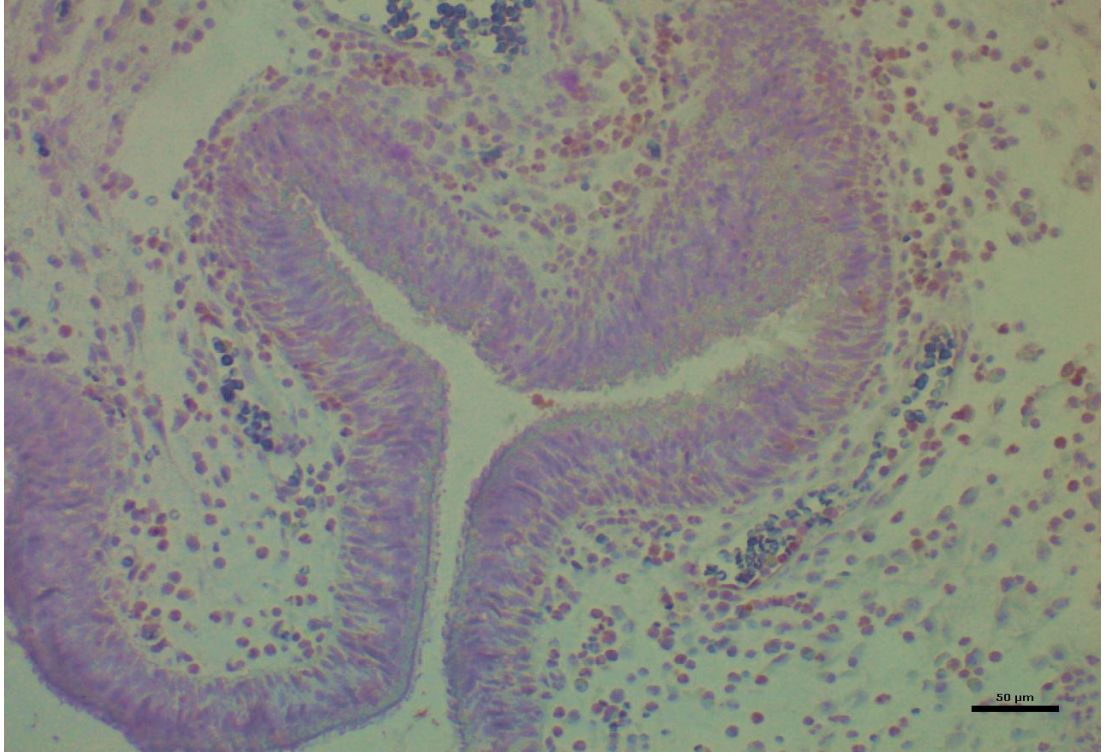
Matriks metalloproteinaz -2 immün boyanması kontrol dokusunda yüzey epitelinde, mukozal ve submukozal glandlarda zayıf olurken NP dokusunda bu kısımlarda güçlü boyanma görülmüştür. (Şekil 4.3)



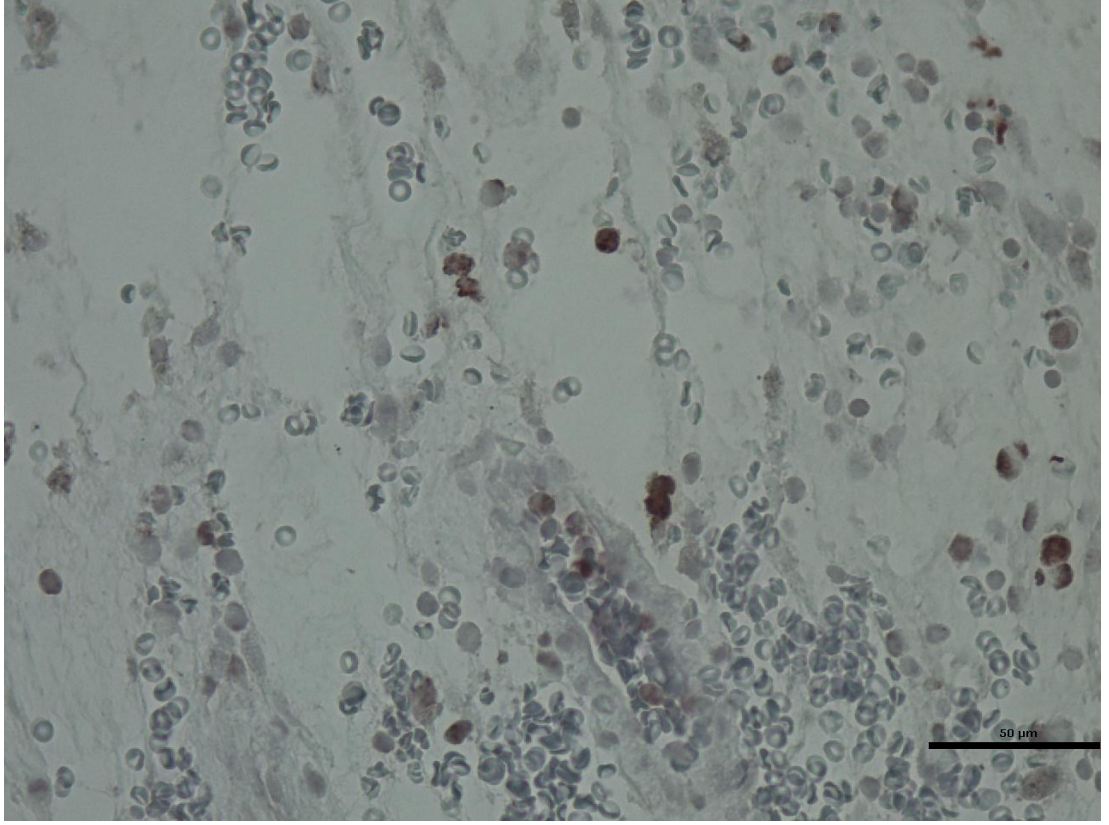
Şekil 4.3 Kontrol dokusunda MMP-2 ekspresyonu. Sadece subepitelyel alandaki zayıf boyanma görülmektedir. (Orijinal büyütme X 20)

HSCORE analizine pozitif boyanan hücrelerin karşılaştırmalı analizinde NP dokusu ile kontrol mukozası arasındaki MMP-1 boyanması farkı istatistiksel olarak anlamlı çıkmıştır. ( $p=0.001$ ) (Şekil 4.7)

Matriks metalloproteinaz -2 boyanması kontrol mukozasında sadece subepitelyal alanda olurken NP dokusunda epitelin silyalı hücrelerinde, submukozal glandlarda ve inflamatuvar hücrelerde olmuştur. (Şekil 4.4)



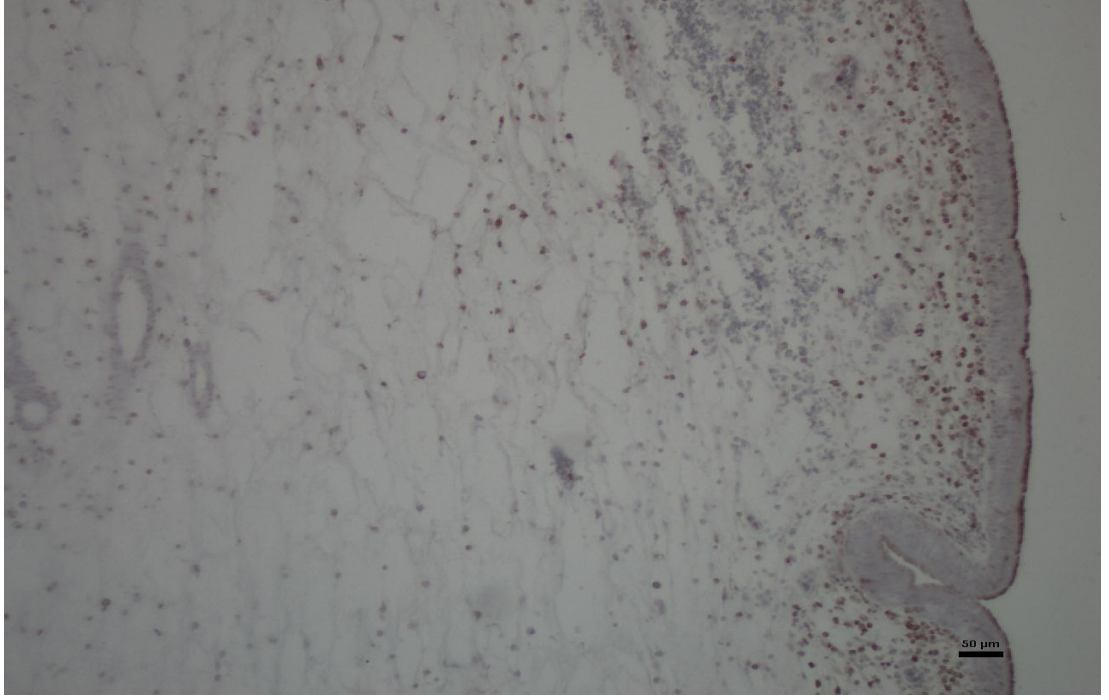
Şekil 4.4 MMP-2 ekspresyonu nazal polip dokusunda silyalı hücrelerde ve glandlarda görülmektedir.



Şekil 4.5: MMP-8 ekspresyonu stromada görülmektedir. (Orijinal büyütme x 40)

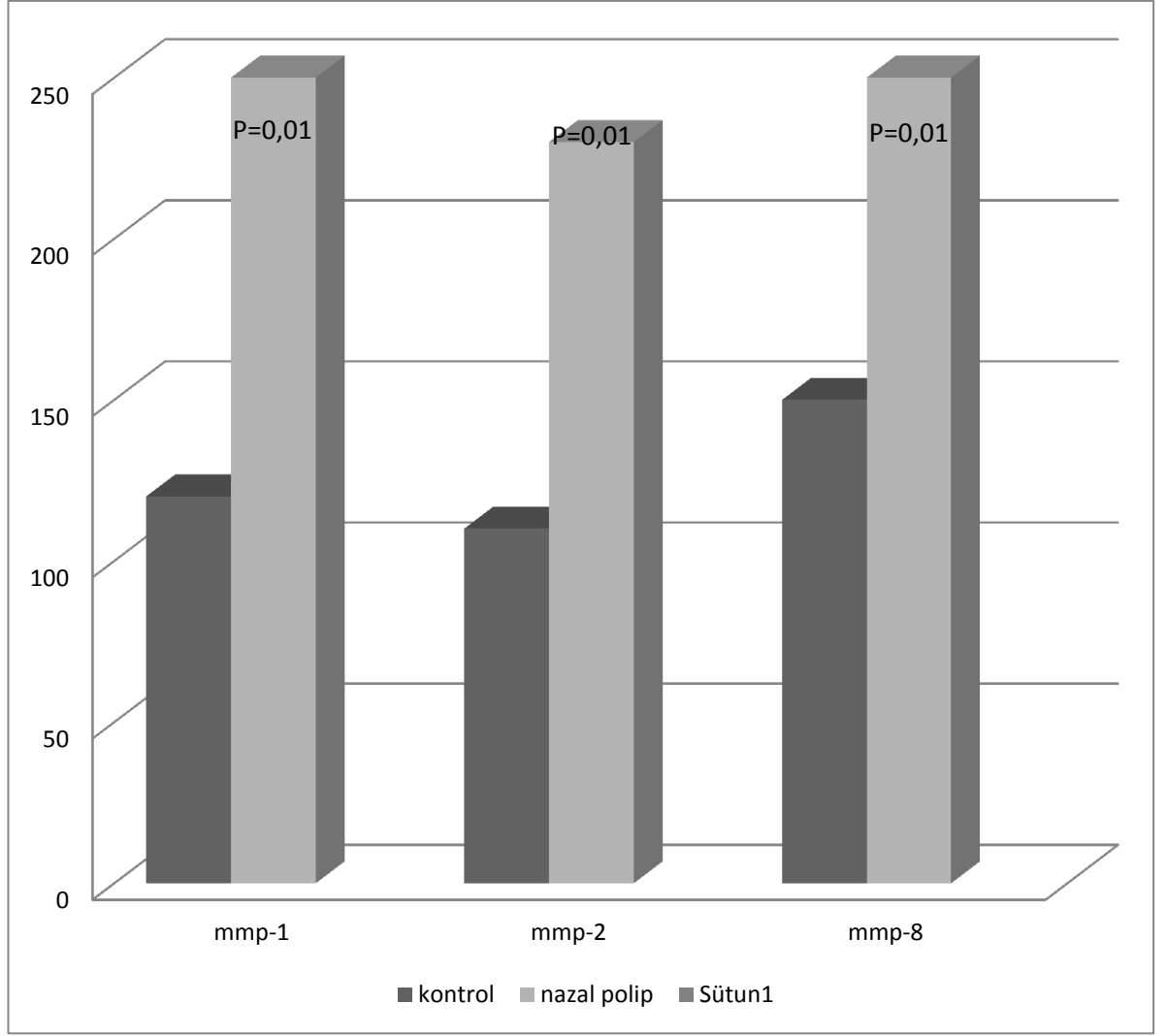
Matriks metalloproteinaz -2 boyanması yönünden kontrol dokularıyla NP' li dokular arasında istatistiksel olarak fark bulunmuştur. ( $p=0,01$ ) Şekil 4.7

Matriks metalloproteinaz -8 ekspresyonu kontrol dokusuna göre stromada, subepitelyal alanda ve epitelde artmış olarak bulundu.(Şekil 4.5, Şekil 4.6) HSCORE analizine göre MMP-8 ekspresyonu kontrol dokusuna göre tüm alanlarda artmış olarak bulundu. ( $p<0,05$ ) (Şekil 4.7)



Şekil 4.6 : MMP-8 ekspresyonu özellikle subepitelyal alanda artmış olarak görülüyor.x10





Şekil 4.7: H SCORE analizi sonucunda kontrol dokularıyla nazal polip dokularının karşılaştırmalı analizi

## TARTIŞMA

Nazal polip eski çağlardan beri bilinmesine ve tedavisine çalışılmasıyla beraber, hastalığın etiopatogenezi halen tam olarak aydınlatılabilmemiş değildir. Üst havayolu mukozasındaki inflamatuvar olay, NP'in etiolojisi ve patogenezinde önemli role sahiptir (62).

Çeşitli kemokin ve sitokinlerin seviyeleri NP' li KRS' de artmıştır.

Nazal polibi oluşturacak olan zincirleme reaksiyonların başlangıç kaynağı tetikleyici elemanlardır (bakteri, virüs, mantar). Bu mukozal iritasyonu takiben epitelden TNF-alfa ve IL 1-beta salınımı olur. Bu maddelerin salınmasıyla birlikte epitelyal adezyon moleküllerinin epitele tutunması sağlanır ve böylelikle diğer inflamatuvar maddelerin epitelden dokuya geçişi sağlanmış olur. Bu inflamatuvar moleküllerin önemli kısmını eozinofiller oluşturur. TNF-alfa ve IL1-beta nın dışında eozinofillerin dokuya migrasyonunda eotaksin ve RANTES gibi maddelerde etkilidir. Eozinofiller NP oluşumunda gelişen enflamasyonun en baskın hücreleridir. Dokuda uzun zaman kalan eozinofillerden salgılanan MBP gibi maddelerin etkisiyle epitelde kalıcı hasar ve ödem sonucunda polip geliştiği düşünülmektedir (63,64)

Dokuda inflamasyondan sorumlu tek yapı MBP değildir. Dokuda yerleşik olan proteolitik enzimlere bağlı olarakta bağ dokusunda bir miktar lizis gelişir. Nazal polipoziste kollajen bazlı matrikste yıkım vardır. Bu yıkımdan sorumlu enzim grubu ise MMP'lerdir. Matriks metalloproteinazlar dokularda fibroblastlar, endotel ve epitel gibi yerlerden salınır. Ayrıca MMP lerin salınımında dokuya göçün önemli kemokinlerinden olan ve daha önce bahsedilen TNF-alfa nında etkisi olduğu gösterilmiştir. Bu kemokinin özellikle MMP- 1 salınımında önemli rolü olduğu bulunmuştur (65). Dokuda artan IL-1 beta düzeyleri de MMP-1 ekspresyonunu artırmaktadır(66).

Matriks metalloproteinazların ana işlevi ESM yıkımı ile embriyojenik gelişimin sağlanması ile birlikte doku morfogenezini sağlamaktır. Bunun yanında birçok inflamatuvar süreçte rol oynarlar. Bundan dolayı çeşitli patolojik inflamatuvar süreçlerde, kronik dejeneratif olaylarda ve tümör invazyonunda rol alırlar (39).

Ekstraselüler matriks, matrikste ki hücreler için bir destek görevi görür ve VEGF , TGF-beta gibi yapılar için rezervuar görevi görür. Matriks metalloproteinazlar ise

proteolitik yapıları sayesinde bir taraftan hücrelerin ESM' ye adhezyonunu düzenlerken diğer taraftan degradasyon işlevini yaparlar (38). Matriks metalloproteinazlar NP' li KRS' de ESM' yi degrade etme görevleriyle burada gelişen doku ödeminden sorumludurlar (5).

Nazal polip dokusunda normal burun dokusuna göre farklı bir yanıt vardır. Daha önceki çalışmalarda MMP' lerin KRS' de enflamatuar yanıtta rol aldığı gösterilmiştir. Matriks metalloproteinaz -1, MMP-2, MMP-8' in NP etyopatogenezinde rolü olup olmadığını incelediğimiz bu çalışmada, MMP-1 in ekspresyonunu immunohistokimyasal yöntemle inceledik. İnceleme sonucunda NP dokusunda kontrol mukozaya göre artmış MMP-1 immünreaktivitesini tespit ettik. Bizim çalışmamıza paralel olarak Liu ve ark (67) insitu hibridizasyon yöntemini kullanarak NP fibroblastlarıyla normal mukozadaki fibroblastlar arasında MMP-1 mRNA seviyesi arasında bir farklılık olup olmadığını araştırmıştır. Bu çalışmada NP fibroblastlarında MMP-1 mRNA ekspresyonunu normal mukozaya göre artmış olarak bulmuştur. Aynı çalışmada TNF-alfa ve IL-alfa düzeyleri de artmış olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar MMP-1 ekspresyonunun NP' de arttığını ve NP' nin patogenezinde MMP-1 in bulunduğunu gösterir.

Lu ve ark. (68) ELİZA yöntemini kullanarak yaptıkları çalışmalarında NP, KRS ve normal mukoza arasında TGF beta , MMP-1, MMP-2 ve MMP-7 düzeylerini karşılaştırmıştır. Bu çalışmasında MMP-1 ,MMP-7 ve MMP-9 düzeylerinin inferior türbinat mukozasına göre hem KRS mukozası hem de NP dokusunda arttığını bulmuştur .

Matriks metalloproteinaz -2 MMP ailesinin bir üyesidir. Aktive fibroblastlardan salınmaktadır. Tip 4 kollajeni yıkar. Bu göreviyle ESM yi degrade eder. Matriks metalloproteinaz -2 nin bazal membran üzerindeki bu etkileri sonucunda epitelin bazal membranında ve kan damarlarının membranındaki kollajen yıkımına bağlı olarak vasküler ve epitelyal geçirgenlik artar. Bu da stromal ödem oluşumuyla NP formasyonu ortaya çıkarır (54). Bu NP patogenezinde MMP-2' ninde rolünü ortaya koyar. Matriks metalloproteinaz -2 aynı zamanda üst hava yollarında astım gibi hastalıklarda üst hava yolu remodelinginde ve inflamatuvar süreçlerde rol oynar.

Bizim çalışmamızda kontrol grubuna göre nazal polip dokusunda MMP-2 ekspresyonu artmış olarak bulunmuştur.

Chen ve ark. (5) yaptıkları çalışmada normal inferior türbinat mukozasında MMP-2 immünohistokimyasal boyanmasını 18 hastanın 17 sinde gözlemlemiştir.

Buna karşın NP dokularının tümünde boyanma görülmüştür. Bu boyanmalarda epitelyum ve submukozal glandlarda görülmüştür.

Başka bir çalışmada MMP-2, MMP-7 ve MMP-9 düzeyleri normal mukoza, kronik rinosinüzitli mukoza ve NP' li dokular arasında karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada MMP-2 nin NP' li dokularda KRS' li dokulara göre daha fazla eksprese edildiği bulunmuştur. Aynı çalışmada MMP-7 nin KRS' li dokularda NP' li ve normal mukozaya göre anlamlı derecede daha fazla eksprese edildiği bulunmuştur (6).

Kahveci ve ark. (69) MMP-9 ve TIMP-1 düzeylerini NP' li dokularda ve kontrol dokularında karşılaştırmışlardır. Bu çalışmada MMP-9 düzeylerinin NP dokusunda anlamlı derecede artmış olduğu bulundu. Buna karşın TIMP-1 düzeyleri normal bulundu. Dolayısıyla NP dokusunda MMP-9/TIMP-1 oranının artmış olduğu sonucuna varmışlardır . Bizim çalışmamızda MMP-9 parametresi kullanılmamasına rağmen bu çalışma ve yapılan diğer benzer çalışmalar MMP-2 ye benzer biçimde NP' de MMP-9 düzeylerinin arttığını göstermektedir. Bu da NP dokusunda vücudun diğer dokularına benzer biçimde bir anjiogenez mekanizmasında MMP' lerin rolü olduğunu göstermektedir.

Leonardi ve ark. (50) MMP seviyesini vernal konjunktivit, NP' li ve astmatik hastalarda karşılaştırmıştır. Bu çalışmada vernal konjunktivitte MMP-1, MMP-3, MMP-9 ve MMP-13 düzeylerini normal dokulara göre yüksek düzeyde bulmuştur. Bunun yanında NP dokusunda ve astımlı hastaların bronşial mukozalarında yine bu MMP ekspresyonu artmıştır. Bu da alerjik etyolojisi olduğu bilinen vernal konjunktivit, astım ve NP gibi klinik hastalıklarda metalloproteinazların rolü olduğunu gösterir.

Shin ve ark. (77) 40 tane NP' li hastayı alerjik rinit olan ve olmayan olarak gruplara ayırmış ve kontrol grubuyla bu iki grup arasında MMP-2 ve MMP-9 düzeylerini karşılaştırmıştır. Bu çalışmada alerjik rinitli grup en az 2 yıldır perennial alerjik rinitin semptomlarını göstermekteydi ve deri testi ile alerjileri tespit edilmiştir.

Bu çalışmada alerjik rinitli nazal polip hastalarında MMP-2 ve MMP-9 ekspresyonunu kontrol grubuna ve alerjik rinitli olmayan hasta grubuna artmış olarak bulmuştur.

Wang ve ark. (78) farklı olarak rinovirüsle enfekte olmuş olan NP fibroblastlarındaki MMP-2 düzeylerini araştırmışlardır. Bu çalışmada MMP-2 ekspresyonu rinovirüsle enfekte olan grupta kontrol grubuna göre artmış olarak bulunmuştur. Bu durum NP formasyonunda ve patogenezinde rinovirüsün etkin olabileceğini gösterebilir. Burada aynı zamanda MMP nin de NP' deki etkisi ortaya çıkmaktadır. Çünkü rinovirüs NP fibroblastlarında MMP-2 ekspresyonunu artırmaktadır ve burada MMP aracı rol üstlenmektedir. Bu sonuç aynı zamanda başka faktörlerinde NP patogenezindeki rolünü araştırmak için MMP düzeylerinin ölçülebileceğini gösterir.

Matriks metalloproteinaz -8 MMP' lerin kollajenaz ailesinin bir üyesidir ve nötrofil kollajenaz olarak isimlendirilir. Nötrofillerden salınır. Kollajen tip 1 i degrade eder ve bu fonksiyonuyla vücutta bir çok sistemde inflamatuvar patogenetik kaskadlarda görev alır (4).

Matriks metalloproteinaz -8 nötrofiller kemik iliğinde üretildiği zaman onlarla birlikte üretilir. Matriks metalloproteinaz -8 in nötrofil tipi ve fibroblast tipi olmak üzere iki tipi vardır (70). Bu polimorfonükleer tip ve mezenkimal tip olarak ayrılabilir.

Matriks metalloproteinaz -8 eklemde kondrositler tarafından üretilebilir ve çeşitli inflamatuvar olaylarda rol oynayabilir. Bunlar periodontit, snovit, astım, kronik obstruktif akciğer hastalıkları gibi durumlardır. Matriks metalloproteinaz-8 diş eti hücrelerindeki fibroblastlarda, epitelium hücrelerinde, keratinositlerde, odontoblastlarda ve oral kanser hücrelerinde monosit/makrofajlarında ve plazma hücrelerinde tespit edilmiştir (71, 72, 73).

Matriks metalloproteinaz -8 in havayolu hastalıklarında ve özellikle astımda patogeneizde yeri vardır. Astımlı hastaların bronkoalveolar sıvılarında artmıştır. Gueders (74) yaptığı çalışmasında alerjen etkisine maruz bıraktığı farelerin bronkoalveolar lavaj sıvılarını incelemiştir. Bu araştırmada MMP-8 seviyelerini kontrol grubuna göre artmış olarak bulmuştur. Prikk ve ark. (75) hava yolu

obstrüksiyonunun bariz olduğu astımlı hastaları gruplara ayırarak MMP-8 seviyelerini bu hastaların bronkoalveolar sıvılarında ölçmüştür. Bu çalışmanın sonucunda özellikle FEV 1 i düşük olan hastalarda MMP-8 aktivasyonun arttığını bulmuştur .Bu sonuçlar alerjik komponenti olduğu bilinen astımda MMP-8 seviyelerinin arttığını gösterir. Başka bir çalışmada bronşiektazili hastalarda MMP-8 in seviyeleri incelenmiştir. Western blot tekniğiyle yapılan bu çalışmada bronşiektazili hastalarda MMP-8 seviyeleri kontrol grubuna göre bronkoalveolar sıvıda artmış olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada MMP-8 epitelyal hücrelerde, submukozal inflamatuvar hücrelerde ve submukozal glandlarda tespit edilmiştir (76).

Nazal polipli KRS' li hastalarda MMP-8 inflamatuvar olaylarda rol alır. Bu aynı zamanda IL-8 seviyesinin yükselmesiyle birlikte dir. Kostamo ve ark.(34) yaptığı çalışmasında NP' li hastalarda MMP-8/TIMP-1 oranını anlamlı düzeyde artmış olarak bulmuştur. Bu çalışmada özellikle polimorfonükleer tip MMP-8 artarken mezenkimal tip ile kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunamamıştır. MMP-8 in artışı özellikle doku eozinofilisi ile birlikte dir. Bu çalışmada aynı zamanda hastaların aspirin intoleransı ve astım durumlarında araştırılmıştır. Aspirin intoleransı olan hastaların tümünde doku eozinofilisi gözlenmiştir .

## SONUÇ

Biz bu çalışmada MMP-1, MMP-2 ve MMP-8'in NP dokusunda kontrol nazal mukozaya göre daha fazla eksprese edildiğini tespit ettik. Bu sitokinleri çalışmamızın nedeni NP dokusunda diğerlerine göre daha az çalışılmış olmasıdır (MMP-9, MMP-7 gibi). Ayrıca bizim çalışmamızda kontrol dokusu olarak orta konkada mukozası kullanılmıştır. Çoğu çalışmada alt konkada kontrol grubu olarak yer almaktadır. Halbuki alt konkadan polip gelişmesine sık rastlanmaz. Orta konkada ise polip oluşumu siktir. Bu nedenle sağlıklı orta konkayla karşılaştırıldığında NP' de MMP-1, MMP-2 ve MMP-8' in artmış olması bizce daha anlamlıdır.

Sonuç olarak, NP etyopatogenezi moleküler düzeyde incelendiğinde çok sayıda molekülün rol oynadığı görülmektedir. Nazal polip dokusunda artmış eozinofillerle birlikte ödemin varlığı dokuda remodeling (yeniden yapılanma) göstergesidir. Bu yeni doku oluşumunda ise ESM birikimi ve çevreleyen epitelde artış hücrel proliferasyonla birlikte olmaktadır. Metalloproteinazların ESM elemanlarının yıkımında doğrudan etkisi NP etyopatogenezinde etkin olduklarının göstergesidir. Bu klinik araştırma da göstermiştir ki diğer MMPlerin yanında MMP-1, MMP-2 ve MMP-8 de NP'li hastalarda hastalığın etyopatogenezinde rol almaktadırlar.

## KAYNAKLAR

1. Önerci M. Burun poliplerinin patogenezi Nazal polipozis. Metin Önerci (Ed). Hacettepe Üniversitesi Hastaneleri Basımevi, Ankara: 2006; 7-14.
2. Bernstein JM, Kansal R. Superantigene hypotesis for the early development of chronic hyperplastic sinusitis with massive nasal poliposis. Otol Head and Neck Surgery 2005; 13: 39-43.
3. Fokkens W, Lund V, Mullol J Rinosinüzit ve Nazal polipler üzerine Avrupa durum raporu 2007
4. Apakkan S, Ozmen D, Bayındır O. Metalloproteinases, Their İnhibitors and related Phsiological and Pathological Conditions. T Klin J Med Sci 2001; 21:332-342
5. Eyibilen A, Cayli S, Aladag I, Koç S, Gurbuzler L, Atay GA Distribution of matrix metalloproteinases MMP-1, MMP-2, MMP-8 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinases-2 in nasal polyposis and chronic rhinosinusitis. Histol Histopathol. 2011 ;26(5):615-21
6. Haberal I, Ceylan K, Caydere M, Samim E, Ustun H: The expression of MMP-2, MMP-7, MMP-9, and TIMP-1 in chronic rhinosinusitis and nasal polyposis. Otolaryngology–Head and Neck Surgery 2008;139, 211-215
7. Osguthorpe JD. Adult rhinosinusitis: diagnosis and management. Am Fam Physician. 2001 Jan 1;63(1):69-76.
8. Steinke JW, Bradley D, Arango P, Crouse CD, Frierson H. Cysteinil leukotrien expression in chronic hyperplastic sinuzitis-nasal polyposis: importance to eosinophilia and asthma. J Allergy Clin Immunol. 2003; 3(2):342-9



9. Damm M, Quante G, Jungehueling M, Stennert E. Impact of functional endoscopic sinus surgery on symptoms and quality of life in chronic rhinosinusitis. *Laryngoscope*. 2002 ;112(2):310-5.
10. Soler ZM, Mace JC, Litvack JR, Smith TL. Chronic rhinosinusitis, race, and ethnicity.. *Am J Rhinol Allergy*. 2012 Mar-Apr;26(2):110-6.
11. Johansson L, Akerlund A, Holmberg K, Melen I, Bende M. Prevalence of nasal polyps in adults: The Skovde population-based study. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2003;112:625-629.
12. Vento SI, Ertama LO, Hytonen ML, Wolff CH. Nasal polyposis: Clinical course during 20 years. *Ann Allergy Astma Immunol*. 2000;85(3):209-14
13. Benninger MS, Ferguson BJ, Hadley JA, Hamilos DL, Jacobs M, Kennedy DW, Lanza DC, Marple BF, Osguthorpe JD, Stankiewicz JA, Anon J, Denny J, Emanuel I, Levine H. Adult chronic rhinosinusitis: definitions, diagnosis, epidemiology, and pathophysiology. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2003 ;129 :1-32.
14. Leung R, Chaung K, Kelly JL, Chandra RK. Advancements in computed tomography management of chronic rhinosinusitis. *Am J Rhinol Allergy*. 2011;25(5):299-302
15. Lund-Mackay IS. Staging in rhinosinusitis. *Rhinology*. 1993: 31(4):183-4
16. Yücel A, Dereköy FS, Yılmaz MT, Altuntaş A. Sinonazal anatomik farklılıkların paranazal sinüs enfeksiyonlara etkisi. *The Med J Kocatepe*. 5:43-48, 2004
17. Kaluskar SK. Pre and Postoperative mucociliary clearance in functional sinus surgery. *Ear Nose Throat* 76:884-886, 1997
18. Hamilos DL. Chronic sinusitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2000 ;106(2):213-27.
19. Ramadan HH, Fornelli R, Ortiz AO, Rodman S. Correlation of allergy and severity of sinus disease. *Am J Rhinol*. 1999 ;13(5):345-7.
20. Ponikau JU, Sherris DA, Kern EB, Homburger HA, Frigas E, Gaffey TA, Roberts GD. The diagnosis and incidence of allergic fungal sinusitis. *Mayo Clin Proc*. 1999 ;74(9):877-84..

21. Ebbens FA, Georgalas C, Luiten S, van Drunen CM, Badia L, Scadding GK, Hellings PW, Jorissen M, Mullol J, Cardesin A, Bachert C, van Zele TP, Lund VJ, Fokkens WJ. The effect of topical amphotericin B on inflammatory markers in patients with chronic rhinosinusitis: a multicenter randomized controlled study. *Laryngoscope*. 2009 Feb;119(2):401-8
22. Van Zele T, Claeys S, Gevaert P, Van Maele G, Holtappels G, Van Cauwenberge P, Bachert C. Differentiation of chronic sinus diseases by measurement of inflammatory mediators. *Allergy*. 2006 ;61(11):1280-9.
23. Cheng W, Zheng C, Tian J, Shi G .T Helper Cell Population and Eosinophilia in Nasal Polyps *J Investig Allergol Clin Immunol* 2007; 17 (5): 297-301
24. Kostamo K, Richardson M, Malmberg H, Ylikoski J, Ranta H, Toskala E. Does the triad of fungi, bacteria and exposure to moisture have an impact on chronic hyperplastic sinusitis? *Indoor Air*. 2005 ;15(2):112-9.
25. Merino LA, Ronconi MC, Hreňuk GE, de Pepe MG. Bacteriologic findings in patients with chronic sinusitis. *Ear Nose Throat J*. 2003 ;82(10):798-800, 803-4, 806.
26. Mucha SM, Baroody FM. Sinusitis update. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2003 3(1):33-8
27. Gevaert P, Holtappels G. Organisation of secondary lymphoid tissue and local IgE formation to staphylococcus aureus enterotoxins in nasal polyp tissue. *Allergy* 2005; 60:71-79.
28. Martignetti JA, Aqeel AA, Sewairi WA, Boumah CE, Kambouris M, Mayouf SA, Sheth KV, Eid WA, Dowling O, Harris J, Glucksman MJ, Bahabri S, Meyer BF, Desnick RJ. Mutation of the matrix metalloproteinase 2 gene (MMP2) causes a multicentric osteolysis and arthritis syndrome. *Nat Genet*. 2001;28(3):261-5.
29. Szczeklik A, Sanak M: Molecular mechanisms in aspirin-induced asthma, *Allergy Clin Immunol Int*. 12(4): 171-176,2000.
30. Sanak M, Sampson AP: Biosynthesis of cysteinyl-leucotrienes in aspirin-intolerant asthma. *Clin Exper Allergy*. 29:306-313, 1999

31. Manka SW, Carafoli F, Visse R, Bihan D, Raynal N, Farndale RW, Murphy G, Enghild JJ, Hohenester E, Nagase H. Structural insights into triple-helical collagen cleavage by matrix metalloproteinase 1. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012 Jul 3.
32. Mullol J, Xaubet A, Gaya A. Cytokine gene expression and release from epithelial cells: a comparison study between healthy nasal mucosa and nasal polyps. *Clin Exp Allergy* 1995;25:607–615.
33. Wittekindt C, Hess A, Bloch W. Immunohistochemical expression of VEGF and VEGF receptors in nasal polyps as compared to normal turbinate mucosa. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2002; 259:294–298.
34. Kostamo K, Tervahartiala T, Sorsa T, Richardson M, Toskala E. Metalloproteinase function in chronic rhinosinusitis with nasal polyposis. *Laryngoscope* 2007;117: 638-43.
35. Siefert SA, Sarkar R. Matrix metalloproteinases in vascular physiology and disease. *Vascular*. 2012.
36. Souza AP, Line S. The biology of matrix metalloproteinases. *Rev. FOB* 2002 ; 10:1-6
37. Beaudoux J., Giral P., Bruckert E.: Matrix metalloproteinases, inflammation and atherosclerosis: therapeutic perspectives. *Clin Chem Lab Med*. 2004; 42(2):121-131
38. Smutzer G: Matrix metalloproteinases and their inhibitors play key roles in tissue remodelling and pathogenesis of metastatic and inflammatory diseases. *The Scientist*.2002;16(4):34-8
39. Pardo A, Selman M. MMP-1: the elder of the family. *Int J Biochem Cell Biol*. 2005 ;37(2):283-8.
40. Zhang X, Warren B, Nothnick. The role and regulation of the uterine matrix metalloproteinase system in menstruating and non-menstruating species <http://www.bioscience.org/2005>, January 1, 2005
41. Hewitt R, Dan K. Stromal cell expression of components of matrixdegrading protease systems in human cancer. *Enzyme Protein* 1996;49:163-73.
42. Chintala SK; Tomn JC, Rao JS. Matrix metalloproteinases and their

biological function in human gliomas. *Int J Dev Neurosci* 1999 ; 17 ( 5-6): 495-502.

43. Gohji K, Fujimoto N, Komiyama T, Fujii A, Ohkawa J, Kamidono S, Nakajima M. Elavation of serum levels of matrix metalloproteinase- 2 and -3 as new predictors of recurrence in patients with urothelial carcinoma. *Cancer*.1996; vol: 78, no:11.
44. García S, Forteza J, López-Otin C, Gómez-Reino JJ, González A, Conde C. Matrix metalloproteinase-8 deficiency increases joint inflammation and bone erosion in the K/BxN serum-transfer arthritis model. *Arthritis Res Ther*. 2010;12(6):224.
45. Gueders MM, Balbin M, Rocks N, Foidart JM, Gosset P, Louis R, Shapiro S, Lopez-Otin C, Noel A, Cataldo DD: Matrix metalloproteinase- 8 deficiency promotes granulocytic allergen-induced airway inflammation. *J Immunol* 2005; 175:2589–2597
46. Ala-aho R, Kähäri VM. Collagenases in cancer. *Biochimie*. 2005 ;87(3-4):273-86.
47. Sauter A, Stern-Straeter J, Sodha S, Hörmann K, Naim R. Regulation of matrix metalloproteinases (MMP)-2/-9 expression in eosinophilic chronic rhinosinusitis--cell culture by interleukin-5 and -13?. *In Vivo*. 2008 ;22(4):415-21.
48. Watelet JB, Bachert C, Claeys C, et al. Matrix metalloproteinases MMP-7, MMP-9 and their tissue inhibitor TIMP-1: expression in chronic sinusitis vs nasal polyposis. *Allergy* 2004; 59:54–60.
49. Arakaki PA, Marques MR, Santos MC. MMP-1 polymorphism and its relationship to pathological processes. *J Biosci*. 2009 ;34(2):313-20.
50. Leonardi A., Brun P., Di Stefano A., Motterle L. and Abatangelo G. Matrix metalloproteases in vernal keratoconjunctivitis, nasal polyps and allergic asthma. *Clin. Exp. Allergy* 2007;37, 872-879
51. Dahlen B, Shute J, Howarth P. Immunohistochemical localisation of the matrix metalloproteinases MMP-3 and MMP-9 within the airways in asthma. *Thorax*. 1999 ;54(7):590-6.

52. Bhandari A, Takeuchi K, Suzuki S, et al. Increased expression of matrix metalloproteinase-2 in nasal polyps. *Acta Otolaryngol* 2004; 124:1165–70.
53. Kostamo K, Toskala E, Tervahartiala T, Sorsa T. Role of matrix metalloproteinases in chronic rhinosinusitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2008 ;8(1):21-7. Review.
54. Wang LF, Chien CY, Tai CF, Kuo WR, Hsi E, Juo SH. Matrix metalloproteinase-9 gene polymorphisms in nasal polyposis. *BMC Med Genet*. 2010 ; 11:85.
55. Chen Y.S., Langhammer T., Westhofen M. and Lorenzen J. Relationship between matrix metalloproteinases MMP-2, MMP-9, tissue inhibitor of matrix metalloproteinases-1 and IL-5, IL-8 in nasal polyps. *Allergy* 2007; 62, 66-72.
56. Prikk K, Maisi P, Pirilä E, Reintam M, Salo T, Sorsa T et al. Airway obstruction correlates with collagenase-2 (MMP-8) expression and activation in bronchial asthma. *Lab Invest* 2002; 82:1535–1545.
57. Kostamo K, Sorsa T, Leino M, Tervahartiala T, Alenius H, Richardson M, Toskala E. In vivo relationship between collagenase-2 and interleukin-8 but not tumour necrosis factor-alpha in chronic rhinosinusitis with nasal polyposis. *Allergy*. 2005;60(10):1275-9.
58. Warringa RAJ, Mengelers HJJ, Raaijmakers JAM, Bruijnzeel PLB, Koenderman L. Upregulation of formylpeptide and interleukin-8 induced eosinophil chemotaxis in patients with allergic asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 1993 ;91(6):1198-205.
59. Gioia M, Fasciglione GF, Marini S, D'Alessio S, De Sanctis G, Diekmann O, Pieper M, Politi V, Tschesche H, Coletta M. Modulation of the catalytic activity of neutrophil collagenase MMP-8 on bovine collagen I. Role of the activation cleavage and of the hemopexin-like domain. *J Biol Chem*.2002 ;277(26):23123-30
60. Shaida A, Kenyon G, Devalia J, Davies RJ, MacDonald TT, Pender SL. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in the nasal mucosa of

- patients with perennial allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2001 ;108(5):791-6.
61. Cayli S, Ocakli S, Erdemir F, Tas U, Aslan H, Yener T, Karaca Z. Developmental expression of p97/VCP (Valosin-containing protein) and Jab1/CSN5 in the rat testis and epididymis. *Reprod Biol Endocrinol* 2011;9:117.
  62. Slavin RG. Sinusitis in adults and its relation to allergic rhinitis, asthma and nasal polyps. *J All Clin Imm* 1988;82:950-956.
  63. Seto H, Suzaki, Shioda S. Immunohistochemical localization of eotaxin immunoreactivity in nasal polyps. *Acta Otolaryngol Suppl* 2004; (553): 99-104
  64. Cavallari FE, Valera FC, Gallego AJ, Malinsky RR, Küpper DS, Milanezi C, Silva JS, Tamashiro E, Anselmo-Lima WT. Expression of RANTES, eotaxin-2, ICAM-1, LFA-1 and CCR-3 in chronic rhinosinusitis patients with nasal polyposis. *Acta Cir Bras*. 2012 ;27(9):645-9.
  65. Kanbe N, Tanaka A, Kanbe M, et al. Human mast cells produce matrix metalloproteinase 9. *Eur J Immunology* 1999; 29: 2645-9
  66. Lee YA, Choi HM, Lee SH, Hong SJ, Yang HI, Yoo MC, Kim KS. Hypoxia differentially affects IL-1 $\beta$ -stimulated MMP-1 and MMP-13 expression of fibroblast-like synoviocytes in an HIF-1 $\alpha$ -dependent manner. *Rheumatology (Oxford)*. 2012 ; 51(3):443-50.
  67. Liu CM, Hong CY, Shun CT, Wang JS, Hsiao TY, Wang CC, Lin SK. Matrix metalloproteinase-1 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 gene expressions and their differential regulation by proinflammatory cytokines and prostaglandin in nasal polyp fibroblasts. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2001;110(12):1129-36.
  68. Lu X, Liu Z, Cui Y. The protein expression difference of transforming growth factor beta1, matrix metalloproteinases 1,7,9 and tissue inhibitors of matrix metalloproteinases-1 between chronic rhinosinusitis, nasal polyps and normal mucosa tissues. *Lin Chuang Er Bi Yan Hou Ke Za Zhi*. 2005 ;19(14):633-5.

69. Kahveci OK, Derekoy FS, Yilmaz M, Serteser M, Altuntas A. The role of MMP-9 and TIMP-1 in nasal polyp formation. *Swiss Med Wkly.* 2008 ;138(45-46):684-8.
70. Sorsa T, Tjäderhane L, Kontinen YT, Lauhio A, Salo T, Lee HM, Golub LM, Brown DL, Mäntylä P. Matrix metalloproteinases: contribution to pathogenesis, diagnosis and treatment of periodontal inflammation. *Ann Med.* 2006;38(5):306-21.
71. Hanemaaijer R, Sorsa T, Kontinen YT, Ding Y, Sutinen M, Visser H, et al. Matrix metalloproteinase-8 is expressed in rheumatoid synovial fibroblasts and endothelial cells. Regulation by tumor necrosis factor-alpha and doxycycline. *J Biol Chem.* 1997;272: 31504–9.
72. Chubinskaya S, Huch K, Mikecz K, Cs-Szabo G, Hasty KA, Kuettner KE, et al. Chondrocyte matrix metalloproteinase- 8: up-regulation of neutrophil collagenase by interleukin-1 beta in human cartilage from knee and ankle joints. *Lab Invest.* 1996;74:232–40
73. Kiili M, Cox SW, Chen HY, Wahlgren J, Maisi P, Eley BM, et al. Collagenase-2 (MMP-8) and collagenase-3 (MMP-13) in adult periodontitis: molecular forms and levels in gingival crevicular fluid and immunolocalisation in gingival tissue. *J Clin Periodontol.* 2002; 29:224–32.
74. Gueders MM, Balbin M, Rocks N, Foidart JM, Gosset P, Louis R, Shapiro S, Lopez-Otin C, Noël A, Cataldo DD. Matrix metalloproteinase-8 deficiency promotes granulocytic allergen-induced airway inflammation. *J Immunol.* 2005 15;175(4):2589-97.
75. Prikk K, Maisi P, Pirilä E, Reintam MA, Salo T, Sorsa T, Sepper R. Airway obstruction correlates with collagenase-2 (MMP-8) expression and activation in bronchial asthma. *Lab Invest.* 2002 ;82(11):1535-45.
76. Prikk K, Maisi P, Pirilä E, Sepper R, Salo T, Wahlgren J, Sorsa T. In vivo collagenase-2 (MMP-8) expression by human bronchial epithelial cells and monocytes/macrophages in bronchiectasis. *J Pathol.* 2001 ;194(2):232-8.
77. Shin HW, Han DH, Lim YS, Kim HJ, Kim DY, Lee CH, Min YG, Rhee CS. Nonasthmatic nasal polyposis patients with allergy exhibit greater epithelial MMP positivity. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2009 ;141(4):442-7.

78. Wang JH, Kwon HJ, Jang YJ. Rhinovirus upregulates matrix metalloproteinase-2, matrix metalloproteinase-9, and vascular endothelial growth factor expression in nasal polyp fibroblasts. *Laryngoscope*. 2009 ;119(9):1834-8.



