T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOFİZİK ANABİLİM DALI
DOKTORA PROGRAMI

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Tammam SİPAHİ

PAPİLLER TİROİD KANSERLİ HASTALARDA MMP-9 GEN POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI

(Doktora Tezi)

İsmail KARA

Referans no: 10531480

EDİRNE – 2023

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOFİZİK ANABİLİM DALI
DOKTORA PROGRAMI

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Tammam SİPAHİ

PAPİLLER TİROİD KANSERLİ HASTALARDA MMP-9 GEN POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI

(Doktora Tezi)

İsmail KARA

Destekleyen Kurum: TÜBAP-2021/123

EDİRNE – 2023

TEŞEKKÜR

Tezimin belirlenmesinden bitimine kadar rehberliğini benden esirgemeyen değerli danışman hocam Prof. Dr. Tammam SİPAHİ'ye, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulundan Dr. Öğr. Üyesi Orkide PALABIYIK'a, Biyofizik Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Tevfik GÜLYAŞAR'a, Doç. Dr. Ayhan ÜNLÜ'ye ve Araş. Gör. Dr. Mustafa YILDIZ'a, hasta materyalini sağlamamda yardımcı olan İç Hastalıklar Anabilim Dalından Dr. Öğr. Üyesi Buket YILMAZ BÜLBÜL'e ve Araş. Gör. Dr. Rabia Gizem TÜRKOĞLU'na, Biyoistatistik Anabilim Dalından Doç. Dr. Selçuk KORKMAZ'a, projemizin gerçekleşmesindeki desteği için TÜBAP birimine sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ 1

GENEL BİLGİLER 4

TİROİD BEZİNİN EMBRİYOLOJİSİ 5

TİROİD BEZİNİN ANATOMİSİ 5

TİROİD BEZİNİN ATARDAMARLARI VE TOPLARDAMARLARI 7

TİROİD BEZİNİN LENFATİK DİRENAJI 8

BOYUN LENF GANGLİYONLARININ BÖLGESEL YAYILIMI 9

LARENGEAL SİNİRLERİN TİROİD BEZİ İLE İLİŞKİSİ 10

PARATİROİD BEZLER 11

TİROİD BEZİNDE MALİGN HASTALIKLAR 12

AZ DİFERANSİYE TİROİD KANSERLERİ 13

İNDİFERANSİYE (ANAPLASTİK) TİROİD KANSERLERİ 14

DİFERANSİYE TİROİD KANSERLERİ 15

PAPİLLER TİROİD KANSERLERİNDE EVRELEME 17

PAPİLLER TİROİD KANSERLERİNDE RİSK SINIFLANDIRMA 18

PAPİLLER TİROİD KANSERİNDE PROGNOSTİK FAKTÖRLER 20

PAPİLLER TİROİD KANSERİNİN MOLEKÜLER ÖZELLİKLERİ 21

PAPİLLER TİROİD KANSERİ VAKALARINDA TANISAL ÇALIŞMALAR ... 24

PAPİLLER TİROİD KANSERİNDE TEDAVİ 29

MATRİKS METALLOPROTEİNAZ ENZİMLERİ 32

KANSERDE MATRİKS METALLOPROTEİNAZLARIN ROLLERİ 37

MATRİKS METALLOPROTEİNAZ-9 C-1562T GEN POLİMORFİZMİ..... 43
MATRİKS METALLOPROTEİNAZ-9 GLN279ARG GEN POLİMORFİZMİ .. 45
MATRİKS METALLOPROTEİNAZ-9 ARG668GLN GEN POLİMORFİZMİ .. 45
GEREÇ VE YÖNTEMLER..... 46
BULGULAR 65
TARTIŞMA..... 93
SONUÇLAR..... 101
ÖZET 106
SUMMARY 108
KAYNAKLAR 110
ŞEKİLLER LİSTESİ..... 125
ÖZGEÇMİŞ 130
EKLER

SİMGE VE KISALTMALAR

Bç **:** Baz çifti

DNA **:** Deoksiribonükleik Asit

kDa **:** Kilodalton

mCi **:** Milicurie

MMP **:** Matriksmetalloproteinaz

OD **:** Optik Dansite

PTK **:** Papiller Tiroid Kanseri

PZR **:** Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RFLP **:** Restriction Fragment Length Polymorphism

RNA **:** Ribonükleik Asit

TSH **:** Thyroid Stimulating Hormone

USG **:** Ultrasonografi

UV **:** Ultraviyole

GİRİŞ VE AMAÇ

Tiroid bezi, boyun orta hattında bulunan, 20 - 25 gram ağırlığı ve iç salgı özelliği olan organdır. Tiroid hormonlarının metabolizmasında düzenleme rolünü üstlenmektedir. Toplumda yaklaşık olarak her 10 kişiden 3'ünde tiroid bezi hastalıkları bulunmaktadır. Çoğunlukla bu hastalıklar herhangi bir belirti göstermemektedir. Fakat bazı tiroid bezi nodülleri kanser şeklinde oluşmakta ya da ilerleyen süreçte kansere dönüşebilmektedir. Tüm kanser vakalarının tamamının %1 ya da daha azında tiroid kanserleri görülmekte iken endokrinolojik kanser vakalarının %90'dan fazlasında tiroid kanserleri görülmektedir. Nadiren çocuklarda görülse de, yirmi yaş üzerindeki kişilerde görülme sıklığı artmaktadır. Tiroid nodülü görülme sıklığı palpasyonla %1-5 aralığında iken ultrasonografi kullanıldığında tiroid nodülü görülme sıklığı %19-40'a kadar yükselebilmektedir. Bu nodüllerin %3-5'inde tiroid kanseri saptanmaktadır. Tiroid bez kanserlerinde başlıca 4 kanser tipi görülmektedir. Bunlar; papiller, folliküler, medüller ve anaplastik tip tiroid kanserleridir. Tiroid kanserlerinin büyük bölümü (yaklaşık %80) papiller tiptir. Papiller tip kanserler çoğunlukla 20 - 50 yaş aralığında görülmektedir. Erkeklere oranla, kadınlarda görülme olasılığı 3 kat fazladır. Papiller tip troid kanser dokuları, bazen 1 cm altında herhangi bir belirtisi olmadan uzun süre kalabilir. Tiroid kanserlerinin büyük kısmı cerrahi yöntemlerle tedavi edilebilmektedir. Total tiroidektomi yöntemi sayesinde tiroid bezinin tamamı çıkarılmaktadır. Tiroid kanseri evresine göre radyoaktif iyot tedavisi uygulanabilmektedir. Genellikle 10 mm'den küçük mikrokarsinomlarda tiroid hormon süpresyon tedavisinden başka bir tedavi uygulanmamaktadır (1).

Matriks metalloproteinazlar (MMP'ler), dokular arasında, bazal membran kollajenlerinde, proteoglikanlarda, fibronektinde ve lamininde ekstrasellüler matriksteki

proteinlerin bileşenlerinin yıkımında görevli kalsiyum ile aktifleşen ve çinko bağımlı endopeptidazlardır. Bu özelliklerinden dolayı embriyo gelişiminde, doğumda, büyümede ve yara iyileşmesinde önemli rol oynamaktadırlar. MMP'ler ile kendi inhibitörleri arasında denge bozulması durumunda, pulmoner hastalıklar, inflamasyon, artrit, fibrozis ve kanser gibi çeşitli patolojik durumlar ortaya çıkmaktadır. Şimdiye kadar 28 farklı MMP tanımlanmıştır. Bunlar yapı ve substrat özgüllüklerine göre; kollajenaz, jelatinaz, stromelisin, matrilisin, membran tip MMP ve diğer MMP'ler şeklinde 6 adet alt grupta incelenmektedirler. MMP-9'lar (jelatinaz B), jelatinazlar grubunda bulunmaktadırlar. Jelatinazlar, denatürasyona uğramış kollajenleri ve jelatinleri parçalayabilmektedirler (2). Enzim yapıları katalitik uçta lokalize olan tip II fibronektin kısmının üç kere tekrar edilmesi sonucu oluşmaktadır. Bu yapılarından dolayı jelatin, laminin ve kollajene bağlanabilmektedir. MMP-9'lar tip I, tip II ve tip III kollajenazları parçalamaktadır. MMP-9'lar, normal ya da patolojik durumlarda, matriks yıkımı ve tekrar oluşumu süreçlerinde aktiftirler. Mensturasyon esnasında endometriyumda, memede, uterusta ve prostattaki dokularda yüksek miktarda MMP-9 enzimi bulunması bu duruma örnek olarak gösterilebilir. Ayrıca MMP-9'ların, kemiğin ya da kıkırdağın hasar alması durumunda bağ dokunun gelişiminde de etkisi olmaktadır. Tümör migrasyonu ve invazyonu durumunda önemli rolü olan MMP-9'ların, anjiyojenez ve metastaz olması halinde de bir çok süreçte önemli rolleri olmaktadır. Anjiyojenez, mikrovasküler endotelyumun, subendotelyal bazal membranın ve perivasküler stromanın birbirleri ile etkileşmesi ile oluşmaktadır. Tümörlü hücrelerdeki büyüme faktörü salınımının endotelyal cevabı tetiklemesi sonucunda, tümörün gelişimindeki neoanjiyojenez uyarılmaktadır. Endotelyal hücreler ise migrasyon sonucunda MMP-9 üretmektedirler. Üretilmiş olan MMP-9'lar ekstrasellüler matriks ve bazal membran yıkımında rol almaktadır. Bilindiği üzere metastaz olması durumunda ana tümörden salınan diğer tümör hücrelerinin, kan damarları içerisinde ve dolaşımda bulunması, uygun mikroçevreyi yakalaması ve kapiller endoteline adezyonu gerekir. Tümörlü hücrelerin hücre dışı matriks duvarına yayılabilmesi için ilk olarak subendotelyal matrikse bağlanması gerekir. MMP-9'ların aracılığı ile proteolitik defektlerin ortaya çıkması ve hücrelerin de bu bozukluklar sürecinde göç etmesi sonucu metastaz olayı gerçekleşir (3).

MMP-9'lar tümör invazyonu ve metastaz süreçlerinde görevi dolayısıyla bu çalışmada, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji polikliniğinde takip edilen papiller tiroid kanseri tanısı olan hastalardan (hasta grubu) ve endokrinoloji/dahiliye polikliniğine başka nedenlerle başvuran, bilinen tiroid hastalığı öyküsü olmayan, tiroid

fonksiyon testleri normal olan kişilerden (kontrol grubu) alınan kan örneklerinden DNA izole edilerek, MMP-9 C-1562T, MMP-9 Gln279Arg ve MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmlerini araştırmayı, bu polimorfizmlerin papiller tip tiroid kanseri hastalığının gelişmesindeki olası rolünü tespit etmeyi ve "Bu polimorfizmler, hastalığın erken teşhisinde bir biyobelirteç şeklinde kullanılabilir mi?" sorusuna yanıt bulmayı amaçladık.

GENEL BİLGİLER

Tiroid bezi ile ilgili bilgiler, yaklaşık 3500 yılı aşkın süredir bilinmektedir. Önceleri tiroid bezinin, beyne giden kanı biriktiren bir depo görevi görerek beynin şişmesini engellemesi, larenksin kayganlaşması ve kadınların boyun bölgesinin daha güzel görünmesi görevleri olduğu tahmin edilmiştir. Çok eski zamanlardan günümüze ulaşan belgelerden, milattan sonra 1. yüzyılda yazılmış olan Celcus Roman Ansiklopedisi'nde, ilk kez boyun kısmında bulunan kitlelerin varlığından söz edilmiş ve ameliyat ile bu kitlelerin bulunduğu yerden alınmasının çok tehlikeli olacağı bildirilmiştir (4).

12. yüzyılda İtalya'da bulunan Salerno Tıp Okulu, büyük boy guatrların tedavisinde seton yöntemi yapılmasını ve deniz yosunlarının kurutulmuş veya yakılmış şekilde kullanılmasını önermiştir.

19. yüzyılın ikinci yarısına kadar boyun kitlelerinin ameliyat ile alınmasını başarılı olarak tanımlayan herhangi bir belge olmamakla birlikte, bu girişimlerdeki amacın hastaların boğulmasını engellemek olduğu bildirilmiştir.

1971 yılında fransız Pierre Joseph Desault, ilk kez parsiyel tiroidektominin başarılı olduğunu rapor etmiştir (5).

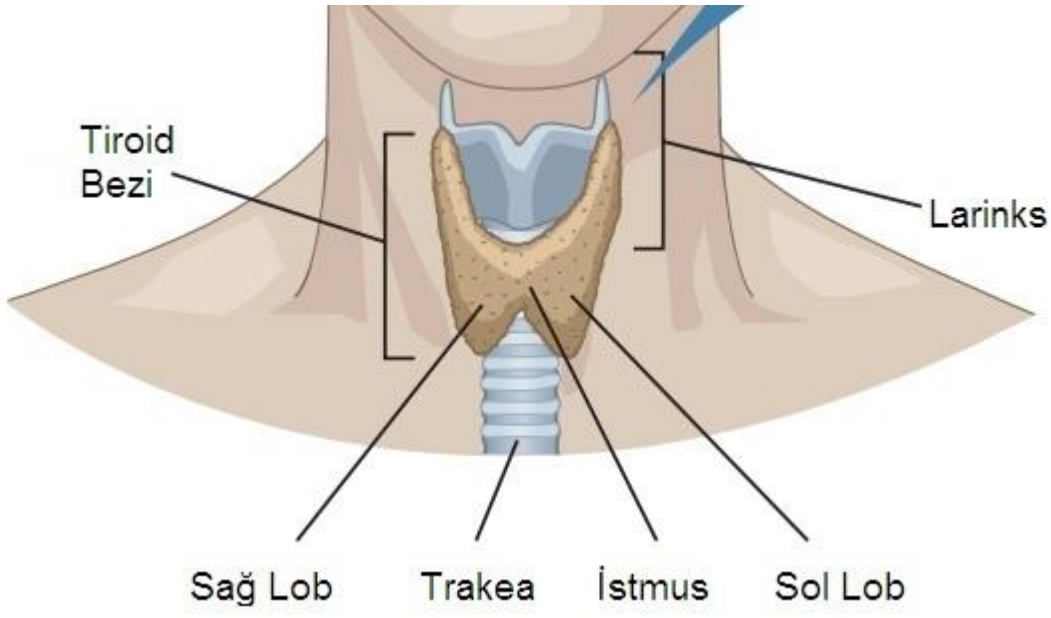
Tiroidektomi hakkında ilk çalışmaları Emil Theodore Kocher, Christian Albert ve Theodore Billroth 1841 ve 1917 yılları arasında yapmışlardır. Bu üç bilim insanından biri olan Emil Theodore Kocher, tiroidektomi sonucu %40'ı aşan ölüm oranına karşı, 1850-1877 yıllarında toplam 146 tiroidektomide yaklaşık olarak %21'lik ölüm oranını ve son olarak 1898 yılı bildirmiş olduğu 600 tiroidektomide %0.5 ölüm oranını yakalamış ve bu başarısından dolayı 1909 yılında Nobel bilim ödülüne layık görülmüştür (6).

TİROİD BEZİNİN EMBRİYOLOJİSİ

Farengeal keseler ve brankial arkusun oluşması sırasında 24 gün sonunda primitif farenksin alt orta kısmında, öncelikli 2 kesenin ortasında tiroid bezi divertikül biçiminde şekillenir ve ventral yönünde gelişir. Divertikül bölümü foremen caecum şeklinde dilin kök kısmına çıkar. Divertikül kesesinde distalde bulunan hücreler seri bir şekilde ürerler ve böylece distal ucu kapanır, büyüme lateraller ve divertikül ventrale doğru genişler ve böylece çift kısımlı tiroid bezi oluşur. Boynun tam orta kısmında larenks ve hiyoid iskeletini oluşturacak olan oluşumların ön bölgesinden inferior tarafına doğru ilerler (7). 6. haftanın sonunda 3. farengeal kesenin sırt bölümü inferior paratiroidler, karın bölümü ise primitif timus şeklinde farklılaşır. Tiroid bezi inferior tarafına ilerlerken dördüncü ve beşinci farengeal keseler, ultimobrankial cisimcikler aracılığı ile yanal bileşenlere birleşir. Bahse konu yanal bileşenler tiroid bezinin kalsitonin üretebilme yeteneği olan parafoliküler C hücrelerine dönüşür. İnferior paratiroidler timus beraberinde farengeal duvarından salınarak ve timustan ayrılarak tiroid inferioruna yerleşir. Böylece timus inferiora iyice yaklaşarak mediastene geçer. Tiroid bezindeki foliküller hamileliğin ortalama 10. haftasında ortaya çıkar. Hamileliğin 12. haftasında ise iyot emilimi ve kolloidin üretilmesi başlamış olur. Hamileliğin 13. haftasında ise kandaki tiroid uyarıcı hormon saptanabilir. Doğum olayı sonrasında salgılanan tiroid hormon miktarları birkaç hafta içerisinde erişkin seviyesine ulaşır (8).

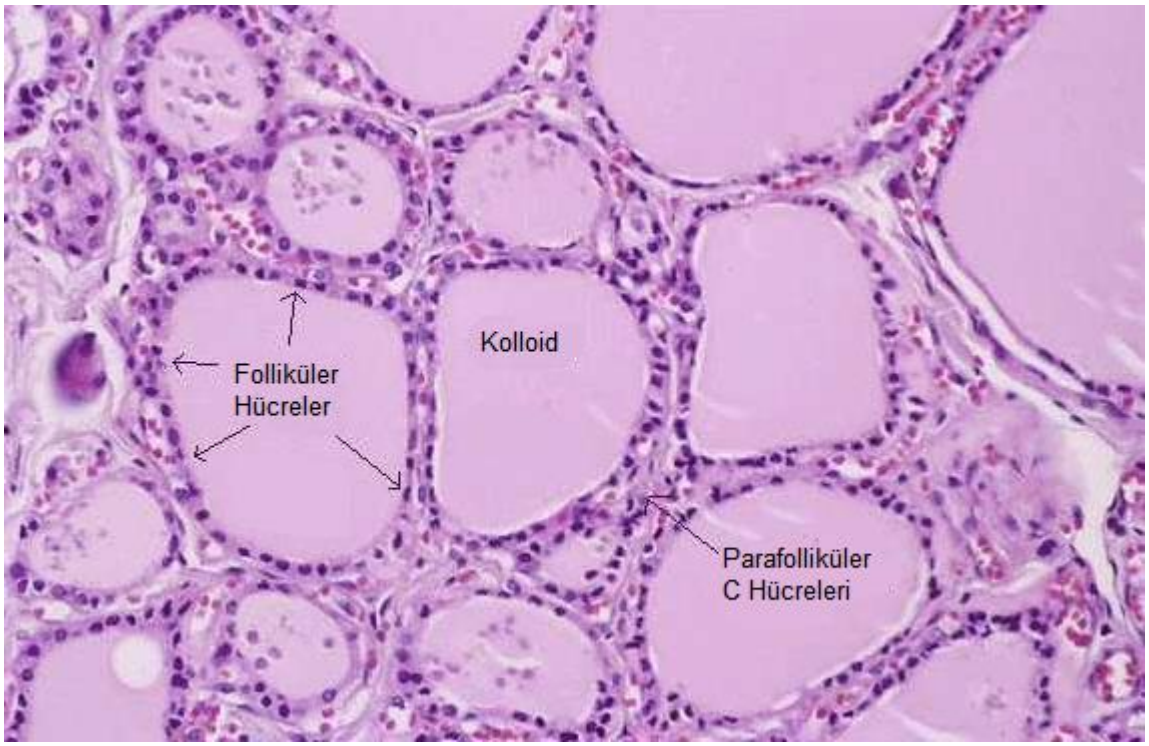
TİROİD BEZİNİN ANATOMİSİ

Tiroid bezi, boyun orta hattında bulunan, yaklaşık olarak 20 ila 25 gram ağırlığında ve iç salgı fonksiyonuna sahip olan bir organdır. Tiroid hormonlarının metabolizmasının düzenlenmesinde rolü vardır. İstmusun desteği ile orta kısımda birleşme gözlemlenir. Bazı kişilerde anatomilerinden dolayı istmus olmaksızın iki ayrı lobun da gözlemlendiği olabilmektedir. Loblar yaklaşık 50 - 60 mm uzunluğunda ve maksimum 20 mm genişliğindedir. Hamilelik ve menstrüasyon süreçlerinde bezdeki büyümenin doğal olduğu kabul edilmektedir. Konik şekilli lob, orta bölümde dil kemiğine doğru yönelir. Konik lob çoğunlukla sol lobdan destek almaktadır (Şekil 1).



Şekil 1. Tiroid bezi bölümleri (9)

Bezin iki lobu da trakea yanlarında lokalize, üst bölümünde tiroid kıkırdağı, yanlarda karotis kılıfı ve sternokleidomastoid kaslar, ön tarafta ise infrahiyoid kaslar bulunmaktadır. Arka tarafta ve orta bölgede özofagus ve trakea ile sınırlıdır. Bezin etkileşimde olduğu dokulardan kolaylıkla kesip alınabilme olanağı vardır. Ancak her ne kadar diseke edilebilirliği kolay olsa da berry ligamenti adı verilen posterior süspansuar ligament ile krikoid kartilaja ve trakea halkalarına güçlü şekilde bağlıdır. Zuckerkandl tüberkülü, bezin yanal loblarının arka tarafında uzantı şeklinde ve berry ligamenti ile birleşiktir. Bunun nedeni ise; rekürren sinirin, tüberkülün postero-medialinde bulunmasıdır (10). Tiorid bezinin asıl kapsülü, bez ile birleşik şekilde fasia profundanın alt bölümünde lokalizedir. Bezi, lobüller ve loblara ayırır. Lobülleri ortaya çıkaran foliküller, bezin fonksiyonel kısımlarıdır. Foliküller epitelyumca bezenmiş ve mevcut kolloidi kısıtlayan yapılardır (Şekil 2). Kolloid, iyodotiroglobülin, glikoproteinler ve tiroid hormonları içermektedir. Kolloid hematoksilen-eozin boyama tekniği ile pembemsi bir renge dönüşür. Parafolliküler C hücreleri kalsitonin hormonunu, folliküler hücreler ise kolloid yapıyı salgılamaktadır (11).

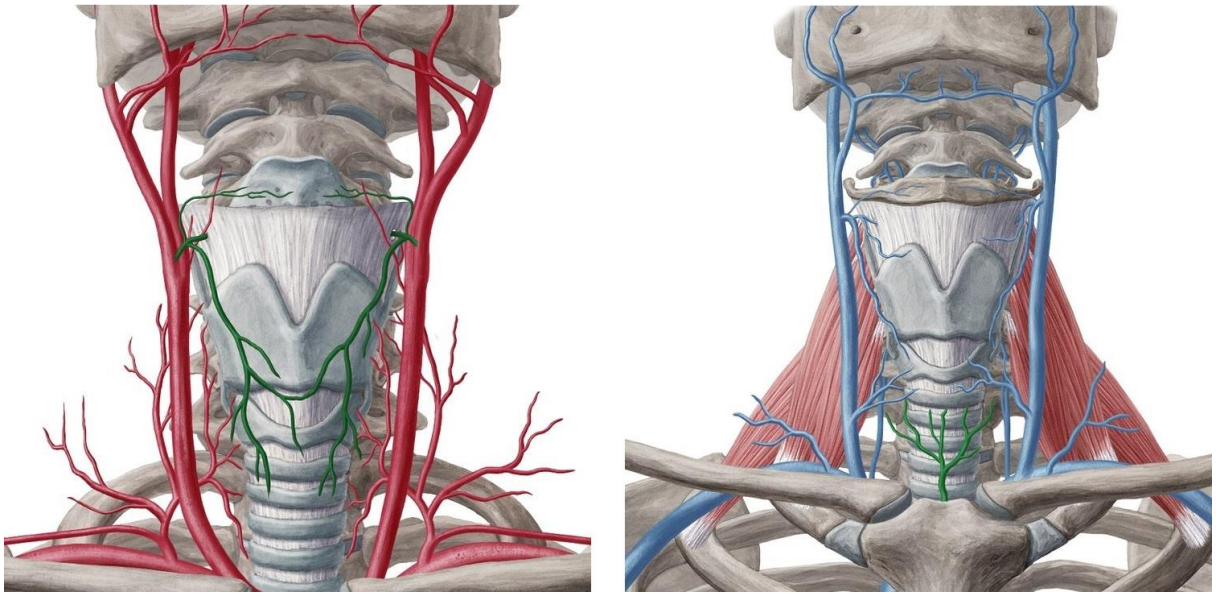


Şekil 2. Tiroid bezinin hematoksilen-eozin boyama ile elde edilen görüntüsü (12)

TİROİD BEZİNİN ATARDAMARLARI VE TOPLARDAMARLARI

Tiroid bezi temelde dört ana damar ile beslenmektedir. Arteria karotis eksternada birinci dal olan ve karotid damardan çift dallanma biçiminde ayrışan süperior tiroid damar, bezin superiorunda çift dallanma yaparak glandı beslemektedir. Subklavian damarların tiroservikal dallanmalarından uzanan inferior tiroid damar, glanda arka ve alt bölgelerden girerek glandı besler. Bazen de arteria tiroidea ima, brakiosefalik arter veya arkus aortadan çıkıp, trakeanın ön tarafından devam ederek glandı beslemektedir (13). Dış tarafta bulunan karotid damarın birinci dalı olan superior tiroid arter, tiroid kıkırdağının tam üstünden çıkış yaparak, iki tiroid lobunun da üst kısmı doğrultusunda farengeal inferior konstriktör kasların da ortasından geçerek inferior tarafına ilerler. Superior troid arter, nervus larengeus superiorun dış tarafındaki dalı ile birlikte çalışmaktadır. İnferior tiroid arter, subklavian arterden çıkan trunkus tiroservikalisin bir dalıdır ve çoğunlukla orta lateral pozisyonda tiroide girer. Yoluna karotis kılıfının arka kısmından üst kısmına doğru devam eder. Krikoid kartilaj derecesinde karotid damarı arka taraftan çapraz şekilde geçerek medial tarafına ilerler ve inferior tiroid artere doğru ilerleyip tiroid alt polüne ulaşır. Larengeal sinirin rekürren olduğu durumlarda inferior arter, larengeal siniri çapraz şekilde sarmaktadır. Atardamarlara kıyasla tiroid bezinde oldukça fazla toplardamar bulunmaktadır. Toplardamar akımı üst tiroid toplardamarlardan, orta kısımda bulunan median tiroid toplardamarlara ve buradan da iç

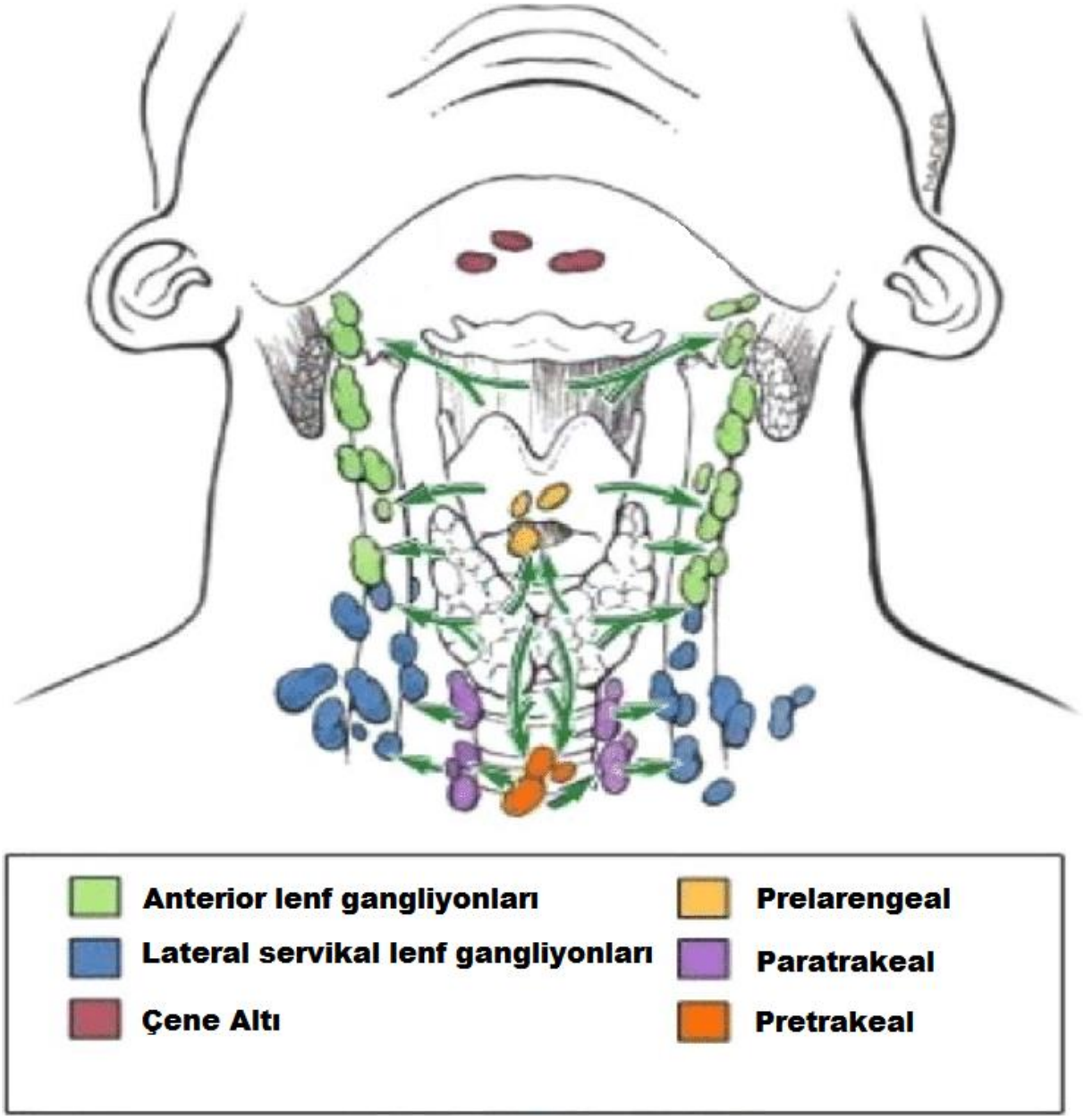
kısımdaki juguler venlere doğru olmaktadır. Alt venler ise venöz pleksus oluşturarak brakiosefalik vene drene olur (14) (Şekil 3).



Şekil 3. Tiroid bezinin atardamar ve toplardamarları (15,16)

TİROİD BEZİNİN LENFATİK DİRENAJI

Tiroid bezi içindeki lenfatik kılcallar ilk olarak kapsülün alt bölgesindeki lenf kanallarına, buradan istmusa ve diğer lobtan gelen kanallarla birleşerek lenf damarlarına doğru geçiş yaparlar. Kapiller lenfatik sistem tiroid bezinden çıkarak doğrudan derindeki anterior lenf gangliyonlarına, oradan da doğrudan ya da dolaylı yollardan derin lateral servikal lenf gangliyonlarına boşalır. Tiroid bezinin üst kutup sıvı boşaltımı ise prelarengeal lenf gangliyonları yönündedir. Bu üst kutup sıvı boşaltımı bazen doğrudan üst internal boyun lenf gangliyonlarına doğru da olabilir. Bundan dolayı üst kutupta yerleşen papiller hastalıklar yaklaşık olarak %66 oranında lateral servikal lenf gangliyonlarında metastaz oluşturabilmektedir. Üst anteromedial bölge ve istmusun sıvı boşaltımı prelarengeal gangliyonlara, alt anteromedial bölgedeki sıvı boşaltımı da pretrakeal gangliyonlara doğru olmaktadır. Posterolateral kısmın sıvı boşaltımı ise paratrakeal gangliyonlara doğru olmaktadır. Çoğunlukla üst kutup ve istmus internal boyun lenf gangliyonlarına alt kutup ise pretrakeal ve paratrakeal lenf gangliyonlarına boşaltım yapmaktadır (13) (Şekil 4).



Şekil 4. Tiroid bezinin lenfatik direnajı (17)

BOYUN LENF GANGLİYONLARININ BÖLGESEL YAYILIMI

1. Bölge : "Submental ve submandibuler gangliyonlar" Submental grup digastrik kasın karın bölümü ile hiyoid kemiğin tepe bölümü aralığındaki lenf nodüllerini kapsamaktadır. Submandibular grup yine bu derece içinde varsayılır ve digastrik kas ile mandibular kemiğin alt tarafında oluşan üçgen alanda bulunan ve submandibular tükürük bezlerine komşu gangliyonları kapsamaktadır.

2. Bölge : "Üst juguler grup" İç juguler ve spinal aksesuar sinirinin tepe bölümü, hiyoid kemiğin ve karotid arter bifurkasyonun aralığında bulunan kısımdaki lenf nodlarını çevreler. Yan taraflardan da sternokleidomastoid kasının ön bölümüne doğru uzanmaktadır.

3. Bölge : “Orta juguler grup” Ön taraftan sternohiyoid kasın yanal kenarları, arka taraftan sternokleidomastoid kasın arka kenarları, üst taraftan hyoid kemik ve alt taraftan ise krikoid kartilajın alt kenarları ve omohyoid kastan oluşmaktadır.

4. Bölge: “Alt juguler grup” Ön taraftan sternohiyoid kasın yanal kenarları, arka taraftan sternokleidomastoid kasın arka kenarları, üst taraftan krikoid kartilajın alt kenarları ve omohiyoid kas ve alt taraftan da klavikuladan oluşmaktadır.

5. Bölge: “Arka Üçgen” Ön taraftan sternokleidomastoid kasın yanal kenarları, arka taraftan trapezius kasının öndeki kenarları, üst taraftan sternokleidomastoid ve trapezius kaslarının birleştiği kısım ve alt taraftan da klavikuladan oluşmaktadır.

6. Bölge: "Anterior Bölüm" Yanlardan arteria karotis kommunis, üst taraftan hiyoid kemik ve alt taraftan da suprasternal çentikten oluşmaktadır.

7. Bölge: "Üst Mediastinel Lenf Gangliyonları" Yanlardan karotis kılıf, üst taraftan suprasternal çentik ve alt taraftan da aort arkından oluşmaktadır (18).

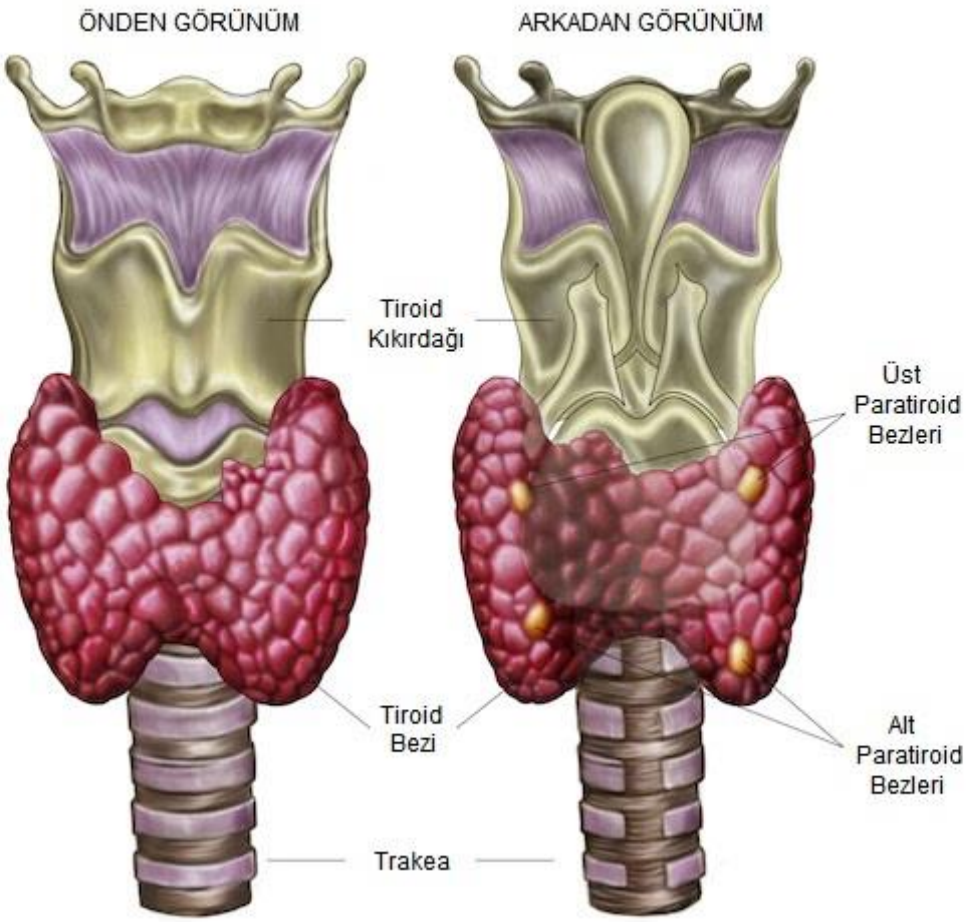
LARENGEAL SİNİRLERİN TİROİD BEZİ İLE İLİŞKİSİ

Tiroid bezi ile larengeal sinirler arasındaki bağlantı ve uyum çok önemlidir. Alt kısımda bulunan larengeal sinirler, larenksteki intrinsik kasların kasılıp gevşemesinden sorumlu olup, paralizi olması halinde ipsilateral vokal kordda fiksasyon ortaya çıkar. Üst kısımda bulunan larengeal sinirlerin dış tarafa doğru bakan kısmı ise krikotiroid kasların kasılıp gevşemesini sağlar, tiroidektomi sırasında zarar görebilir. Üst kısımda bulunan larengeal sinir genellikle üst kutuptan 1 cm daha üstte bulunmasna ve üst tiroid arterden iç tarafa doğru dönmesine rağmen arteri çevreleyebilir. Vagal sinirler, boynun sağ kısmında subklavyen damarın hemen yanında nervus laringeus inferior dallarını verirler, ancak bu dallar boynun sol kısmında bulunuyorsa arkus aortanın ön tarafından ayrılarak ve trakeaözefagial oluktan üst kısıma uzanarak krikoaritenoid eklemlerin yanından gırtlağa girer ve anterolateral ve posteromediyal biçiminde ikiye ayrışır. Bu durumda anterolateral kısım, krikotiroid kas dışındaki kaslarda motor innervasyonunu oluştururken, posteromedial kısım da subglottik bölgenin duysal sinir dağılımını sağlar (13). Dünya nüfusunun yaklaşık %1’lik kısmında, özellikle sağ bölümdeki subklavyen arterde anomali olması durumunda nonrekürren sinir oluşabilir. Bazen de dekstrokardi ve situs inversus ile birlikte olabilir. Eğer böyle bir durum olursa larengeal sinir, vagustan doğruca gırtlağa giriş yapar. Genellikle üst taraftaki tiroid arterlerine daha yakındadır ve üst kutuptaki arterlerin diseksiyon işlemi sırasında risk oluşabilir. Üst taraftaki larengeal sinirler, kafanın alt kısımında vagustan

ayrılmaktadır. Karotid arterlerin orta kısmından alt kısmına doğru ilerler. Tirohiyoid zar seviyesinde dışa doğru motor ve içe doğru sensitif dallanmaları oluşur. Dışa doğru olan dallanma krikotiroid kasının motor innervasyonuna sebep olurken, içe doğru olan dallanma da subglottik bölgenin üst kısmının duyusunu almaktadır. Krikotiroid kas, ses tellerinin gerilip gevşemesini sağlayarak ses seviyesini ayarlar. Vakaların yaklaşık %21'inde krikotioid kaslar, üst kutuptaki damarlı alana yakın olduğundan dolayı operasyon sırasında dikseksiyon işlemine tabii tutulmazsa tehlikeli şekilde hasar alma riski olur. Bu riski önlemek için üst kutupta bulunan damarlar birer birer tiroid bezin üst tarafına bağlanarak krikotirioid kasların alt kısmına doğru disekse edilmesi gerekmektedir (19).

PARATİROİD BEZLER

Paratiroid bezlerin alt kısımında olanlar 3. brankial poş tarafından gelişirken, üst kısımında olanlar ise 4. brankial poş tarafından gelişirler. İnsanların çoğunluğunda (yaklaşık %90) 4 adet, yaklaşık %6'lık kısmında 2 veya 3 adet ve yaklaşık %4'lük kısmında da 6 adet paratiroid bez olabildiği bilinmektedir. Her bir paratiroid bez yaklaşık olarak 25 veya 30 mg ağırlığındadır. 6x4x2 mm boyutlarındadır. Paratiroid bezinde kan damarlarının sayıca fazlalaşması sonucu bezin rengi kırmızı renge dönüşürken, bezde yağ oranının yükselmesi sonucu bezin rengi kahverengine dönüşebilmektedir. Alt kısımda bulunan paratiroid glandlar çoğunlukla inferior tiroid arterin, tiroid bezine giriş yaptığı yerde bulunurken, üst kısımda bulunan paratiroid glandlar çoğunlukla rekürren sinirin krikotiroid zarının girişine yakın ve üst tiroidal arterin üst kısmında bulunur (Şekil 5). Paratiroid glandın beslenme ihtiyacını genellikle üst ve alt paratiroid arterler karşılamaktadır. Alt kısımdaki bezlerin kan ihtiyacının yaklaşık %93'ü alt tiroid arterden sağlanırken, yaklaşık %7'si de üst tiroid arterden sağlanmaktadır. Üst kısımda bulunan paratiroid bezlerin kan ihtiyacının yaklaşık %85'i alt tiroid arterler tarafından sağlanmaktadır (20).



Şekil 5. Paratiroid bezleri (21)

TİROİD BEZİNDE MALİGN HASTALIKLAR

Tiroid bezi malignitesi her ne kadar endokrin malignitelerinde görülme sıklığı en çok olan hastalık olsa da bütün malignite hastalıklarda sadece %1'lik kısıma denk gelir. Eğer metastaz söz konusu ise yaşlılarda hayatta kalma oranını oldukça düşürmektedir. Tiroid bezindeki maligniteler birincil ve ikincil tiroid bez kanserleri olarak iki gruba ayrılabilir. İkincil tiroid bezi malignitesine çok sık rastlanmamaktadır. Başka nedenlerden hayatını kaybeden kişilere yapılan otopsilerde yaklaşık %12 oranında görülmektedir. Tiroid bezine en fazla gastrointestinal bölge, meme, böbrek ve akciğer malignitelerinin metastaz yaptığı bilinmektedir. Birincil tiroid bezi malignitesi 4 grupta incelenebilir. Bunlar;

1- Folliküler epitelyal hücre sebepli
2- Parafolliküler C hücreleri sebepli
3- Lenfoma
4- Diğer şeklindedir.

Folliküler epitelyal hücrelerin neden olduğu maligniteler, anaplastik, az diferansiye ve diferansiye tiroid kanserleri şeklinde gruplandırılabilir. Parafolliküler C epitel hücrelerin neden olduğu maligniteler ise medüller tiroid kanserleri şeklinde ayrı bir grupta incelenebilir. Birincil tiroid bez lenfomaları tiroid bezi malignitelerinin yaklaşık olarak %3'ünü, lenf düğümü dışında gelişen lenfomaların yaklaşık %2'lik kısmını oluşturmaktadır (22). Tiroid kanseri vakalarının yaklaşık %35-45'inde üst solunum yollarında yarı tıkanıklık, yutma zorluğu ve ses kısıklığı gibi semptomlar görülebilmektedir. Her ne kadar haşimato hastalığının tiroid lenfoma oluşumunda risk faktörü olduğu bilinse de tiroid sebepli lenfoma ile haşimato hastalığının ilişkisi henüz tam olarak kanıtlanamamıştır. Tiroid bezinde çoğunlukla B hücrelerinden kaynaklı Non-Hodgkin Lenfoma hastalığına rastlanılmaktadır. Bu hastalık ancak ince iğne aspirasyon biyopsisi ile teşhis edilebilmektedir. Tedavi şekline (kemoterapi ya da cerrahi) vakanın evresine bakılarak karar verilmelidir (23). Tiroid bezlerde olan malignitelerin tamamının %5-10'unu medüller tiroid hastalıklar oluşturur ve kökeni parafolliküler C hücreleridir. Tümör, kalsitonin, seratonin ve somatostatin sekrete edebilir. Alınan kan örneklerinden elde edilen serumdaki kalsitonin miktarının incelenmesinin teşhis ve izlemede yeri çok önemlidir. Histopatolojide, hücrelerin arasında kalsitonin toplanması devamlı karşılaşılaşılan bir durumdur. İnce iğne aspirasyon biyopsisi sayesinde hastalıkların %80'ine tanı konulabilir. Hastalıkların %75 kadarı gelişigüzel, %25 kadarı da aile kaynaklıdır. Aile kaynaklı olan vakalara, gelişigüzel olanlara göre daha genç yaşlarda tanı konulabilir. Gelişigüzel olan hastalıklarda ise ailesel olanların aksine tümör genellikle tek lob ile sınırlı ve tek merkezden gelişim göstermektedir. Medüller hastalıkta lenfatik dağılım en fazla merkezi kısım, sonra sırası ile ipsilateral, kontrlateral bölgeler ve üst mediastinal bölgede olmaktadır. Ana merkezi el ile kontrol edilerek anlaşılabilen olguların %75 kadarında aynı kısıma, %47 kadarında ise karşı kısıma doğru yayılım olmaktadır. Hematojen yayılma çoğunlukla beyin, yumuşak doku, akciğer, kemik ve karaciğerde olmaktadır. Medüller hastalıkta tiroid parafolliküler C hücrelerinde iyot tutulumu olmamasından dolayı radyoaktif iyot ablasyon verme işleminin yararsız olduğu bilinmektedir. Bu nedenle hastalıkta en etkin tedavi yöntemi cerrahi tedavi yöntemidir (24).

AZ DİFERANSİYE TİROİD KANSERLERİ

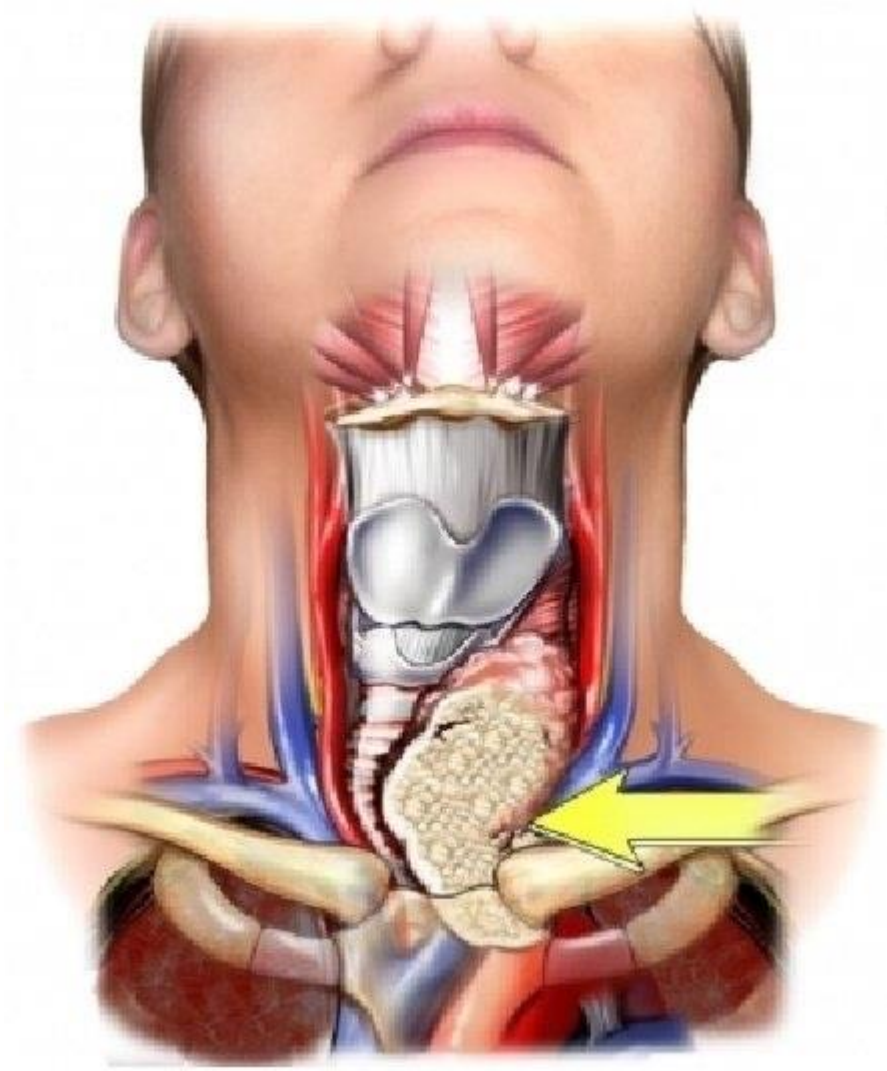
Görüntü ve davranma şekli ile anaplastik ve diferansiye karsinomlar aralığında tanımlanır. Bu tip kanserlerde her ne kadar ani ve agresif şekilde büyüme şikayetleri nadir olarak görülse de, çoğunlukla multinodüler guatr ve bunlarda büyüme şikayeti görülmektedir.

Teşhis esnasında hastaların %60'lık kısmında bölgesel yayılma ve lenf düğümlerinde metastaz, %50'lik kısmında ise vücudun diğer bölümlerinde metastazlara rastlanılmaktadır. Az diferansiye tiroid kanser vakalarında ince iğne aspirasyon biyopsisi neticesinde yaklaşık %90 kesinlik oranı ile preoperatif tanı konulabilir. İyot tutulumu gözlenen az diferansiye malignitelerinin tamamında ameliyat sonrası radyoaktif iyot ablasyon tavsiye edilmektedir. Eğer tümör tamamen çıkarılmazsa radyoaktif iyot ablasyon tedavisinden önce radyoterapi verilmesi elzemdir. Hastalık cerrahi müdahale yapılamayacak durumdaysa kemoterapi önerilebilir (25).

İNDİFERANSİYE (ANAPLASTİK) TİROİD KANSERLERİ

Tüm tiroid kanserlerinin %1-2'sinde anaplastik tiroid kanseri görülmektedir. Hastaların hemen hemen hepsinde kısa sürede büyüyebilen kitleler oluşmakta ve kitlelerin olduğu bölgelerde baskı bulguları ortaya çıkmaktadır. İnce iğne aspirasyon biyopsisi ile hastaların yaklaşık %90'ına tanı konulabilmektedir. Anaplastik tiroid kanser vakalarının %20'sinde diferansiye tiroid malignite geçmişi bulunmaktadır. Her ne kadar anaplastik tiroid kanser vakalarında cerrahi işlemlerin incelemeye herhangi bir etkisi olmadığı bilinse de, tiroidektomi sonrasında radyoterapi alınmasının yararlı olacağı düşünülmektedir. Trakeotomi işlemi yapılan hastalarda sık sık yara iyileşmesi esnasında ortaya çıkan sorunlar radyoterapinin daha geç başlanmasına neden olmaktadır. Bu nedenle nefes alıp vermede herhangi bir sorun yaşamayan hastalarda proflaktik trakeotominin yapılmasının uygun olmadığı düşünülmektedir (Şekil 6).

Boyun bölgesi ile birlikte vücudun diğer bölgelerine agresif bir şekilde hızla yayılan anaplastik tiroid kanser vakalarının tedavisi oldukça zordur ve bu şekilde olan anaplastik tiroid kanseri en ölümcül tiroid kanseri türüdür (26).



Şekil 6. İndiferansiye (anaplastik) tiroid kanseri (27)

DİFERANSİYE TİROİD KANSERLERİ

Farklılaşmış yani diferansiye tiroid bezi kanserleri papiller ve folliküler olmak üzere iki başlıkta incelenir.

Folliküler Tiroid Kanserleri

Tiroid kanserlerinin %5-10'unda folliküler tiroid karsinomuna rastlanmaktadır. Kan ile karaciğere, kemiklere, akciğerlere ve beyine yayılabilir. Genelde lenfatik yolaklarla metastaza sebep olmadığından boyun diseksiyonu gerekli değildir.

Folliküler tiroid kanserleri minimal invazif ve yaygın invazif folliküler tiroid kanserleri şeklinde sınıflandırılmaktadır. Eğer yalnız kapsülde tutulum bulunuyor ya da mikroskobik biçimde üçten daha az miktarda damarda tutulum varsa minimal invazif folliküler kanser olarak tanımlanmaktadır. Bunların dışında kalanlar ise yaygın invazif

folliküler tiroid kanserleri olarak tanımlanmaktadır. Minimal invazif folliküler tiroid kanserleri sağ kalım oranı olarak papiller mikrokanserlere benzerler. İnvazif folliküler tip tiroid kanserlerinde 10 yıllık sağ kalım oranı %80-85 aralığında olmaktadır. Folliküler karsinom tanısı kapsül - damar yayılımlarının tespit edilmesi neticesinde histopatolojik olarak konulabilmektedir. İnce iğne aspirasyon biyopsisi yapılarak folliküler tiroid kanserlerine tanı konması mümkün değildir. İnce iğne aspirasyon biyopsisi sonucu genellikle folliküler lezyon ya da folliküler neoplazm şeklinde bildirilebilir. Burada bildirilmiş olan folliküler lezyon veya neoplazmlar; kolloidal nodüller, folliküler kanserler, folliküler adenomlar ve folliküler kökenli papiller tiroid kanserleri arasında karışabilir. İnce iğne aspirasyon biyopsisi sonucunda neoplazm olduğu bildirilen durumlarda folliküler tiroid kanseri olma ihtimali yaklaşık olarak %20 kadardır.

Yeni ince iğne aspirasyon biyopsisi gruplandırmasına göre folliküler lezyonların incelenmesinde yeterli yönlendiriciler olmasına karşın patologların çoğunluğu bu gruplandırmayı tercih etmemektedir. Patalogların bu gruplandırmayı tercih etmemesi ya da gruplandırmayı tercih eden patalogların değerlendirmelerinde olan farklılıklardan dolayı operasyon kararı ve operasyonun büyüklüğü hakkında problemlerin devam etmesine sebep olmaktadır.

Folliküler tiroid kanseri tanısı için kapsülün her tarafının farklı derinliklerinden alınan doku örneklerinin detaylı bir şekilde tetkik edilmesi gerekmektedir. Bundan dolayı donmuş dokunun incelenmesinin hatalılık oranı yüksektir. Operasyondan önce yapılmış olan ince iğne aspirasyon biyopsisinin neden olduğu psödodamar ve psödokapsül invazyonunun, asıl invazyonun donmuş doku incelenmesinden ayırt edilebilmesi çok zor olduğundan, bazen hatalı pozitif sonuçlar elde edilebilmektedir. Bu yüzden folliküler tiroid kanserinin tanı aşamasında donmuş doku örneklerinin değerlendirilmesinin faydası olmamaktadır (28).

Papiller Tiroid Kanserleri

Papiller tiroid bezi kanserleri tiroid bezi kanserlerinin tamamının yaklaşık %75'ini, diferansiye tiroid bezi kanserlerinin ise tamamının yaklaşık %90'lık kısmını oluşturmaktadır. Bu tip kanserler çoğunlukla 20 - 50 yaş aralığında, özellikle kadınlarda, iyot miktarı yüksek yerlerde yaşayanlarda ve boyun kısmının radyasyona maruz bırakıldığı kişilerde görülmektedir. 45 yaşının altında olan kişilerin tamamına yakını hayatta kalmaktadır. Ancak 45 yaş ve üzeri kişilerde bu oran %90 üzerine kadar düşebilmektedir. Papiller tiroid bezi kanser vakalarında lenf gangliyon metastazlarına sıkça rastlanmaktadır. Ultrason ya da el ile

muayene neticesinde hastaların yaklaşık %25'inde lenf gangliyon metastazı bulgularına rastlanmaktadır. Papiller tiroid kanserli hastaların yaklaşık %55'inde malignite çok odaklıdır.

Papiller tiroid kanserleri; folliküler, makrofolliküler, diffüz sklerozan, tall cell, onkositik, kolumnar hücreli, solid, kribriform tip şeklinde varyete edilebilir. Bunların arasında diffüz sklerozan tip ve kolumnar hücreli tip olanlar saldırgan tip şeklinde değerlendirilirler. Her iki tipte de radyoaktif iyot tutulum minimumdur ya da sıfırdır.

Papiller tiroid kanserinde risk faktörleri; tümörün boyutu, lenf nodunun yayılması ve uzak yayılmaların birlikte değerlendirildiği TNM sınıflaması, yaş, metastaz, ekstratroidal yayılma ve tümörün boyutunun birlikte değerlendirildiği AMES sınıflaması, yaş, kanserin derecesi, ekstratiroidal invazyon - metastaz ve tümörün boyutunun birlikte değerlendirildiği AGES sınıflaması, metastaz, yaş, orijinal cerrahi rezeksiyonun tamlığı, invazyon ve tümörün boyutunun birlikte değerlendirildiği MACIS sınıflaması ile belirlenmektedir (29).

PAPİLLER TİROİD KANSERLERİNDE EVRELEME

Papiller tiroid bezi kanserlerinde genelde evreleme TNM sınıflamasına göre yapılır (Tablo1).

TNM sınıflamasına göre evreleme şu şekildedir:

T1: Tümörün çapı 2 cm ya da daha küçük.

T2: Tümörün çapı 2 cm ila 4 cm arasında

T3: Tümörün çapı 4cm'den fazla ancak tiroid bezinin içinde ya da tiroid bezinin dışında çok az yayılma

T4a: Tümörün çapı önemsenmeksizin tiroid bezi kapsülünün dışına yayılma, çevre yumuşak dokulara ve organlara yayılma

T4b: Tümörün mediastinal damar yapılarına, prevertebral fasiaya ya da karotid artere yayılması

TX: Tümörün çapı belirlenmedi, tiroid bezi dışına yayılma yok

N0: Metastatik lenfadenopati bulunmuyor

N1a: Merkezi bölgede metastaz var

N1b: Çift taraflı, karşıt taraflı, tek taraflı servikal ya da üst mediastinal lenf nodlarında metastaz var

NX: Ameliyat esnasında lenf nodlarına herhangi bir değerlendirme yapılmamış

MO: Uzak metastaz bulunmamaktadır

M1: Uzak metastaz bulunmaktadır

MX: Uzak metastaz kontrol edilmemiştir (30).

Tablo 1. Papiller tiroid kanserinin TNM sınıflamasına göre evrelemesi (31)

PTK EVRELEME:

	45 yaş altı	45 yaş üzeri
EVRE I	Herhangi T, Herhangi N, M0	T1, N0, M0
EVRE II	Herhangi T, Herhangi N, M1	T2, N0, M0
EVRE III	---	T3, N0, M0 T1, N1a, M0 T2, N1a, M0 T3, N1a, M0
EVRE IVA	---	T4a, N0, M0 T4a, N1a, M0 T1, N1b, M0 T2, N1b, M0 T3, N1b, N0 T4a, N1b, M0
EVRE IVB	---	T4b, Herhangi N, M0
EVRE IVC	---	Herhangi T, Herhangi N, M1

American Joint Committee on Cancer (AJCC)

PAPİLLER TİROİD KANSERLERİNDE RİSK SINIFLANDIRMA

Amerikan Tiroid Derneği'nin 2015 yılında papiller tiroid kanser vakalarında klinikopatolojik prognostik özelliklere göre risk grupları sınıflandırılmıştır (32) (Tablo 2).

Tablo 2. Amerikan tiroid derneğine göre papiller tiroid kanseri risk sınıflaması (32)

Düşük Risk	Orta Risk	Yüksek Risk
Lokal veya uzak metastaz yok	Peritiroidal yumuşak dokulara mikroskopik tümör invazyonu	Peritiroidal yumuşak dokulara makroskopik tümör invazyonu
Makroskopik tümörün tamamı çıkarılmış	Vasküler invazyon olan PTK	İnkomplet tümör rezeksiyonu
Çevre doku ve yapılara tümör invazyonu yok	I131 tedavisi sonrası ilk tüm vücut RAI taramasında tiroid yatağı dışında boyunda tutulum	Uzak metastaz
Agresif tümör histolojisi yok	Agresif tümör histolojisi	Uzak metastaz düşündüren postoperatif serum Tg yüksekliği
I131 verilmiş ise tedavi sonrası taramada tiroid yatağı dışında tutulum yok	Klinik olarak N1 veya en büyük çapı <3 cm olan >5 patolojik N1	Herhangi birinde en büyük çapı ≥3 cm olan patolojik N1 metastatik lenf nodu
Vasküler invazyon yok	Multifokal papiller mikrokarsinom, tiroid dışına yayılım, BRAF V600E	Yaygın vasküler invazyonu olan (>4 odak) FTK
Klinik olarak N0 veya ≤5 patolojik N1 mikrometastazlar (en büyük çapı <0,2 cm)		
İntratiroidal, enkapsüle folliküler varyant PTK		
Kapsüler invazyonu olan <4 vasküler invazyon odağı olan iyi diferansiye FTK		
İntratiroidal, tek veya multifokal papiller mikrokarsinom, BRAF V600E mutasyonlular dahil		

PAPİLLER TİROİD KANSERİNDE PROGNOSTİK FAKTÖRLER

Yaş

AMES, MACIS ve TNM sınıflandırmalarında yaşın, papiller tiroid kanseri vakalarında prognostik faktör olduğu kabul edilmektedir. 60 yaş üzerinde ve 30 yaş altında olan hastalarda hastalığın, diğer yaş grubundakilere göre daha kötü seyir ettiği, hastalığın tekrar etmesi ve mortalite oranlarının daha fazla olduğu bilinmektedir (33).

Cinsiyet

Papiller tiroid kanseri vakalarında erkeklerde kötü prognoz görünmektedir. Örneğin, diferansiye tiroid kanserli hastalarla yapılan, yaş ve cinsiyetin etkisinin beraber değerlendirilmiş olduğu bir çalışmada, yaşı 55'in altında erkeklerin kötü prognozunun bulunduğu, fakat yaşı 55 ve üzeri olan erkeklerde ise kötü prognozun bulunmadığı tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalar neticesinde kadınlar için ise menopoz öncesi dönemdeki hormonal durumun kadınlarda papiller tiroid kanseri prognozunun olumlu etkilenebileceği görüşüne varılmıştır (34,35).

Tümör Büyüklüğü

Papiller tiroid kanseri hastalarında tümörün büyüklüğü ile hastalığın kötü seyri doğru orantılıdır. Yani tümör büyüdükçe mortalite ve hastalığın metastaz oranı artmaktadır (36). Her ne kadar AMES sınıflama sisteminde tümör büyüklüğü 5 cm ve üzerinde olan vakalar kötü prognoz ile ilişkilendirilse de yapılan çalışmalarda eşik değeri 2 veya 4 cm kabul edilmiştir (37-39).

Yumuşak Doku Yayılımı

Papiller tiroid kanserinde tiroid dışında yayılım kötü prognostik faktörlerden biridir. Eğer papiller tiroid kanserli hastalarda yumuşak doku yayılımı mevcutsa mortalite artmaktadır. Trakeada ve özafagusda rekürren larengeal sinir tutulumu morbiditeye sebep olmaktadır. Tiroid dışında yayılım ne kadar genişse mortalite de o kadar artmaktadır (40). Yumuşak doku yayılımı hakkında yapılan ve 2084 hasta içeren çalışmada, tümörün çapı 4 cm'nin altında ve metastazı bulunmayan papiller tiroid kanserli hastalar değerlendirmeye alınmıştır. Çalışmadaki hastalar ekstratiroidal, strap kaslarına ve peritiroidal yumuşak dokulara yayılıma göre 3 grupta incelenmiş ve incelenme neticesinde de peritiroidal yumuşak

dokulara ve strap kaslarına yayılım olmasının lokal nüksü öngörmede etkin olacağı sonucuna varılmıştır (41).

Uzak Yayılım

Papiller tiroid kanserli hastalarda hava yolunda, boyunun büyük damarında, lenflerde ve sinir yapılarında ve uzak yayılımın olması mortalite oranını yükseltmektedir. Eğer metastaz akciğere kadar ulaşırsa, bu kişiler için 10 yıllık survey yaklaşık %40 kadardır (42). Beyinde metastaz olması en kötü prognozdur. Beyinde metastaz olursa hastaların hayatta kalma süreleri yaklaşık olarak 1 yıl olmaktadır (43).

Lenf Nodu Metastazı

Papiller tiroid kanserinde sentinel lenf nodunda metastaz görülmesi oranı yaklaşık %55 kadardır. Bu hastalarda görülen lenf nodu metastazı kötü prognoz olarak değerlendirilmektedir. Metastaz görülen lenf nodu sayısı, büyüklüğü ve lenf nodunun dışında olan yayılım, hastalığın teşhis ve tedavisinde önemli rol almaktadır. Metastaz olan lenf nodunun büyüklüğünün 3 cm üzerinde olması, uzak organlarda metastaz ve nüksetme olasılığını yükseltmektedir (44).

Histolojik Alttip

Histolojik varyantı agresif olan papiller tiroid kanser vakalarında hastalığın seyri daha kötü olmaktadır. Tall ve kolumnar cell, diffüz sklerozan ve solid varyantlar bu tip histolojik varyantlara örnek gösterilebilir. Bunlar kapsülün dış tarafına doğru yayılma, tümörün büyük olması ve uzak yayılım gibi özelliklerinden dolayı diğerlerinden ayrılmaktadır. Papiller tiroid kanser varyantlarından en agresif olanı ise tall cell varyantıdır ve BRAF V600E mutasyonu ile bağlantılı ve daha metastatiktir. Hastalığın teşhisi sırasında lokal veya uzak yayılım ihtimali oldukça fazladır (45). Kolumnar cell varyantı genellikle ileri yaştaki kişilerde görülür ve diğer varyanlara göre daha fazla yayılım göstermektedir. Radyasyona maruz kalma sonucu oluşan papiller tiroid kanseri vakalarında solid varyanta daha fazla rastlanmaktadır. Ayrıca bu varyantın akciğer uzak yayılımı ile alakalı olduğu da bilinmektedir (46).

Diğer Faktörler

Tiroidin tamamen çıkarılmasının ardından hastaların serum tiroglobulin seviyelerinin artması, hastalığın nüksetme riskini arttırmaktadır. Eğer tümör çok odaklıysa bu tip

tümörlerin daha agresif olmasından dolayı çoğunlukla merkezi ve yan lenf nodlarına metastaz olabilmektedir. Çok odaklı tümör oluşumlarının artması papiller tiroid kanseri için hastalıksız hayatta kalma oranını azaltmakta ve hastalığın yinelemesi oranını arttırmaktadır (47).

PAPİLLER TİROİD KANSERİNİN MOLEKÜLER ÖZELLİKLERİ

B Tipi Raf Kinaz (BRAF) Mutasyonu

Papiller tiroid kanser vakalarında genellikle görülen nokta mutasyonları arasında en sık karşılaşılanı BRAF V600E nokta mutasyonudur. BRAF V600E mutasyonu, papiller tiroid kanserinde invazyon, metastaz ve nüks gibi saldırgan klinik sonuçlar ile alakalıdır (48).

Ki 67 Proliferasyon İndeksi

Hücrelerin proliferatif aktivitelerinin değerlendirilmesinde Ki 67 rolü çok önemlidir. Ki 67 proliferasyon indeksi karsinoma gidişatını öngörmede, iyi huylu ve kötü huylu tümör tespitinde tercih edilmektedir. Papiller tiroid kanseri vakalarında çoğunlukla Ki 67 proliferasyon indeksi düşüktür ancak hastalık seyri kötüleştiğinde bu indeks yükselmektedir (49).

Müsin 15 (MUC15)

Epitelyal ya da bağ doku sebepli, glikoprotein ve mukoprotein karışımlarından oluşmuş mukusun ana maddesi olan müsinler, epitel hücrelerde enfeksiyonlar ve dehidratasyona karşı koruma görevi üstlenirler. Hücrenin üzerinde alıcı olarak, hücre apoptozunda ve hücrenin farklılaşmasında rolü vardır. Benzer şekilde kanser hücrelerinde de invazyon ve metastazdan korumada görev alır. Kötü izlemli olan papiller tiroid kanseri vakalarında MUC15 ekspresyonu artmaktadır. Bu artış ise papiller tiroid kanseri hastalığında uzak metastazın ve multifokalitenin nedenlerinden birisidir (50).

Galektin-3 (Gal-3)

Galektin-3, kanser çeşitlerinde deregülasyonu ile bilinen β-galaktozit bağlayan bir proteindir. Bu özelliği ile karsinomlu hücreler arasındaki bağlantının zayıflamasına ve bunun sonucunda da metastaza yol açmaktadır. Lenf nodunda metastaz olan papiller tiroid kanser vakalarında Gal-3 ekspresyonunun daha fazla olduğu bilinmektedir (51).

Rho ile İlişkisi Olan, Sarmal Bobin Bulunduran Protein Kinaz 1 (ROCK1)

Rho ile ilişkisi olan, sarmal bobin bulunduran protein kinaz geninde bulunan somatik mutasyonların karsinom gelişimi ve ROCK1 ekspresyonunun artmasının da malign kanser ile alakalı olduğu bilinmektedir. ROCK1 ekspresyon artışı mortalitenin de artmasına neden olmaktadır (52).

Hector Battifora Mesothelial-1 (HBME-1)

HBME-1, mezotelyal hücre membranının dış kısmında konumlanan, antijene göre aksiyon alan monoklonal antikor şeklinde tanımlanabilir. Papiller tiroid kanser vakalarında fazlalaşmış kapsül yayılım riski ile HBME-1 immün histokimyasal boyanma arasında ilişki bulunmaktadır (53).

Sitokeratin-19 (CK-19)

Sitokeratinler, epitelyal dokunun intrasitoplazmik hücre iskeletinde olan keratin proteinleridir. Hücrelerin mekanik strese direnmesine yardımcı olan ara filamanların önemli bileşenlerinden biridir. Hücre sinyal ve apoptozisine cevap vermektedirler. CK-19'un moleküler ağırlığı ortalama 40 - 56 kDa aralığındadır. Sitokeratin grubu üyesi olan CK-19, tümör markerı şeklinde de kullanılmaktadır. Papiller tiroid kanserli hastalarda CK-19 ekspresyonunun yükselmesi yaş, multifokallik ve tiroid bezi dışına yayılma gibi klinikopatolojik durumlarla uyumluluk göstermektedir (54).

RET/PTK Gen Rearranjmanı

En sık rastlanan RET/PTK gen rearranjmanı RET/PTK1 ile RET/PTK3'tür. RET/PTK3 Gen Rearranjmanına en fazla Çernobil faciasından sonra ortaya çıkan papiller tiroid kanser vakalarında rastlanmaktadır. Bu durum solid varyant ile doğrudan ilişkilidir (55).

Mikro RNA

Genom tarafından kodlanan, proteine dönüştürülmeyen 20 - 25 nükleotid uzunluğunda olan RNA moleküllerine mikro RNA (miRNA) denir. miRNA molekülleri, RNA müdahalesiyle gen ifadesinin transkripsiyon sonrasında negatif biçimde düzenlenmesinde, hücre çoğalmasında, apoptozisde, hücre farklılaşmasında ve metabolizma gibi farklı yolaklarda görev alırlar. Aynı zamanda miRNA ekspresyon seviyelerinin çeşitli kanser vakalarının başlamasında ve ilerlemesinde de rolü olduğu da bilinmektedir (56,57). Papiller

tiroid kanseri olan hastaların tümör dokularında mikroRNA 221, mikroRNA 222 ve mikroRNA 146b‘nin ekspresyonlarındaki artışların tiroid dışında olan yayılım ile pozitif ilişkisi vardır (58).

Telomeraz Ters Transkriptaz Promotör Mutasyonu

Yapısında bulundurduğu RNA'yı şablon şeklinde kullanarak her bölünme sonucunda kısalan telomer uçlarının korunmasında görevli enzime telomeraz denir. Telomeraz, telomerik DNA dizilerini doğrusal kromozomların uç kısımlarına ekleyerek DNA uzamasını sağlar. DNA ikileşmeleri ardından kromozomların boyları kısalır. Bu yüzden, DNA polimerazın ana zincirinin 3’ ucunda tekrar DNA sentezi başlayamaz. Telomeraz ters transkriptaz ise telomeraz RNA parçası ile beraber telomeraz kompleks yapısının en önemli kısmını içeren, telomeraz enzimi alt birimi şeklinde tanımlanabilir. Telomeraz ters transkriptaz, telomeraz aktifliğini düzenleyerek telomerin uzamasında kontrol edici görev üstlenmekte ve kötü huylu hücrelerin gelişigüzel şekilde çoğalmasını engellemektedir. Telomeraz ters transkriptaz promotör mutasyonunun, papiller tiroid kanserinde hücre çoğalması ve metabolik farklılaşmalar ile doğru orantılı olduğu bilinmektedir (59). Ayrıca telomeraz ters transkriptaz mutasyonunun BRAF V600E mutasyonu ile birlikte yer aldığı papiller tiroid kanseri vakalarında hastalık seyri daha agresif olmaktadır (60). Papiller tiroid kanseri vakalarında ilerlemiş evrelerde ve uzak metastaz durumlarında telomeraz ters transkriptaz promotör mutasyonu tümörün nüksetmesinde ve mortalitenin artmasında etkili olmaktadır (61).

Matriks Metalloproteinaz-9

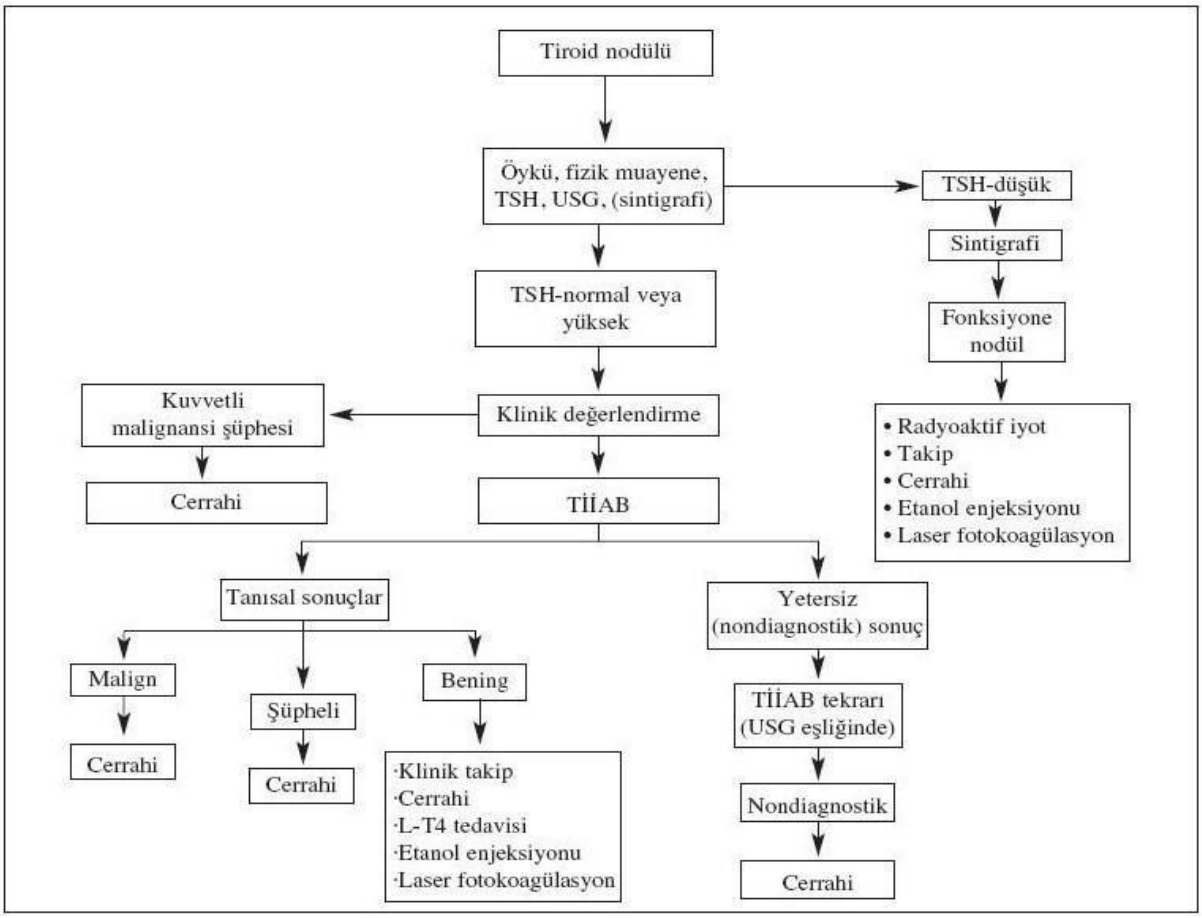
Matriks metalloproteinazlar anjiyogenez, invazyon ve metastazda rol oynamaktadırlar. MMP’lar arasında en çok bilinenlerinden birisi, 92 kDa jelatinaz, 92 kDa tip IV kollajenaz veya jelatinaz B isimleri ile bilinen, hücre dışı matriksin bozulmasında rol oynayan çinko-metalloproteinaz ailesine ait bir enzim sınıfı olan matriks metalloproteinaz-9’dur. Papiller tiroid kanser vakalarında immünhistokimyasal olarak artış gözlenen matriks metalloproteinaz-9’un merkezi lenf nodu ve lateral lenf nodu metastazı ile ilişkilidir. Ayrıca mortalite ile metalloproteinaz-9 arasında doğru orantı olduğu da bilinmektedir (62).

PAPİLLER TİROİD KANSERİ VAKALARINDA TANISAL ÇALIŞMALAR

Tiroid nodülü şüphesi olduğunda ilk olarak hastanın tiroid bezinde ve diğer komşu lenf gangliyonlarında inspeksiyon ve palpasyon muayenesi yapılır. Yapılan bu muayenelerden

sonra görüntüleme yöntemlerine ve laboratuvar analizlerine başvurulur. Lüzum görülürse ince iğne aspirasyon biyopsisi de yapılabilir. Yapılan uygulamaların tamamı, tiroid bezindeki nodülün düşük ya da yüksek kanser riskinin olup olmadığını tespit etmeyi amaçlamaktadır. Aynı zamanda hastalığın tedavi yönteminin (ilaç ya da cerrahi) belirlenmesinde yardımcı olmaktadır (Tablo 3).

Tablo 3. Tiroid nodül vakalarında tanı ve tedavi yaklaşım şeması (63)



Laboratuvar Testleri

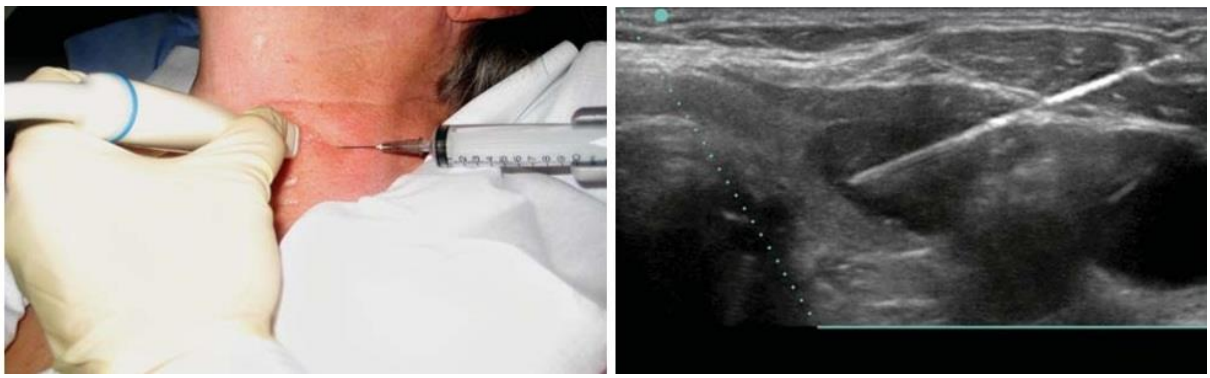
Tiroid bezinde nodül bulunması veya nodül oluşması ihtimali bulunan durumlarda mutlaka tiroid uyarıcı hormon (TSH) seviyeleri kontrol edilmelidir. Eğer TSH seviyesi yüksekse tiroid bezindeki nodülde malignite olasılığı da bir o kadar yüksektir. Hipotiroidi bulunan nodüler tiroid hastalarda malignite olasılığı %11'in üzerindedir. Ötiroidi ve hipotiroidi olan hastalardan alınan kan örneklerinden tespit edilen TSH değerlerinin düşük olması ile malignite olasılığının da düşük olması doğrudan ilişkilidir (64). Laboratuvarda yapılan testlerden bir diğeri de kalsitonin seviyesi ölçümüdür. Kalsitonin, medüller tiroid kanserinin tanısı, tedavisi ve izlem noktası aşamalarında çok önemli bir belirteç şeklinde kullanılmaktadır (65).

Ultrasonografi

Tiroid bezinin değerlendirme aşamasında kullanılan en güvenilir görüntüleme yöntemi ultrasonografidir. Cerrahi müdahale planlanan hastalarda, işlem öncesinde servikal lenf nodlarında metastaz olup olmadığının tespiti için ultrasonografi yapılmaktadır. Eğer ultrasonografi neticesinde normal boyut dışında lenf nodlarına rastlanılırsa mutlaka ince iğne aspirasyon biyopsisine ya da tiroglobulin yıkama yöntemine başvurulur (66).

İnce İğne Aspirasyon Biyopsisi

Tiroid bezindeki nodüllerin değerlendirilmesinde, kötü huylu veya iyi huylu tümör tespitinde ve tespit edilen vakalarda cerrahi operasyon yapılıp yapılmayacağına karar verilmesinde ince iğne aspirasyon biyopsisi yöntemi sıklıkla kullanılmaktadır. İnce iğne aspirasyon biyopsisinin yaygınlaşmasıyla birlikte cerrahi müdahalelerde yaklaşık %55 daha azalma olmuştur. Cerrahi operasyon sonucu tespit edilen tiroid kanser vakaları da iki – üç kat kadar yükselmiştir. İnce iğne aspirasyon biyopsisi yönteminin 0,5 cm'nin altındaki nodüllerde hassasiyeti ve doğru sonuç oranı yetersiz kaldığından 0,5 cm altındaki nodüllerde bu yöntem önerilmemektedir. Nodül boyutu 1 cm ve 1 cm'den fazla ise ince iğne aspirasyon biyopsisi önerilir. Nodül boyutu 0,5 – 1 cm aralığında olan ve yüksek risk faktörleri bulunan vakalarda da yine ince iğne aspirasyon biyopsisi yapılmalıdır (67). Boyunun ultrasonografisinde tiroid bezindeki nodüller ve patolojik görüntülü gangliyonlardan ince iğne aspirasyon biyopsisi yapılabilmektedir. Bu işlemin yapılması için öncelikle hasta sırtüstü yatırılır, boyun kısmı açık olacak şekilde başın ve vücudun konumu ayarlanır. Bu işlem sonrasında lokal anestezi yapılır. İğnenin lenf gangliyonunun içerisine girmesinden sonra enjektöre 4 - 5 ml civarında negatif basınç uygulanarak aspirasyon işlemi yapılmış olur (Şekil 7).



Şekil 7. İnce iğne aspirasyon biyopsisi uygulama ve ultrasonografi görüntüsü (68)

Pozitron Emisyon Tomografisi

Pozitron emisyon tomografisi yöntemi ile dokulardaki metabolik aktiviteyi, perfüzyonu ve canlılığı vücudun içerisine herhangi bir alet yerleştirmeden görüntülemek mümkündür. Florodeoksiglukoz (18F) pozitron emisyon tomografisi, kitlelerin iyi huylu mu yoksa kötü huylu mu olup olmadığının tespitinde, vakanın evrelenmesinde, rekürrensin teşhis ve tedaviye yanıt derecesini analiz etmede günümüzde sıklıkla uygulanmakta olan bir yöntemdir. Bu yöntemde bahsi geçen 18F, pozitron yayan radyonüklid flor-18'in, glukoz molekülündeki C-2 pozisyonundaki normal hidroksil grubu yerine lokalize olmuş bir glukoz analoğudur. 18F'in dokular tarafından alımı, belirli doku metabolizması türleri ile yakından ilişkilidir. Kötü huylu dokulardaki glukoz metabolizmasında 18F, tıpkı glukoz gibi hücre içine alınarak ve fosforillenerek sitozolde hapsolur.

Onkolojik olgularda pozitron emisyon tomografisi görüntüleme yöntemi; başlangıç bölgesi belirli olmayan metastaz olmuş lezyonlardaki ana tümör ve metastazların tespitinde, radyoterapi kaynaklı tam tedavi edilmemiş ya da nüksetmiş tümör dokusunun ayrılmasında, ameliyat sonrası ortaya çıkan nükslerin belirlenmesinde, vakalardaki prognozun öngörüsünde, malignite regresyon ya da progresyonunun gözlemlenmesinde, tedaviye başlamadan önce evrelemenin yapılmasında, tedavinin tümöre etki edip etmediğinin belirlenmesinde, tedavilerin ardından tekrar evrelemede, akciğerdeki nodüllerin iyi huylu mu yoksa kötü huylu mu olduğunun belirlenmesinde, biyopsi yapılacak en doğru kısmın belirlenmesinde ve radyoterapi yapılacak kısmın belirlenmesinde kullanılmaktadır.

18F pozitron emisyon tomografisi diğer nükleer tıp görüntüleme yöntemlerinde olduğu gibi emisyon tekniği prensibinden yararlanılarak, anatomik ayrıntılardan ziyade daha fazla metabolizma aktivitesi ve fonksiyonelliği hakkında bilgi edinilmesine olanak sağlar. Bu görüntüleme yönteminde hastaya kan yolu ile verilen ve pozitron kaynağı olan radyofarmasötik maddeden yayılan özel gama ışınımları gözlemlenerek bu ışınımların vücudun içerisindeki dağılımları üç boyutta görüntülenebilir (69).

Florodeoksiglukozun kötü huylu hücrelerde birikmesi, yükselen hipoksi nedeniyle yükselmiş glikolize, özellikle glukoz taşıyıcı-1 (GLUT-1) ve glukoz taşıyıcı-3 (GLUT-3)'ün over ekspresyonuna sebep olmaktadır. Florodeoksiglukoz, glukoz katabolizmasının metabolik yolaklarından da geçerek özellikle GLUT-1 gibi glukozu taşıyan proteinler sayesinde hücreye alınarak sitozolde florodeoksiglukoz-6- fosfat formuna dönüşmektedir. Florodeoksiglukoz-6-fosfat, glukoz 6-fosfat izomeraz enzimi için kullanılabilir olmamasından dolayı katabolizma bu aşamada durmaktadır. Glukoz 6-fosfataz enzimi kötü huylu dokularda az üretildiğinden

florodeoksiglukoz-6-fosfat ek kademelerde katabolize olamaz, bundan dolayı kanserli hücrelerde birikime uğrar. Glukoz alınmış ve metabolizmanın hızlanmış olduğu kısımlarda biriken florodeoksiglukoz miktarının doğal dokulara göre daha fazla olduğu görüntülenmektedir (70). Ancak glukoz katabolizması esnasında kötü huylu hücrelerde florodeoksiglukoz yoğunluğu artmadığından, florodeoksiglukoz, tümörü olan dokular için özel bir molekül değildir. Ayrıca fungal enfeksiyonlar, apse, tüberküloz ve sarkoidoz gibi birçok enflamatuar olgularda da yoğun florodeoksiglukoz gözlenmektedir. Bunun nedeni ise enflamasyon olmuş dokularda glikolizin yükselmesidir.

Florodeoksiglukozun tutulum miktarı kanda bulunan glukozun miktarı ile bağlantılıdır. Eğer kandaki glukoz seviyesi yüksek ise tümörlü dokulardaki florodeoksiglukoz yoğunluğu az olmaktadır. Tutulum miktarının glukoz nedeni ile engellenmemesini sağlamak için en az 6 saat herhangi bir şey yememiş olmak ve kandaki glukoz değerinin 150 - 200 mg/dL değerinden düşük olmalıdır. Kandaki glukoz değerleri yüksek hastalara insülin verilmemesi gerekir. Çünkü insülin, florodeoksiglukozun kaslarda birikimini fazlalaştırır, tümöral dokularda ise florodeoksiglukozun birikmesini azaltır. Hastaların bazılarında mediasten kısmında olan metastazlarda hassas ölçüm istenmesi halinde, miyokard aktifliğini minimize etmek amacıyla hastaya 12 saat aç kalması önerilir. Florodeoksiglukoz ile yapılan onkolojik tetkikler, 10 - 20 mCi florodeoksiglukozun hastaya verilmesinden ortalama 1 saat sonunda pozitron emisyon tomografisi ile yapılır. Çoğunlukla vücudun tamamının görüntülenmesi, kafanın alt kısmından başlayarak femur yakınlarında sonlandırılır. Florodeoksiglukoz molekülü insan vücudunda glukoza benzer şekilde dağılım yapmaktadır. Pozitron emisyon tomografisi görüntülenmesi esnasında florodeoksiglukozun biyodağılım bölgelerinin göz önünde bulundurulması fizyolojik florodeoksiglukoz tutulumlarında hatalı yorum yapılmasını engellemektedir (71).

Onkoloji alanında pozitron emisyon tomografisi görüntülemesinde en sık tercih edilen ajan florodeoksiglukozdur. Tutulum bölgesindeki aktifliğin sayısallaştırılabilmesi pozitron emisyon tomografisi görüntüleme yönteminin en önemli özelliğidir. Belirli bölgelerdeki 18F tutulum miktarının, tüm vücuttaki aktivite ortalamasına oranlanması sonucu standardize edilmiş maksimum uptake oranı (maxSUV) denilen semikantitatif değer bulunur. Ölçülen maxSUV değerinin 3.0'ın üzerinde olması malignite ihtimalinin olduğunu, altında olması ise malignite ihtimalinin düşük olduğunu göstermektedir (72).

PAPİLLER TİROİD KANSERİNDE TEDAVİ

Papiller tiroid kanseri vakarlarının tedavi planlaması için öncelikli olarak 2 seçenek bulunmaktadır. Birinci durumda cerrahi işleminin yapılma şekline ve ikinci durumda ise cerrahi işlemin ardından radyoaktif iyot tedavisinin verilip verilmeyeceğine karar verilmesidir. Papiller tiroid kanser vakalarının tedavi yöntemlerinin en temeli cerrahi tedavidir. Cerrahi tedavi total tiroidektomi ya da totale yaklaşık tiroidektomi şeklinde uygulanmaktadır. Eğer lenf nodu bulunuyorsa bu durumda lenf nodu diseksiyonuna başvurulmaktadır. Cerrahi tedavi yöntemi uygulanmış hastalara uygun görüldüğü takdirde radyoaktif iyot tedavisi uygulanmakta ve TSH baskılayıcı tiroid hormon replasmanı yapılmaktadır. Nadir vakalarda geçici olarak radyoterapi ve kemoterapi uygulansada, genel rutin tedavide radyoterapiye ve kemoterapiye gerek yoktur (73).

Cerrahi Tedavi

Tiroid cerrahi tedavisinin boyutu, ana tümör büyüklüğüne ve lenf nodu metastazına göre belirlenmektedir. Amerikan Tiroid Derneği (ATA)'nin 2015 yılında yayınladığı kılavuza göre papiller tiroid kanser vakalarında uygulanacak cerrahi tedavinin boyutu şu şekilde belirlenmiştir:

I. Tümör çapının 4 cm üzerinde, tiroid dışına yayılımın, lenf nodları yakınlarına metastazın veya uzaklarına metastazın olduğu vakalarda eğer yapılmasında hastayı kötü etkileyecek bir durum söz konusu değilse cerrahi tedavi olarak, total tiroidektomi ya da totale yaklaşık tiroidektomi önerilmektedir.

II. Tümör çapının 4 cm'nin altında ve 1 cm'nin üzerinde olduğu, tiroid dışına yayılımın ve lenf nodlarına metastazın olmadığı vakalarda cerrahi tedavi olarak total tiroidektomi ya da totale yaklaşık tiroidektomi uygulanmasının yanı sıra lobektomi de önerilebilir.

III. Tümör çapının 1 cm altında olan, tiroid dışına yayılım ve lenf nodlarına metastaz olmayan vakalarda cerrahi tedavi olarak lobektomi önerilmektedir. Bu işlem öncesinde karşı lobun alınması için açık bir endikasyonun, geçmişte baş ya da boyun bölgesine radyasyon maruziyetinin ve hastanın ailesinde tiroid kanseri geçmişinin olup olmadığının mutlaka kontrol edilmesi gerekmektedir (73).

Profilaktik merkezi lenf nodu diseksiyonu işleminin uygulanması gereken hastaların tespiti konusunda halen netlik bulunmamaktadır. T1 ve T2 tümörlerinin bazılarının merkezi lenf nodunda metastaz olabilir. Bu durumlarda, yılda 100'ü aşkın troidektomi işlemi yapmış

tecrübeli cerrahlar, eğer hastanın yaşantısını olumsuz etkilemeyecekse total tirodektomi ile beraber profilaktik merkezi lenf nodu diseksiyonu işlemi yapabilir.

T3 ve T4 tümörlerinin lenf nodlarında metastazın olmadığı ya da boyunun yanlarında lenf nodu metastazının olduğu durumlarda boyutu ne olursa olsun tümörlerin merkezi kısmında lenf nodu olup olmamasına bakılmaksızın profilaktik merkezi lenf nodu diseksiyonu işlemi yapılması gerekmektedir (65).

Radyoaktif İyot Tedavisi

Radyoaktif iyot tedavisi, tiroidin tamamının alınması işleminin ardından kalan rezidü dokuların ortadan kaldırılması, koruyucu tedavi ve kalıcı hastalık tedavileri için uygulanır. Ameliyat işlemini takiben dördüncü ya da altıncı haftadan sonra uygulanır. Tedaviye başlamadan önce TSH düzeyinin mutlaka 30 mU/ml üzerinde olması gereklidir. TSH seviyesinin düzenlenmesi, levotiroksin tedavisinin durdurulması ya da rekombinant tiroid 16 stimülan hormon verilmesi sayesinde olabilmektedir. Radyoktif iyot tedavisini takip eden 7. günden sonra mutlaka tüm vücut iyot taraması yapılması gerekmektedir.

Operasyon sonrası hastalara radyoaktif iyot tedavisi uygulanıp uygulanmayacağı yönünde karar, olgunun ATA risk sınıflandırması yapılmasının ardından verilmelidir. Düşük riskli hastalar için radyoaktif iyot tedavisi önerilmez. Bazen tümör dokusu niteliğine göre düşük dozda radyoaktif tedavisi önerilebilmektedir. Orta risk grubu hastalarına radyoaktif iyot tedavisi uygulanabilmektedir. Geriye kalan dokunun ortadan kaldırılabilmesi için düşük dozda (30 mCi) ve koruyucu tedavi için 150 mCi radyoaktif iyot tedavisi uygulanabilir. Yüksek riski bulunan hastalarda koruyucu tedavi amacı ile 150 mCi radyoaktif iyot tedavisi uygulanabilir. Eğer damarlara veya tiroidin dışına yayılma, yaygınlaşmış lenf nodunda veya uzak metastaz varsa radyoaktif iyot tedavisi için 150 - 200 mCi arasında doz uygulanmalıdır (65).

Radyoaktif iyot tedavisinin hamile ve emziren kişilerde kontrendike olduğu bilinmektedir. Hastalığın gidişatına göre emzirenler için radyoaktif iyot tedavisi, emzirmenin bırakılmasına minimum 3 ay kalana kadar ertelenilebilir. Alınan tedaviden sonra ise 12 ay hamilelikten kaçınılması gerekmektedir (32).

Papiller Tiroid Kanserinde İzlem

Tiroglobulin, tiroid folliküler hücreler dışında üretilemeyen bir glikoprotein türüdür. Folliküler hücreler tarafından üretilmiş olan tiroid bezi malignitelerinde, tiroglobulin

değerlerinin incelenmesi ve boyun ultrasonografisi yapılması gereklidir. Tiroid bezi kanseri vakalarında tiroidektomi işleminden sonra serum tiroglobulin miktarı aşırı şekilde azalır. İzlem sırasında serum tiroglobulin seviyesinin yükselmesi metastazın olduğu anlamına gelir. Radyoaktif iyot ablasyonunun ya da hastaya TSH verilmesinin ardından bakılan stimüle tiroglobulinin duyarlılığı yüksek olmaktadır.

Papiller tiroid kanseri hastalarının takibi için eğer uygun olursa 6 ayda bir kez aynı bölgede anti tiroglobulin ve tiroglobulin seviyelerine bakılması önerilir. Serumdaki tiroglobulinin miktarı ile malignitesi olan dokuların miktarı ilişkilidir ve 1 gram malign doku, serumdaki tiroglobulin miktarını 1 ng/ml kadar yükseltmektedir. Tiroglobuline tiroid uyarıcı hormonun stimülasyonuyla bakılacak olursa 1 gram malign doku, serumda tiroglobulin miktarını yaklaşık 6 ng/ml kadar yükseltir.

Diferansiye tiroid kanser vakalarında total tiroidektominin verimli ve radyoaktif iyot tedavisinin yeterli olup olmadığını tespit etmek için birinci tedavi girişiminden 6 ay geçtikten sonra fizik muayenesi, boyun ultrasonografisi ve rekombinan insan tiroid uyarıcı hormon (rhTSH) stimülasyonu ile tiroglobulin tespitinin yapılması tavsiye edilmektedir. Eğer hastanın ultrasonografisi ve serum tiroglobulin değerleri normal ise hastalığın nüksetme riskinin minimal olduğu kabul edilir. Bu tip olgularda yılda bir defa fizik muayene ve hormon replasmanının ardından tiroglobulin değerlerine bakılır.

Yüksek risk bulunan olgularda ya da ablasyon tedavisini takiben vücudun tamamının taranması neticesinde, tiroid bezinin bulunduğu bölgelerde tutulumun belirlendiği durumlarda rhTSH stimülasyonuyla tam vücut tarama sintigrafisi yapılması gerekir. Bu süreçte stimüle tiroglobulin seviyesi 1-2 ng/ml aralığında ise 6 ay sonra yine stimülan tiroglobulinin tekrarı, tiroglobulin seviyesinde artış devam ediyorsa hastalığın metastatik gidişatı göz önünde bulundurularak ek tetkikler yapılmalıdır. İzlem sırasında stimüle tiroglobulin seviyesi 2 ng/ml üzerinde tespit edilirse ileri incelemelerin yapılması gerekmektedir.

Arta kalan tiroid bezi dokuları için ablasyon yapılmış ve arta kalan tiroid bezi dokuları bulunmayan riski düşük hastalarda TSH düzeyinin 0.1 ila 0.5 mU/l aralığında olması gereklidir. Bu olguların izleminde, eğer herhangi bir hastalık belirlenmemiş, TSH düzeyi ölçülemeyecek seviyelerde ve boyunun ultrasonografi sonuçları normal ise TSH düzeyi standart düzeyin altında (0.3-2 mU/l) olabilmektedir. Risk faktörü yüksek hastaların TSH düzeyi 0.1 mU/l değerinin altında olmalıdır. Tiroglobulin antikoru bulunan hastaların takibi için kandaki tiroglobulin değerlerinden yararlanılamaz. Bu durumda hasta takibi için boyun

ultrasonografisi ve tam vücut tarama sintigrafisi yöntemleriyle metastaz olup olmadığı hakkında araştırma yapılır (1).

MATRİKS METALLOPROTEİNAZ ENZİMLERİ

Jerome Gross ve Charles Lapiere 1962 yılında iribaş kuyruğunun metamorfozu esnasında iribaşın kuyruğunu bir kolajen matriks plakasına yerleştirerek buradaki enzimatik aktiviteyi (kollajen üçlü sarmalın bozulmasını) gözlemledikleri sırada ilk kez matriks metalloproteinaz enzimlerini tanımlamışlardır. Bu nedenle bu enzime interstisyel kollajenaz (matriks metalloproteinaz-1) adı verilmiştir (74). 1968 yılında insan derisinden metalloproteinaz enzimleri saflaştırılmıştır (75). 1971 yılında ise bir zimojen olarak sentezlendiği kabul edilmiştir (76).

Matriks metalloproteinaz enzimleri, geniş aktiflik spektrumu bulunan, protein moleküllerinin amino asit bağlarını hidrolize ederek parçalanmasında ve ekstrasellüler matriksin yıkımında görevli, kalsiyum bağımlı, çinko içeren proteolitik endopeptitazlardır (77). Ekstrasellüler matriks ve bazal membranın tüm bileşenlerinin yıkımı; sistein proteazlar, aspartik proteazlar, serin proteazlar ve metalloproteazlar olmak üzere dört grup enzim tarafından gerçekleşir. Tüm gruplarda bulunan enzimlerin tümör yayılım ve metastaz sürecinde yer almalarına rağmen, matriks metalloproteninazların aktifliğinin daha fazla olduğu görülmüştür (78). MMP'lerin doğum sonrası dokuların onarılmasında, fetal gelişme sırasında ve hücre dışı matriksin tekrar yapılanmasında rolü vardır.

Kronik ülserasyonlar, derideki otoimmün olaylar, dermal foto yaşlanma, osteoartrit, romatoid artrit ve periodontit gibi vakalarda da ekstrasellüler matriksin matriks metalloproteinazlar tarafından arttırılmış yıkımı söz konusudur. Alınan serum örneklerindeki MMP seviyesinin artışına neden olan patolojik olgulardan en önemlilerinden biri kanserdir. Kanser hastalığı bulunan kişiden alınan serum numunelerinde bazı MMP enzimlerinin arttığı, bazılarının da düştüğü tespit edilmiştir (79,80).

Matriks Metalloproteinazların Yapısı

Matriks metalloproteinazları, N-terminal ucuyla başlayarak, C-terminal ucuyla biten gen bölgeleri kodlamaktadır (81).

Matriks metalloproteinazlar yapısal olarak incelenirse 5 temel grupta olduğu görülmektedir.

I- Predomain Bölge: Enzimin sekrete edilmesi için ilk sentezlenmiş propeptittir. 80- 90 arasında amino asit bulunduran bu kısım enzim salgılanmasıyla beraber kaybolur.

II- Prodomain Bölge: Zn^{2+} bağlayıcı bölge ile etkileşime girerek enzimin inaktif durumda kalmasının sağlandığı bölgedir. Prodomain bölge kaybolduğunda enzim aktifleşir.

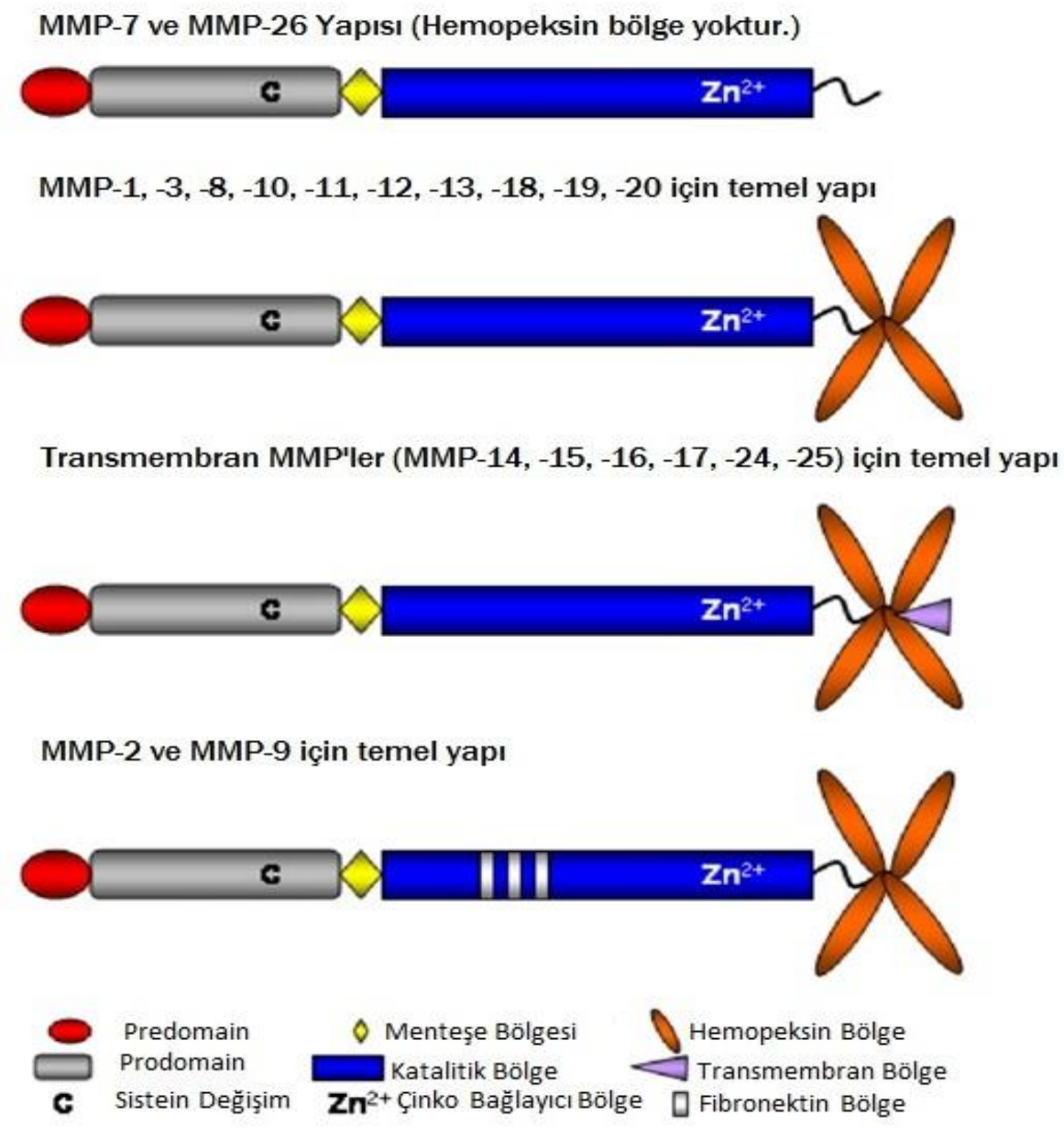
III- Çinko Bağlayıcı Katalitik Bölge: Bu katalitik bölgede enzim aktifliği oluşması sağlanmaktadır. Bölge, Zn^{2+} ile Ca^{2+} iyonları içermektedir.

IV- Prolinden Zengin, Menteşe Bölge: Hemopeksin benzeri bölge ile çinko bağlayıcı katalitik bölge arasında bulunan ve iki bölgeyi birbirlerine bağlayan 5 - 10 amino asit içeren kısımdır.

V- Hemopeksin Benzeri Bölge: En sonda bulunan, N ve C terminal bölgelerini bağlayan disülfit bağı içeren kısımdır. Endojen doku inhibitörlerinin, jelatinaz grubundaki matriks metalloproteinazlara ve matriks metalloproteinaz-13'e bağlanmalarını sağlamaktadır. matriks metalloproteinaz-7 ve matriks metalloproteinaz-26 da hemopeksin benzeri bölge bulunmamaktadır (82,83).

Jelatinaz enzimler olan MMP-2 ve MMP-9 'un katalitik kısımlarında kolajen ve jelatin ile bağ yapmasını sağlayan 3 adet fibronektin tip II gibi kısımlar bulundurduğundan geriye kalan matriks metalloproteinazlardan ayrılmaktadır. Bu kısımın proteolitik aktifliğin yükseltilmesinde de rolü vardır.

Transmembran tipi matriks metalloproteinazlar hemopeksin bölgenin ardından transmembran bölge içermektedirler (83) (Şekil 8).



Şekil 8. Matriks metalloproteinazların yapısı (84)

Metalloproteinaz Doku İnhibitörleri

MMP'lerin proteolitik aktiflikleri hem nonspesifik (α-1 antiproteaz ve α-2 makroglobilin gibi) hem de spesifik inhibitörler (The tissue inhibitors of metalloproteinase) (TIMP) ile engellenebilir (80).

TIMP'ler bağ doku metabolizması düzenlenmesinde temel olarak görev almaktadır. Çoğu dokular ve vücut sıvılarında bulunmaktadırlar. Matriks metalloproteinazlara non kovalent ve irreversibl şeklinde bağlanarak pasif enzim formunun aktifliğini ve katalitik aktifliğin devam edilebilirliliğini de inhibe etmektedirler. Bu şekilde TIMP'ler matriks

metalloproteinaz enzim aktifliğini ve MMP / TIMP oranının bozulmamasını sağlarlar. İnsanlarda, TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3 ve TIMP-4 şeklinde 4 adet TIMP çeşidi olduğu bilinmektedir. TIMP'ler, tıpkı matriks metalloproteinazlar gibi endotel hücrelerinden, vasküler düz kas hücrelerinden, kan hücrelerinden, bağ dokusu hücrelerinden ve makrofajlar tarafından sentezlenmektedirler. TIMP'ler matriks metalloproteinaz aktifliğini inhibe etme açısından benzese de matrikste bulundukları yerleri ve gen ekspresyonunun düzenlenmeleri açısından aralarında farklılıklar olmaktadır. Farklı matriks metalloproteinaz çeşitlerine göre de özgüllükleri olabilir. Jelatinaz A (MMP-2)'nın, TIMP–2 ile inhibe edilirken, Jelatinaz B (MMP-9)'nin ise TIMP-1 ile inhibe edilmesi bu duruma örnek gösterilebilir (85).

Matriks Metalloproteinazların Sınıflandırılması

MMP'ler substrat özgüllükleri açısından 5 ayrı grupta incelenebilir. Bunlar; Kollajenazlar (MMP-1, MMP-8, MMP-13, MMP-18), Jelatinazlar (MMP-2, MMP-9), Stromelisinler (MMP-3, MMP-10, MMP-11), Membran tipi (MT) matriksmetalloproteinazlar (MMP-14, MMP-15, MMP-16, MMP-17, MMP-24, MMP-25) ve Herhangi bir sınıfa dahil edilemeyen matriks metalloproteinazlar (MMP-7, MMP-12, MMP-19, MMP-20, MMP-21, MMP23, MMP-26, MMP-27, MMP-28)'dır (79).

MMP'ler substrat özgüllükleri açısından kategorize edilmektedirler (Tablo 4).

Tablo 4. Matriks metalloproteinazların substrat özgüllüğüne göre sınıflandırılması (85)

Grup adı	Tanımlayıcı isim	Numara	Temel substrat
Kollajenazlar	İnterstisyel kollajenaz	MMP-1	Kollajen Tip 1, 2, 3, 7 ve 10, jelatin, PG
	Nötrofil kollajenaz	MMP-8	Kollajen Tip 1, 2, 3, PG
	Kollajenaz 3	MMP-13	Kollajen Tip 1, 2, 3
	Kollajenaz-4	MMP-18	Kollajen I
Jelatinazlar	Jelatinaz A	MMP-2	Jelatin, kollajen IV, V, VII; X, XI, elastin
	Jelatinaz B	MMP-9	Jelatin, kollajen IV, V, XIV, elastin, PG
Stromelisinler	Stromelisin 1	MMP-3	PG, laminin, FN, jelatin, kollajen III, IV, IX ve X
	Stromelisin 2	MMP-10	PG, laminin, FN, jelatin, kollajen III, IV, IX ve X
	Stromelisin 3	MMP-11	PG, laminin, elastin, entaktin, tenaskin, versikan, jelatin, kollajen III, IV, IX, X
Membran tipi MMP'ler (MT-MMP'ler)	MT1-MMP	MMP-14	Kollajen I, II, III, FN, laminin, VN
	MT2-MMP	MMP-15	Agrekan, FN, laminin, tenaskin
	MT3-MMP	MMP-16	Kollajen III, FN, jelatin
	MT4-MMP	MMP-17	Jelatin
	MT5-MMP	MMP-24	PG
	MT6-MMP	MMP-25	Kollajen IV, fibrin, FN, jelatin
Diğerleri	Matrilisin 1	MMP-7	Serin proteaz inhibitörleri
	Metaloelastaz	MMP-12	Kollajen I, IV, elastin, FN, jelatin, laminin, VN
	RASI-1	MMP-19	Kollajen IV, entaktin, FN, jelatin, laminin, tenaskin
	Enamelisin	MMP-20	Agrekan, amelogenin
	X-MMP	MMP-21	Tanımlanmamıştır
	CA-MMP	MMP-23	Tanımlanmamıştır
	Matrilisin 2	MMP-26	Kollajen IV, FN, jelatin, VN
	CMMP (Horoz)	MMP-27	Tanımlanmamıştır
	Epilisin	MMP-28	Tanımlanmamıştır

PG: Proteoglikan, FN: Fibronektin, VN: Vitronektin.

Kollajenazlar grubunda, MMP-1, MMP-8, MMP-13 ve MMP-18 bulunmaktadır. Bu gruptakilerin Tip 1, 2 ve 3 kollajenleri parçalama özelliği vardır. Kollajenazlar, aterosklerozda, romatoit artritte, kanser patogenezinde ve cildin yaşlanmasında rolü bulunmaktadır (82,86).

MMP-2 ve MMP-9 Jelatinazlar grubunda bulunmaktadır. Jelatinazların, bazal membranı, denatüre olan kollajeni ve jelatini parçalama özelliği vardır. Büyüme faktörü, sitokinler ve ekstrasellüler matriks bileşenleri gibi uyaranlarla ekspresyonları tetiklenebilmektedir. MMP-2 ve MMP-9'un aktivitesi, büyüme faktörlerini, sitokinlerin biyoyararlanımını ve aktifliklerini düzenler, bağışıklık tepkilerinde ve anjiyogenezde rolü vardır. Jelatinazların ekspresyon düzenlenmesi sırasında mitojenle aktive olan protein kinaz sinyallerinin, kanserli olan ve olmayan hücrelerde rolü olduğu bilinmektedir. Jelatinazların, akciğer kanseri, kolorektal kanser, meme kanseri ve malign glioma gibi kanser türlerinin patogenezlerinde önemli rolü vardır (87,88).

MMP-3, MMP-10 ve MMP-11 stromelisinler grubunda bulunmaktadır. Yapısal olarak kollajenazlara benzerler. Tip 4 kollajeni, proteoglikanları, fibronektini ve laminini parçalama özellikleri vardır. Stromelisinler grubunda bulunan MMP-11, ekstrasellüler matriksin parçalanmasında birebir etkisi olmasa da öncülük etmektedir (81,82).

Membran tipi MMP'ler grubunda, MMP-14, MMP-15, MMP-16, MMP-17, MMP-24 ve MMP-25 bulunmaktadır. Hücre zarına bağlı olmalarından dolayı bu isimi alırlar. Diğer MMP'ler gibi proenzim olarak salınmazlar (89,90).

Diğer matriks metalloproteinazlar grubu, MMP-7, MMP-12, MMP-19, MMP-20, MMP-21, MMP-23, MMP-26, MMP-27 ve MMP-28'den oluşmaktadır. Farklı özelliklerinden dolayı diğer gruplara dahil edilememektedirler (89,91).

Matriks metaloproteinaz ekspresyonu, enzimlerin aktivasyonu, enzim aktivitelerinin inhibisyonu ve transkripsiyon fazlarında düzenlenmektedir. Transkripsiyon fazı, çoğu hormonlar ve büyüme faktörleriyle aktif edilebilmektedir. Örneğin, trombosit kaynaklı büyüme faktörü, tümör nekroz faktörü alfa, interlökin-1 gibi inflamatuar sitokinler ve epidermal büyüme faktörü ile gösterilebilmektedir (92).

Matriks metalloproteinazlar proenzim formunda sentezlenmektedirler. Proaktif bölge ile Zn^{2+} etkileşimi ardından aktif hale gelirler. Bu süreçte enzim daima aktiftir (92).

Matriks metalloproteinazların katalitik aktifliği, dört farklı durumda kontrol altında tutulur. Bunlar:

1- Transkripsiyon ve transkripsiyonun ardından düzenleme ile gen ekspresyonu,

2- Ekstrasellüler lokalizasyon ve matriks metalloproteinaz salınımının doku ya da hücre tipi bölümlenmesi,

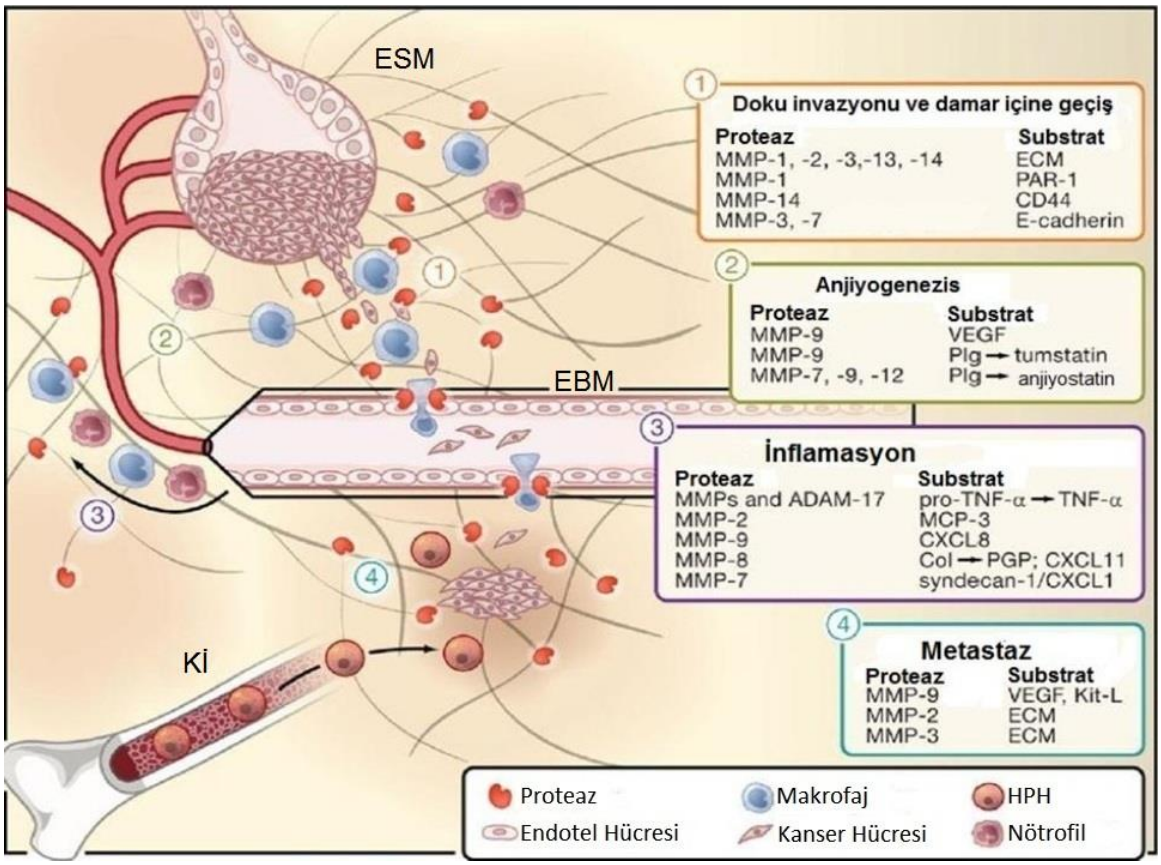
3- Proenzim aktifliği sonucu prodomainin uzaklaşması,

4- Spesifik inhibitörler aracılığı ile inhibisyon, TIMP'ler ve nonspesifik proteinaz inhibitörleridir (93).

TIMP'ler matriks metalloproteinaz aktifliğini bloklayarak ekstrasellüler matriksin yıkımını düzenlemektedirler. TIMP ve MMP'lerin birbirleri ile etkileşimleri, dokulardaki ekstrasellüler matriksin remodalizasyonu için çok önemlidir. TIMP ve MMP'ler arasında denge bozulması söz konusu olursa çeşitli anomaliler ortaya çıkabilmektedir (81).

KANSERDE MATRİKS METALLOPROTEİNAZLARIN ROLLERİ

Yaklaşık 50 yıldır, matriks metalloproteinazların kanserdeki rolleri incelenmektedir. MMP'ler; metastaz, yayılım, anjiyogenez, apoptozun engellenmesi ve antitümör savunma mekanizmalarında bulunmalarından dolayı kanser araştırmalarında hedef konumunda olmuşlardır (94). Şekil 9'da matriks metalloproteinazların kanser gelişim sırasında rol aldığı basamaklar ve bu basamaklarda hedef almış olduğu substratlar da yan kısımdaki kutucuklarda belirtilmiştir.



Şekil 9. Kanser oluşum sürecinde MMP'lerin rolleri (94)

Hücre Ayrılması

Dokunun hücresel organizasyonunda hücre adezyonu anahtar olarak görev almaktadır. Adezyon, hücrenin diğer hücrelerle temas etmesi ile hücre bölünmesinin sınırlandırılması şeklinde tanımlanan bağlantı inhibisyonu için elzemdir. Kanserlerin gelişim sürecinde, hücre organizasyonu ve bağlantı inhibisyonu kaybının asıl mekanizmalardan birisidir (94).

MMP'ler, hücrelerin hem diğer hücrelere, hem de ekstrasellüler matriks bileşenlerine olan bağlantı mekanizmalarını etkilemektedirler (95). Kadherin aracılı hücre - hücre etkileşimi de, matriks metalloproteinazlardan dolayı etkilenmektedir. TIMP-1'in sentezinin azalması halinde fibroblastlar tümorojenik özellik kazanırlar. Bunun sonucunda hücre - hücre, hücre – ekstrasellüler matriks bağlantı inhibisyonu yetersiz duruma gelir. Matriks metalloproteinaz inibitörleri yardımıyla tedavi neticesinde hücre-hücre etkileşmesi için fokal adhezyon kinazın ve β kateninin yükselmesi fibroblast fonksiyonlarının normalleşmesine neden olur (96).

Kanser oluşum süresince, ana hücredeki farklılaşmalar epitelyal mezenkimal değişimden kaynaklanır. Epitelyal mezenkimal değişim sürecinde epitelyal hücreler, mezenkimal veya fibroblast gibi hücrelere dönüşmektedirler. Bu süreç, ekstrasellüler

proteolitik aktifliğin yükselmesine sebep olmaktadır (97). Matriks metalloproteinazlar epitelyal mezenkimal değişimde kadherinleri aracı şeklinde kullanmaktadırlar. MMP-3 ve MMP-7, epitelyal kadherinin ayrılmasından dolayı epitelyal mezenkimal değişime neden olmaktadır (98). Proteolitik süreçte epitelyal kadherinin bir kısmı, hücre - hücre bağlantılarını ayırabilmekte ve bu da memeli epitelyum hücrelerinde hücre - hücre bağlantısında desmoplakin ve epitelyal kadherin kaybına neden olabilmektedir. Vimentin yükselirken epitelyal sitokinler düşerler. MMP-3'ün indüksiyonu, mezenkimal büyüme faktörü olan keratinosit büyüme faktörünün yükselmesine sebep olmaktadır. MMP-3 ile tetiklenmiş olan epitelyal mezenkimal değişimi matriks metalloproteinazların uyarılması, kaldırılması veya geniş spektrumlu matriks metalloproteinaz inhibitörleri ile engellenemez Bu durum MMP-3 aktivitesinin epitelyal mezenkimal farklılaşmanın başlangıcında dönüşümü olmayan bir sürece sebep olabilir (99).

Matriks metalloproteinazlar invazyon ve metastaz süreçlerinde epitelyal mezenkimalın değişim basamağında görevlidirler. Aktifliklerinin yükselmesine ek olarak invazyon süresince belirli bir bölgede odaklanır. MMP-2, MMP-9 ve MMP-14 ekstrasellüler matriksin parçalanması için beraber çalışırlar. Matriks metalloproteinaz aktifliği migrasyonuda arttırabilmektedir. Örnek olarak, MMP-14 tarafından CD44'ün ayrılması çeşitli kanser hücre kültürlerinde hücre hareketlerinde artışa neden olmaktadır (100).

Hücre Ölümü

Kanserin ilerlemesi için apoptozdan kaçış sürecine izin verilmesi gereklidir. Matriks metalloproteinazlar farklı biyolojik aktif moleküllerin proteolizi sayesinde apoptozu pozitif ya da negatif olarak düzenleyebilirler. MMP-7 'nin hücre zarına bağlı Fas ligandını salarak Fas reseptörüne bağlanması sonucu apoptozu tetiklemesi örnek olarak gösterilebilir (101). MMP-7, ErbB4 tirozin kinaz reseptörlerini uyararak hücrenin yaşam süresinde artışa neden olan epidermal büyüme faktörünün proteolizi ile apoptozu inhibe edebilmektedir (102). MMP-3'de memeli hücrelerinde apoptozu aktive edebilirken, MMP-11, apoptozu azaltabilmektedir (103).

TIMP'lerin rolleri hakkında yapılan çalışmalar ile matriks metalloproteinazların apoptozdaki rolü desteklenmektedir. Çoğunlukla TIMP-3'ün apoptozu arttırıcı etkisi varken, TIMP-1, TIMP- 2 ve TIMP- 4'ün antiapopitotik etkileri olduğu bilinmektedir (100,104,105).

Tümör Vaskülarizasyonu

Tümor vaskülarizasyonu, çevredeki dokuların damarlarının çoğalması veya kemik iliğinden kana geçen vasküler progenitor hücrelerden kaynaklanır. Vaskülarizasyon, invazyon ve metastaz için önemli rolü vardır (106). Matriks metalloproteinazların da vaskülarizasyon için önemli rolü vardır. MMP-2, MMP-9 ve MMP-14'ün tümör vaskülarizasyonunda başlıca rolü varken; MMP-1 ve MMP-7 'nin vaskülarizasyona etki oranı daha azdır (94). Temel fibroblast büyüme faktörü ve vasküler endotelyal büyüme faktörü gibi anjiyojenik mutajenler, kapiller endotelyal hücreler sayesinde matriks metalloproteinaz salgılanmasını harekete geçirirler. Ekstrasellüler matriks bileşenleri ve diğer ekstrasellüler moleküller yeni anjiyojenez inhibitörleri ile parçalanabilirler (100). Örnek olarak; biyolojik aktif endostatin MMP-3, MMP-7, MMP-9, MMP-13 ve MMP-20, Tip XVIII kollajeni parçalayarak etki göstermektedir (107). MMP-2, MMP-9 ve MMP-12 tarafından plazminojenin parçalanması yeterli miktarda antianjiyojenik fonksiyonu olan anjiyostatin üretimini sağlar (108). Matriks metalloproteinazların, vasküler geçirgenlik ve sabitliğin kontrolünde de rolü bulunmaktadır. Matriks metalloproteinazlardan özellikle MMP-14, dönüştürücü büyüme faktörü beta (TGFβ)'nın aktivasyonu sayesinde tümör progresyonu ve doku yaralanmasında aracı görev üstlenir (104).

Doku İnvazyonu ve Metastazı

Kanserden ölümün başlıca nedeni metastazdır. Metastaz, kanser hücrelerinin kan damarları veya lenfatik yolaklarla periferal dokulara geçişi sonucu olur. İnvazyon ve metastazın olması için, endotelyal bazal membran benzeri fiziksel bariyerlerin aşılması gereklidir (109).

Metastaz durumunda matriks metalloproteinaz aracılı sinyal üretiminin önemi büyüktür. MMP-1 varlığında MMP aracılı sinyal üretimi sayesinde metastaz hızlanır. Proteinazla aktifleşen reseptörler, bir dizi G-proteini ile eşleşen reseptörler olduğundan, kanser hücresinin göçü ile tümör invazyonunda etkilidir. Protеazla aktifleşen reseptörler, kolon, akciğer ve meme kanserlerinde artmaktadır (110).

Metastaz en sık kemikte görülmekte olup, çoğunlukla ölümcül seyretmektedir. Matriks metalloproteinazlar, stromal hücreler ve kanser arasında, osteoliz ve kemik dokuya yayılım durumunda önemli rol üstlenirler. MMP-7 osteoklast aktifliğine ve kemik dokusunun osteolizine sebep olur. MMP-7'nin hedefi tümör nekroz faktör aile üyelerinden olan reseptör aktivatör nükleer faktör Kappa B ligand (RANKL)'dır. Normal durumda RANKL

osteoblastlar tarafından salınmakta ve osteoklastlardaki RANK resptörünü hedef almaktadır. RANK-RANKL etkileşimiyle osteoklast prokürsörleri osteoklastlara dönüşürler. MMP-7'nin eksik olması durumunda kanserin indüklediği RANKL üretimi ve osteolizi azalmaktadır (111). MMP-1 ise proteolitik epidermal büyüme faktörü gibi ligandlara bağlanarak RANKL aktivasyonuna ve osteolizle kemik metastazına sebep olmaktadır. MMP-1'in inhibitörleri meme ve prostat kanserinin kemiğe metastazını önlemede kullanılabilirler (112).

Ekstrasellüler matriksin parçalanması, matriks metalloproteinazların kanserdeki ana biyolojik fonksiyonlarındandır. Ekstrasellüler matriks yıkımına sebep olan MMP-1, MMP-2 ve MMP-12 gibi proteolitik enzimlerle katepsin B, katepsin K ve katepsin L'nin de ekstrasellüler matriksin yıkımında rolü vardır. Bunların dışında MMP-14'ün de hız sınırlayıcı görevi olabilir (97). Endotelyal bazal membranın ve diğer matriks bileşenlerinin proteolitik yıkımı, inflamatuar süreç boyunca bağışıklık hücrelerinin ekstravazasyonu ile alakalıdır. Makrofaj kaynaklı MMP-2 ve MMP-9, immun hücrelerin beyine göçü esnasında önemli aracılardır. Tümör ile alakalı makrofajlardan kaynaklı matriks metalloproteinazlar, kanser hücrelerinin kan dolaşımına geçişinde etkili olabilir (113).

İnflamasyon ve Matriks Metalloproteinazların Kanserdeki Rolü

Doğal ve edinsel bağışıklıkta matriks metalloproteinazların başlıca düzenleyici olduğunu gösteren çalışmalar artmaktadır. İnflamasyon süreci ve bağışıklık hücreleri tarafından sitokinlerin üretilmesi çeşitli yolaklarla kanser progresyonuna bağlıdır (114). Tümör nekroz faktörü-α (TNF-α) en önemli proinflamatuvar sitokin olup, makrofaj ve T lenfositlerden membran bağlı prekürsör şeklinde sentezlenirler. Pro-TNF-α' nın çözünür biçime dönüşmesi için TNF-α dönüştürücü enzim veya MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9, MMP-12, MMP-14 ve MMP-15 tarafından ayrılması gerekmektedir (115). Meme kanseri vakalarında MMP-9 'un yükselmesi, tümör ile alakalı nötrofil, makrofaj ve lenfositlerde de yükselişe neden olmaktadır. Ayrıca MMP-9 'un yükselmesinin inflamasyonda da rolü olduğu bilinmektedir (100).

Kanser Belirteci Şeklinde Kullanılan Matriks Metalloproteinazlar

Matriks metalloproteinazlar, bazı kanser türlerinde erken tanı, progresyonun takibi ve metastazın tespitinde kullanılabilirler (116).

1. Meme kanseri: Meme kanseri olan hastalarda bazı matriks metalloproteinazlar, hastalığın teşhisi, prognozun takibi, kanserin erken tespiti ve riskin belirlenmesi gibi

sebeplerin yanı sıra tümör rekürrensinin göstergesinin, metastatik yayılımın ve tedaviye cevabın izlenmesi amacıyla da kullanılmaktadır. MMP-9 seviyesi meme kanserli hastalarda, tıpkı kanser dokularındaki gibi plazma ve idrarında da önemli düzeyde artmaktadır (117,118).

MMP-13, yayılımı olan meme kanserleri vakalarında prognostik belirteç şeklinde kullanılabilir. Kötü huylu ve hızlı yayılan meme tümörlerinde, tümör kaynaklı MMP-13, TIMP-1 ve Her-2/neu ekspresyonu ile pozitif bağımlılık gösterirken, hastanın yaşam süresi ile negatif bağımlılık göstermektedir (119). Meme kanseri için risk belirlemede MMP-9'dan yararlanılabilir (120). MMP-1, mRNA ve protein seviyeleri, prekanseröz lezyonlarda yükselir. MMP-1 mRNA iğne aspirasyon biyopsisi ile atipik duktal hiperplazinin tayininde kullanılabilinir (121). Dolaşımda bulunan MMP-9 aktifliği metastatik yayılımın tespitinde kullanılabilinir (122). Serumdaki MMP-9 ve TIMP-1 'in yükselmesi lenf nodu tutulumu ve sağ kalım süresinin azalması ile alakalıdır (117). Primer meme kanseri dokusunda MMP-14 mRNA ekspresyonu yüksekliği, sağkalım süresinin azalması ile bağlantılıdır (123).

2. Pankreatik kanser: Pankreatik kanser vakalarında erken teşhis ve riski yüksek hastaların tespiti için hızlı sonuç elde edilmesini sağlayan, esnekliği ve spesifikliği yüksek belirteçler gerekmektedir. Erken evrede spesifik semptomların olmamasından ve güncel tanı yöntemlerinin sınırlı olmasından dolayı pankreatik kanserlerin teşhis edilmesi güçtür. Pankreatik sıvıdan, dokudan ve kandan elde edilen belirteçler, pankreatik kanserlerin değerlendirilmesi aşamasında kullanılabilir. Pankreatik duktal karsinomu olan hastalardan alınan serum ve doku örneklerindeki MMP-9 düzeyleri sağlıklı kontrollere kıyasla oldukça fazladır (124). Kronik pankreatitli hasta ve sağlıklı bireylerden alınan pankreatik sıvıdaki MMP-2 aktivitesinin pankreatik kanserli hastalara göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir (125). Pankreatik duktal karsinomu olan hastalardan alınan plazma ve tümör dokusundaki MMP-7 seviyelerinin normal seviyelere göre yüksek olduğu tespit edilmiş ve bu durumun kısa hayatta kalım süresi ile ilgili olduğu bildirilmiştir (126).

3. Akciğer kanseri: Evre III ve evre IV akciğer kanseri olan hastalardan alınan serumdaki veya plazmadaki MMP-9 ve TIMP-1 seviyelerinin yüksek olduğu tespit edilmiştir (127,128). Küçük olmayan (non-small) hücreli akciğer kanserli hastalarla yapılan geçmişe yönelik çalışmada, MMP-7 ekspresyonunun, adeno karsinom vakalarına kıyasla, skuamöz hücreli karsinom vakalarında daha fazla olduğu tespit edilmiştir (129). Küçük hücreli akciğer kanseri olan hastalarda MMP-7 ekspresyonunun önemli prognostik faktör olabileceği, kemoterapiye yanıt ve hastalığın seyrinde önemli bir belirteç olduğu gösterilmiştir (130).

MMP-1'in DNA varyantlarının ise henüz tanı konmamış akciğer kanserleri ile ilgili olduğu düşünülmektedir (131).

4. Mesane kanseri: Mesane kanseri vakalarında belirteç olarak çoğunlukla idrar ölçümlerinden yararlanılır. İdrardaki MMP-2 ve MMP-9 seviyeleri mesane kanserinin olup olmadığı ile ilişkili olduğu kadar kanserin evre ve derecesi ile de ilişkilidir (132).

5. Kolorektal kanser: MMP-2 ve MMP- 9'un kolorektal kanser vakalarında potansiyel belirteç olabileceği düşünülmektedir (133). Plazmadaki MMP-2 seviyelerinin yüksekliğinin lenf nodu metastazı ile ilişkili olduğu bilinmektedir (134). Kanser dokularında MMP-9'un boyanmasındaki yükselişin lenf nodu tutulumundan bağımsız olarak kötü prognoz ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (135). Kolorektal kanser rezeksiyonu ardından MMP-2 ve MMP-9 seviyelerinde düşüş gözlemlenmektedir (136). İleri kolorektal kanser vakalarında serum MMP-7 seviyelerinin sağkalım süresindeki azalma ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (137).

6. Over kanseri: MMP-2, MMP-9 ve MMP-14, over kanser vakalarında sıklıkla çalışılan belirteçlerdendir. İleri over kanser vakalarında MMP-9 aktifliği de önemli derecede yükselmektedir (138). İnvazif epitelyal over kanserlerinde MMP-9 ve MMP-14'ün doku ekspresyonundaki yükselişle hastalığın progresyonu arasında negatif ilişki olduğu bildirilmiştir (139). MMP-2 ile over kanseri progresyonu arasında negatif ilişki vardır. MMP-2 seviyeleri yüksek olan hastaların peritoneal implant ve ölüm riskinde yükselme olduğu tespit edilmiştir (140).

7. Prostat kanseri: MMP-2, MMP-9, MMP-15 ve MMP-26'nın doku ekspresyonu veya serum seviyelerinin prostat kanserinde gleason skoru ile pozitif uyumlu olduğu gösterilmiştir (103,141,142). Metastaz olmuş prostat kanseri vakalarında, plazma MMP-2 ve MMP-9 seviyelerinde kayda değer düzeyde artış olmaktadır. Tedavi bittikten sonra ise her iki enzimde önemli düzeyde azalmanın olduğu görülmüştür. Bu farklılıklar, tedavinin ne denli etkili olduğu hakkında bilgi edinilmsi için kullanılabilir (143). MMP'lerin bazı belirteçlerle kombinasyonu ile belirleyici özelliği arttırılabilir. Jelatinaz mRNA'ların E-kadherinlere oranının prostat kanseri evresinin belirlenmesinde yardımcı olması örnek olarak verilebilir (144).

8. Beyin tümörleri: MMP-2 ve MMP-9'un agresif beyin tümörlerinde yükseldiği bildirilmiştir (145,146). MMP-2 doku ekspresyonundaki yükseliş ile hayatta kalım süresinin kısalması arasında negatif ilişki olduğu gösterilmiştir (146).

9. Tiroid kanserleri: Anaplastik kanserli hastalarda jelatin zimografi kullanılarak yapılan çalışmada MMP-2 ve MMP-9 değerlerinin TGF-β1/siRNA ile transfekte 8505C hücrelerinde önemli ölçüde azalma olduğu tespit edilmiştir (147). Yapılan fotoakustik görüntülemeler neticesinde hem MMP-2, hem de MMP-9 enzimlerinin aktif formları, folliküler tiroid kanser homojenatlarında tespit edilmiştir. Her ne kadar her iki enziminde moleküler görüntüleme ajanının in vitro olarak aktive edildiği tespit edilse de, MMP-9 'un bu konuda daha verimli olduğu belirlenmiştir (148). Malign papiller tiroid kanserli hastalardan alınan serum örneklerindeki medyan serum MMP-9 konsantrasyonu, benign tiroid nodülü olan hastalardan ve sağlıklı bireylerdem alınan serum örneklerine göre önemli miktarda yüksek ölçülmektedir. Bu nedenle medyan serum MMP-9 konsantrasyonu, özellikle tiroidektomi sonrası papiller tiroid kanser teşhisi ve prognozu için potansiyel olarak iyi bir öngörü biyobelirteci olabilir (149). Papiller tiroid kanserli hastaların tiroid kanserli dokularının, komşu normal dokularla birlikte immünohistokimyasal boyama ile incelenmesi neticesinde, tümörlü dokuların neoplastik papiller epitel bileşeninde MMP-2 seviyelerinde artış olduğu gözlemlenmiştir. Ancak lenf nodu metastazı olan ya da olmayan papiller karsinomlar arasında anlamlı bir fark olmadığı da tespit edilmiştir. Bu sonuçlardan yola çıkarak, artan MMP-2 ekspresyonu her ne kadar işe yarar bir prognostik belirteç olarak kabul edilemese de, papiller karsinomunu diğer tiroid neoplazmalarından ayırt etmek için tanısal bir belirteç olarak kabul edilebilir (150).

MATRİKS METALLOPROTEİNAZ-9 C-1562T GEN POLİMORFİZMİ

20q11-q13 kromozomu üzerinde bulunan MMP-9 geni, 92-kDa kollajenaz IV'ü kodlar. C-1562T'nin fonksiyonel polimorfizmi MMP-9'un promotöründe, artan MMP-9 seviyeleri ile ilişkilidir. MMP-9 T alelinin promotör aktivitesi, MMP-9 C alelinin promotör aktivitesi ile karşılaştırıldığında yaklaşık 1.5 kat fazla olduğu görülmüştür (151). MMP-9 C-1562T (rs3918242) gen polimorfizmi, gen promoterinde 1562'nci nükleotit olan sitozin ile timinin değişimi sonucunda oluşur. Laboratuvar ortamında sitozin ile timinin yer değiştirmesi neticesinde, MMP-9 gen promoterinin bu bölümüne bir adet nükleer proteinin bağlanması esnasında kaybolduğu ve makrofajlarda transkripsiyonel aktivitenin arttığı tespit edilmiştir (79). Yapılmış olan çalışmalar matriks metalloproteinaz-9 C-1562T polimorfizmlerinin önemini ortaya koymuştur. Bu çalışmalarda MMP-9 C-1562T gen polimorfizminin iskemik inmeli hastaların erken tanısında, artan kardiyovasküler risk altındaki obez kişileri ve hatta astenozoospermi hastalarını ayırt etmede kullanılabileceği gösterilmiştir (152-154).

MATRİKS METALLOPROTEİNAZ-9 GLN279ARG GEN POLİMORFİZMİ

MMP-9 geninin ekson 6 bölgesinin 836. pozisyonunda görülen bir adeninden bir guanine değişim, amino asit 279'da bulunan glutaminin (CAG), arjinine (CGG), değişimine, bu da yanlış anlamlı amino asitin yer almasına neden olur (155). MMP-9 Gln279Arg (rs17576) gen polimorfizmi miyeloid hücrelerde ve megakaryositik hücre dizilerinde bulunur. Keratinosit, monosit, alveolar makrofajlar, polimorfonükleer lökositler ve malign hücrelerden salgılanır. MMP-9 Gln279Arg polimorfizmi, substrat bağlama bölgesinde bulunur ve tip IV kollajenin MMP-9'a bağlanma afinitesini azaltır (156). MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi birçok hastalıkta incelenmiştir. Birincil açık açılı glokom ve açı kapanması glokomu bulunan hastalar ile yapılan çalışmada MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizminin birincil açı kapanması glokomu bulunan hastalar için hastalığın patogenezinde rolü olduğu bildirilmiştir (157). Kötü huylu seyreden mezotelyoma hastalarından tedavi öncesinde alınan kandan elde edilen serum ile yapılan çalışmada MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizminde AA genotipine kıyasla, GG genotipi seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu gösterilmiştir (158).

MATRİKS METALLOPROTEİNAZ-9 ARG668GLN GEN POLİMORFİZMİ

MMP-9 geninin ekson 12 bölgesinin 2003. pozisyonunda görülen bir guaninden bir adenine değişim, amino asit 668'de bulunan arjininin (CGA), glutamine (CAA) değişimine, bu da yanlış anlamlı amino asit ikamesine neden olur. MMP-9 Arg668Gln (rs17577) (R668Q, G2003A, ya da önceden rs2274756) adı verilen polimorfizm, homodimerizasyonda yer alan MMP-9'un (PEX9) hemopeksin alanı, substratlara ve TIMP1'e bağlanır. Buna bağlı olarak etkilenen substrat ve inhibitör bağlama kapasitesi, çeşitli kanserlerde ve diğer hastalıklarda incelenmiştir. Örneğin, böbrek nakli yapılacak kişiler üzerinde yapılan çalışmada, Arg668Gln gen polimorfizminin mutant alel taşıyıcıları (GA ve AA) karşılaştırıldığında, GG genotipine sahip hastaların vücutlarının böbrek naklini red etme riskinde önemli ölçüde azalmış risk olduğu bildirilmiştir (155,159). Yapılmış olan bir başka çalışmada da Arg668Gln gen polimorfizminin Gln668 alelinin, azalmış skuamöz hücre karsinoması riski ile önemli ölçüde ilişkili olduğu bildirilmiştir (160).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı tarafından çalışmanın etki büyüklüğü 0,21 olarak hesaplandı. Hesaplanan etki büyüklüğü ve iki adet bağımsız grup sayısının olması durumu göz önünde bulundurularak %80 güç ve %5 anlamlılık düzeyinde her grupta en az 110 olmak üzere çalışmaya toplam 220 gözlemin dahil edilmesine, %90 güç ve %5 anlamlılık düzeyinde her grupta en az 144 olmak üzere çalışmaya toplam 288 gözlemin dahil edilmesine, karar verilmiştir. Çalışmanın %90 güç ve %5 anlamlılık düzeyinde olabilmesi için 145 kişi hasta ve 145 kişi kontrol grubuna dahil edildi. Normal dağılım varsayımı Shapiro-Wilk testi ile kontrol edildi. İki bağımsız grup karşılaştırmalarında normal dağılıma uyan değişkenler için t testi, normal dağılıma uymayan değişkenler için ise Mann-Whitney U testi kullanıldı. Nicel değişkenler arasındaki ilişkiler normal dağılıma bağlı olarak Pearson korelasyon katsayısı veya Spearman korelasyon katsayısı ile araştırıldı. Nitel değişkenler arasındaki ilişkiler ise ki-kare testleri ile araştırıldı. Nicel değişkenler için tanımlayıcı istatistik olarak ortalama ve standart sapma veya ortanca ve çeyrekler verildi, nitel değişkenler için ise sıklık ve yüzde verildi. Tüm istatistiksel analizlerde anlamlılık düzeyi 0,05 olarak belirlendi.

"Papiller Tiroid Kanserli Hastalarda MMP-9 Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması" başlıklı tez çalışması için Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'na başvuru yapıldı. Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'nun 15/02/2021 tarihli toplantısı sonucu alınan, 04/29 sayılı ve TÜTF-BAEK 2021/97 protokol kodlu karar ile tez çalışmamız kabul edildi (Ek 1).

Tez çalışmamız ayrıca 2021/123 numaralı proje ile Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (TÜBAP) Komisyonu tarafından desteklendi (Ek 2).

Çalışmamız Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji Poliklinikleri'ne başvuran papiller tiroid kanseri tanısı almış hastalardan ve Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dahiliye Poliklinikleri'ne başvuran, tiroid bezinde herhangi bir hastalık saptanmamış kişilerden alınan rutin kanlarla gerçekleştirilmiştir. Çalışma, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi bünyesinde Biyofizik ve İç Hastalıklar Anabilim Dallarında gerçekleştirilmiştir.

Hasta grubu olarak:

1) Papiller tiroid kanseri tanısı olanlar,

2) 18 yaşından büyük yetişkin kişiler çalışmaya alınmıştır.

Kontrol grubu olarak:

1) Tiroid fonksiyon testleri normal olanlar,

2) Yaşları 18'den büyük olan yetişkin kişiler çalışmaya alınmıştır.

Çalışma 145 kişiden oluşan hasta grubu ve yine 145 kişiden oluşan kontrol grubu olmak üzere toplam 290 kişi ile gerçekleştirilmiştir. Hasta grubundaki 145 kişiden 19 kişi erkek, 126 kişi ise kadındı. Kontrol gurubundaki 145 kişiden de 19 kişi erkek, 126 kişi kadındı. Hasta grubundaki erkeklerin yaş ortalaması 50,47, kadınların yaş ortalaması ise 48,79 idi. Aynı şekilde; kontrol grubundaki erkeklerin yaş ortalaması 50,47, kadınların yaş ortalaması ise 48,79 idi. Genel olarak hasta ve kontrol gruplarının ayrı ayrı yaş ortalamaları 49,02'dir.

Hasta ve kontrol gruplarında bulunan kişilerden alınan venöz kan örnekleri etilendiamintetraasetik asit (EDTA)'li vakumlu tüplere alınarak Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı laboratuvarına götürülmüştür. Invitrogen™ PureLink™ Genomic DNA Mini Kit (Katalog No:K182002) DNA saflaştırma kiti ile EDTA'lı tüplerdeki kanlardan DNA'lar izole edilmiştir. İzole DNA'ların, PCR ürünlerinin ve kesim ürünlerinin jel elektroforezi işlemine tabi tutulabilmesi için öncelikle 10X konsantreli TBE (Tris-Borat-EDTA) tampon hazırlandı. 10X TBE tamponu hazırlamak için; 108 gram tris, 55 gram borik asit, 900 ml iki kez distile edilmiş su ve 40 ml 0.5 molar EDTA solüsyonu (pH 8.0) karıştırıldı. Daha sonra %0,5'lik TBE tamponu hazırlamak üzere, 950 ml'lik iki kez distile edilmiş suya 50 ml 'lik hazırlamış olduğumuz 10x TBE tamponu ekleyip karıştırarak 1 litrelik %0,5 yoğunluklu TBE tamponu elde edildi. Jel elektroforezinin gerçekleşeceği jel

elektroforez tankına yeterli miktarda (yaklaşık 300 ml) %0,5'lik TBE tamponu doldurularak jel elektroforezi tankı, elektroforez işlemi için hazır hale getirildi.

İzole edilmiş olan DNA'lar %0,8'lik agarozlu jel elektroforezinde yürütülerek izolasyon saflığı ve DNA yoğunluğu gözlendi.

Çalışmamızda üç farklı polimorfizme (MMP-9 C-1562T, MMP-9 Gln279Arg ve MMP-9 Arg668Gln) bakılacağı için, her DNA'ya 3 farklı polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi uygulandı. Baz çift büyüklüğü 163 bç olan MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi için çoğaltılan DNA'lar %2'lik agarozlu jele yüklenirken, baz çift büyüklükleri daha fazla olan diğer iki gen polimorfizmleri için çoğaltılan DNA'lar ise %2,5'lik agarozlu jele yüklendi. Jel hazırlanırken DNA boyar maddesi olarak her jel için 2.5 µl ABM SafeView Classic (G108) kullanıldı. PZR ürünleri otomatik pipet yardımı ile eser miktarda (yaklaşık 1 µl) yükleme boyası ile boyanarak, hazırlanmış olan agaroz jelin kuyularına yüklendi. Yaklaşık 90 voltluk elektrik enerjisi kullanılarak örneklerin jel üzerinde yürümesi sağlandı. Yeterince yürütülen DNA örnekleri transmilatörle ultraviyole (UV) ışık altında gözlemlenerek, kesim işleminde ne kadar PCR ürünü kullanılacağı belirlendi. Eğer PZR ürünü jelde çok parlarsa kesim için miktarı azaltıldı. Tam tersi şekilde PZR ürünü jelde az görüntülenirse kesim işlemi için daha fazla PZR ürünü kullanıldı. Çoğaltılan DNA'lar yani PZR ürünleri istenen 3 bölgeye özel kesim enzimleri (SphI, SmaI ve StyI) kullanılarak restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi (RFLP) yöntemi ile 37°C'de 15 dakika kesime bırakıldı. Kesim işlemi sonucunda elde edilen ürünler yine 2.5 µl ABM SafeView Classic karıştırılarak hazırlanmış %2,5'luk agaroz jele yüklenerek 90 voltluk elektrik enerjisi kullanılarak jel elektroforezi işlemi gerçekleştirildi. Jel üzerinde yeterince yürütülen ürünler yine ultraviyole ışık altında incelenerek polimorfizmler saptandı.

Matriks metalloproteinaz-9 C1562T gen polimorfizmi için SphI (PAEI) restriksiyon enzimi kullanıldı. Matriks metalloproteinaz-9 C-1562T gen polimorfizmleri genotip dağılımı kesim sonucunda belirlendi (Tablo 5).

SphI (PAEI) Restriksiyon Enziminin Mekanizması

5¹ GCATG↓C 3¹

3¹C↑GTACG 5¹

RFLP yöntemi kullanılarak elde edilen kesim sonuçları

Tablo 5. Matriks Metalloproteinaz-9 C-1562T gen polimorfizmleri kesim sonuçları

Polimorfizm Bölgesi	Genotipler	Kesim Sonuçları
MMP-9 C1562T (436 bç)	TT	194 ve 242 bç
	CC	436 bç
	CT	436 bç, 242 bç, ve 194 bç

TT: Timin-Timin; **CT:** Sitozin-Timin; **CC:** Sitozin-Sitozin; **bç:** baz çiftçi.

Matriks metalloproteinaz-9 Gln279Arg gen polimorfizmi için SmaI restriksiyon enzimi kullanıldı. Matriks metalloproteinaz-9 Gln279Arg gen polimorfizmleri genotip dağılımı kesim sonucunda belirlendi (Tablo 6).

SmaI Restriksiyon Enziminin Mekanizması

5' CCC↓GGG 3'

3' GGG↑ CCC 5'

RFLP yöntemi kullanılarak elde edilen kesim sonuçları

Tablo 6. Matriks Metalloproteinaz-9 Gln279Arg gen polimorfizmleri kesim sonuçları

Polimorfizm Bölgesi	Genotipler	Kesim Sonuçları
MMP-9 Gln279Arg (163 bç)	GG	58 ve 105 bç
	AA	163 bç
	AG	163 bç, 105 bç, ve 58 bç

GG: Guanin-Guanin; **AA:** Adenin-Adenin; **AG:** Adenin-Guanin; **bç:** baz çiftçi.

Matriks metalloproteinaz-9 Arg668Gln gen polimorfizmi için Eco130I (StyI) restriksiyon enzimi kullanıldı. Matriks metalloproteinaz-9 Arg668Gln gen polimorfizmleri genotip dağılımı kesim sonucunda belirlendi (Tablo 7).

Eco130I (StyI) Restriksiyon Enziminin Mekanizması

5' C↓CWWGG 3'

3' GGWWC↑C 5'

RFLP yöntemi kullanılarak elde edilen kesim sonuçları

Tablo 7. Matriks Metalloproteinaz-9 Arg668Gln gen polimorfizmleri kesim sonuçları

Polimorfizm Bölgesi	Genotipler	Kesim Sonuçları
MMP-9 Arg668Gln (214 bç)	AA	56 ve 158 bç
	GG	214 bç
	GA	214 bç, 158 bç, ve 56 bç

AA: Adenin-Adenin; **GG:** Guanin-Guanin; **GA:** Guanin-Adenin; **bç:** baz çiftçi.

KULLANILAN KİMYASAL MATERYALLER

Borik Asit (Merck)

Agaroz (İnvitrogen)

Trisma (Biomatik)

EDTA (Bio Basic)

Agaroz (Biomax)

DNA Marker seti, 100 bç (Genesta) ve 50 bç (ABM)

Etanol (Merck)

DNA boyar madde (ABM SafeView Classic)

SphI (PAEI), SmaI ve Eco130I (StyI) restriksiyon enzimleri (ThermoScientific)

Primerler (Oligomer)

KULLANILAN CİHAZLAR

Agaroz jel için kullanılan elektroforez tankı (MINICELL PRIMO EC 320, Cleaver Scientific)

Derin dondurucu (HOTPOİNT - ARİSTON)

Güç kaynağı (EC-105, Cleaver Scientific MP-300V)

Otoklav (NÜVE)

Etüv (HARAEUS)

Otomatik mikro pipetler (ISOLAB)

Terazi (SARTORIUS)

ThermalCycler (BOECO TS-100)

Vorteks (VELP SCİENTİFİCA)

Nanodrop (ALLSHENG NANO – 200)

Santrifüj cihazları (HETTICH EBA 21, ALLEGRA X-22R)

Mikrodalga Fırın (SAMSUNG)

PZR Cihazları (MiniAmp Plus)

Distile su cihazı (GFL)

YÖNTEMLER

DNA İzolasyonu

DNA moleküllerinin absorblandığı dalga boyunun 260 nanometre olduğu bilinmektedir. Deoksiribonükleik asit konsantresinin belirlenmesinde de bu dalga boyu değeri kullanılmaktadır. 1 Optical Density (OD)'nin 50 µl/ml'ye tekabül ettiğini varsayarsak, DNA miktarı için; DNA = OD_{260} (260 nanometredeki optik yoğunluk) x Seyreltme Faktörü (DilutionFactor) x 50 formülü kullanılabilir. Teoride OD_{260} / OD_{280} değerleri 1,75 ile 2 arasında bulunmalıdır. Eğer bu oran beklenen değerler arasında bulunuyorsa sebebi ultraviyole skaladaki absorb nükleik asitlerdir. OD_{260} / OD_{280} değeri 1,75'ten daha az ise protein ve öteki ultraviyole absorblayıcıların var olduğu anlamı çıkarılır. OD_{260} / OD_{280} değeri 2 değerinden fazla ise alınan numunenin fenol yada kloroform ile kontaminasyon olma ihtimalinden söz edilebilir. OD_{260} / OD_{280} oranından farklı olarak OD_{260} / OD_{230b} oranı da nükleik asitlerin saflığının belirlenmesinde kullanılabilir. Ancak bu oranın OD_{260} / OD_{280} oranına kıyasla hasassiyeti daha azdır (79).

Kullanmış olduğumuz Invitrogen™ PureLink™ Genomic DNA Mini Kit DNA izolasyon kit protokolü şöyledir:

1) Öncelikle kitin içerisinden çıkan yıkama tamponu (wash buffer) -1 ve yıkama tamponu-2 isimli solüsyonlara ayrı ayrı 75 ml ve 87,5 ml etanol (EtOH) eklendi.

2) Isı banyoları 55 °C'ye ayarlandı.

3) EDTA'lı tüpteki kanın pıhtılaşmış olma ihtimaline karşı tüp hafifçe çalkalandıktan sonra tüpün vakumlu kapağı açılarak otomatik pipet yardımı ile 200 µl kan alındı.

4) Alınan kan 1,5 ml'lik steril mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı.

5) 200 µl kana, kitin içerisinden çıkan proteinaz K solüsyonundan 20 µl eklendi ve pipetle karıştırıldı.

6) Yine kitin içinden çıkan RNase A solüsyonundan 20 µl eklendi ve pipetle karıştırıldı.

7) Tüpteki 240 µl karışım, yaklaşık 5 saniye kadar vortex edilerek, 2 dakika oda sıcaklığında bekletildi.

8) Karışıma yine izolasyon kitinin içerisinden çıkan liziz tampondan (lysis buffer) 200 µl eklendi.

9) Hazırlanan karışım otomatik pipet ile homojen oluncaya kadar karıştırılarak, daha önce 55 °C'ye ayarlanmış olan ısı banyosunda 10 dakika bekletildi.

10) Daha sonra ısı banyosundan alınan mikrosantrifüj tüpüne 200 µl etanol eklendi ve 5 saniye kadar vortex cihazı ile muamele edilerek tamamen karışması sağlandı.

11) Santrifüj cihazının hızı 10.000 g (bağıl merkezkaç kuvveti, rcf) olarak ayarlandı. Spin kolonu, 1 dakika boyunca 10.000 g hızda santrifüje maruz bırakılarak filtre üzerindeki karışımın DNA içermeyen kısmının, filtrenin altındaki biriktirme tüpüne geçmesi sağlandı.

12) Biriktirme tüpü atılarak, DNA içeren filtreli spin kolonu, kitin içerisinde bulunan yeni temiz biriktirme tüpünün üzerine yerleştirildi ve yıkama aşamasına geçildi.

13) Spin kolonuna daha önce 75 ml etanol ekleyerek hazırlamış olduğumuz yıkama tamponu-1 'den 500 µl eklendi ve 10.000 g hızda 1 dakika süre ile santrifüj edildi.

14) Santrifüj işleminden sonra spin kolonunun altındaki solüsyon içeren biriktirme tüpü atıldı.

15) Filtreli spin kolonu ise, kitin içerisinden çıkan yeni steril biriktirme tüpüne dikkatlice yerleştirildi.

16) Spin kolonuna daha önce 87,5 ml etanol ekleyerek hazırlamış olduğumuz yıkama tamponu-2 'den 500 µl eklendi ve 18.000 g hızda 3 dakika süre ile santrifüj edildi.

17) Santrifüj işlemi sonunda spin kolonunun altındaki solüsyon içeren biriktirme tüpü, spin kolonundan ayrılarak atıldı. Üstte kalan spin kolonu ise izole ettiğimiz DNA'nın içerisinde muhafaza edileceği 1,5 ml'lik yeni steril mikrosantrifüj tüpüne dikkatli bir şekilde yerleştirildi. Bu işlemlerin ardından elüsyon aşamasına geçildi.

18) Kitin içerisinde bulunan elüsyon tamponundan (elution buffer) otomatik pipet yardımı ile 200 µl alınarak, spin kolonunun alt kısmının tam ortasını kaplayacak şekilde dikkatlice ve yavaşça eklendi.

19) Elüsyon tamponu içeren spin kolonu 1 dakika oda sıcaklığında bekletildi.

20) Elüsyon işleminin sonlanması için, spin kolonu 1 dakika süre ile 18.000 g hızda santrifüj edildi. Santrifüj işlemi sonunda izole edilmiş olan DNA'lar, spin kolonunun altına yerleştirdiğimiz 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne geçtiği için, üstte bulunan filtreli spin kolonu atıldı.

21) Tüm bu işlemler sonunda elde edilmiş olan izole DNA'ları içeren 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüpü PZR işlemleri yapılmak üzere -20 °C'de saklandı.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Polimeraz Zincir Reaksiyonu, DNA'da bilinen iki parçanın arasında uzanan spesifik DNA bölümünün enzimler kullanılarak çoğaltılabildiği bir yöntemdir. Bu yöntem sayesinde kısa sürede milyonlarca gen kopyalanarak çoğaltılmaktadır.

Polimeraz zincir reaksiyonunun keşfedilmesi, daha öncesinde yapılmış olan araştırmalar ışığında olabilmiştir. Enzimler, hücrelerde reaksiyona sebep olan ve hızlandırabilen, protein yapılı, eriyebilen organik maddelerdir. 1956 yılında, Arthur Kornberg ve arkadaşları, Escherichia coli (E. coli) adlı bakteride "DNA polimeraz 1" enzimini keşfetmişlerdir. Bu keşif DNA'nın kendisini ne şekilde kopyaladığının anlaşılmasına olanak sağlamıştır.

1966 yılında Marshall Warren Nirenberg, Har Gobind Khorana ve Robert William Holley'in genleri yapay şekilde sentezleyerek genetik kodu tanımlamaları, polimeraz zincir reaksiyonunun keşfi için önemli dönüm noktalarındandır. Genetik kodun tanımlanması sayesinde, kodun hangi sıra ile okunduğu, kodun başlangıç ve bitiş noktalarının nasıl belirlendiği keşfedilmiştir. Protein sentezinde genetik kodun ve işlevlerinin yorumlanabilmesi ile ilgili yapmış olduğu araştırmalardan dolayı Har Gobind Khorana, Nobel Ödülü'ne layık görülmüştür.

PZR yönteminin gelişmesinde en büyük katkı Taq Polimeraz enziminin keşfi ile olmuştur. Çünkü bu enzim, yüksek sıcaklıklarda bile dayanabilen tek enzimdir. 1975 yılında, Cincinnati Üniversitesi'nden John Trela ve arkadaşları, Yellowstone Millî Parkı'nda bir kaplıcada yaşayabilen termofilik bir bakteri olan Thermus aquaticus'tan termostabil bir DNA polimeraz tanımlayarak, Taq polimeraz enzimini keşfetmiş oldu (Şekil 10). Taq polimeraz enzimi, halen polimeraz zincir reaksiyonlarında kullanılan, 95 °C sıcaklığa kadar bozulmayan bir enzimdir.



Şekil 10. Taq polimeraz enziminin izole edildiği Yellowstone Milli Parkı (161)

1983 yılında Kary Banks Mullis, Amerika Birleşik Devletleri'nin Kaliforniya eyaletindeki Cetus adlı şirkette oligonükleotitlerin sentezi üzerinde çalışırken hücredeki DNA sentezinin laboratuvar şartlarında gerçekleşebildiğini gözlemlemiştir. DNA sentezinin olabilmesi için reaksiyonda, "erime, bağlanma ve sentez" şeklinde tanımlanan üç aşamada da sıcaklıkların dikkatli bir şekilde kontrol edilmesi ve ayrıca DNA polimeraz enzimi kullanarak farklı sıcaklıklardaki üç aşamanın da döngüler şeklinde yinelenmesi gerektiğini tespit etmiştir.

1986 yılında ise hataların minimize edilmesi için keşfedilen yeni bir yöntem ile ısıya duyarlı olan DNA polimeraz enzimi yerine yüksek ısılarda da çalışabilen Taq polimeraz enzimi kullanılmıştır. Taq polimeraz enziminin uzun süreli ve yüksek sıcaklık derecelerinde oldukça dayanıklı olması sayesinde tüm döngülerde verimli şekilde DNA sentezinin gerçekleşebildiği gözlemlenmiştir. 1987 yılında ise yine merkezi Amerika Birleşik Devletleri'nin Manhattan şehrinde bulunan 1937 yılında kurulmuş uluslararası bir şirket olan Perkin Elmer'da çalışan bilim insanları, polimeraz zincir reaksiyonu için sıralı ısıtma ve soğutmaya olanak sağlayan termal döngü makinesini üretmişlerdir. Daha sonra bir çok şirket PZR için otomatize termal siklüs cihazları geliştirmiş ve halen geliştirmektedirler.

PZR yönteminin bulunuşundan itibaren, yöntemde bir dizi farklılıklar olmuştur. Bunlardan birisi, 1991 yılında, Taq polimeraz enzimi yerine hipertermofilik bakteri olan pyrococcus furiosus (Pfu) bakterisinden yararlanılmıştır. Sonuç olarak Taq polimeraz enziminin yerini almasa da, eksonükleaz redaksiyon faaliyeti hatalarının düzeltilebilmesine olanak sağladığı keşfedilmiştir. 1995 yılında ise PZR yöntemi için iki yeni gelişme olmuştur. Birincisi; polimerazın aktifleşmesine olanak sağlayan ilk 95 °C kısmı eriyene kadar polimeraz aktifliğini inhibe eden bir immünoglobulinin kullanılmasıdır. Ancak, bu işlem PZR özgüllüğünün arttırılmasında etkin olmasına rağmen, yapılan işlemin süresinde artışa ve çapraz kontaminasyona neden olduğu anlaşılmıştır. Diğeri ise, moleküler biyoloji ve PZR yöntemi kullanılarak farklı alanlarda yenilik yapabilecek yöntemlerin keşfedilmesidir. Floresan ışımasından yararlanılarak, ters (reverse) transkripsiyon PZR (RT-PZR) yönteminde büyük bir yenilik olmuştur. Böylece kopyalanan ürünlerin miktarlarını sayısal değerlere dönüştürerek ölçüm, PZR reaksiyonu esnasında gerçek zamanlı (real time) olarak reaksiyonun gidişatını takip edebilmek ve müdahale edebilmek mümkün olmuştur. Floresan okuma yapabilme özelliğinden dolayı bu yönteme floresan kantitatif RT-PZR veya kantitatif-kinetik PZR (qPZR) gibi isimler verilmiştir.

Nükleik asit tayini, miktarların ölçüm ve analizi için geliştirilmiş yeni bir teknik olan Dijital PZR (dPZR), direkt ya da klonal olarak DNA, tamamlayıcı DNA ya da RNA dahil nükleik asitleri çoğaltmak için kullanılmıştır. dPZR ve geleneksel PZR arasındaki en dikkat çeken farklılık, dPZR yönteminin eski PZR yöntemine göre daha kesin sonuç vermesidir. Nükleik asitlerin miktarlarının ölçümleri için kullanılan bu yöntem, hassasiyeti ve özgüllüğü arttırabilmektedir. Geleneksel PZR yönteminde sadece bir tane örnek için reaksiyon olmaktadır. dPZR yönteminde de bir tane örnek için sadece bir reaksiyon olur. Fakat, örneğin kısımları birden fazla bölüme ayrılarak, her bölüm içinde ayrı reaksiyon gerçekleşir. Böylece daha güvenilir toplama ve nükleik asit miktarlarında daha hassas ölçüm sağlanmış olur. Gen sekanslarının varyasyonlarını çalışmak ve numunedeki klonal amplifikasyon için bu yöntem tercih edilmektedir.

Onkogenezin araştırılmasında PZR yönteminden yararlanılır. Örneğin; rahim ağzı (serviks) kanseri taramasında kullanılan, insan papilloma virüs (HPV) DNA testi PZR yöntemi ile yapılır. Serviks kanseri, kadınlarda meme kanserinden sonra en sık görülen kanser türüdür. Serviks kanserlerinin çoğunluğu HPV adlı virüsten dolayı ortaya çıkmaktadır.

Serviks hücrelerinin DNA'larına HPV virüsünün DNA'sından parçaların yerleşmesi ile ortaya çıkan enflamasyon, serviks kanserinin sebebidir. HPV DNA testi isimli PZR tekniği

sayesinde, rahim ağzının çeşitli bölgelerinden smear yöntemi ile alınmış olan hücrelerin içindeki HPV DNA'sı tespit edilebilir. Eğer virüs genomuna rahim ağzı hücrelerinde rastlanırsa, bu duruma "HPV DNA pozitif" denilmektedir.

Onkogenezin araştırılması dışında; genetik hastalıklarda taşıyıcı ve hasta tanısında, prenatal tanı işlemlerinde, patojen organizmaların teşhisinde, klonlamada, adli tıpta, nokta mutasyon bölgesinin tespitinde, DNA dizi analizinde, çok sayıda DNA örneklerinin kopyalanmasında, bilinmeyen DNA dizisinin belirlenmesinde, evrimleşmenin tespit edilmesinde, laboratuvar ortamında fertilizasyon yapılmış olan tek hücrelerde, implantasyondan öncesinde yapılan genetik testlerde ve DNA - protein etkileşimlerinin belirlenmesinde de PZR yönteminden yararlanılmaktadır. Bunların yanı sıra gıda sektörü açısından, PZR yöntemlerinin kullanılması önemli avantajlar sağlamaktadır. Örneğin; et ve et ürünlerinin türlerinin tayin edilmesinde, yiyeceklerde kullanılan katkı maddelerinin domuz DNA'sı içerip içermediğinin tespitinde ve allerjen maddelerin tespitin de PZR yönteminden yararlanılmaktadır.

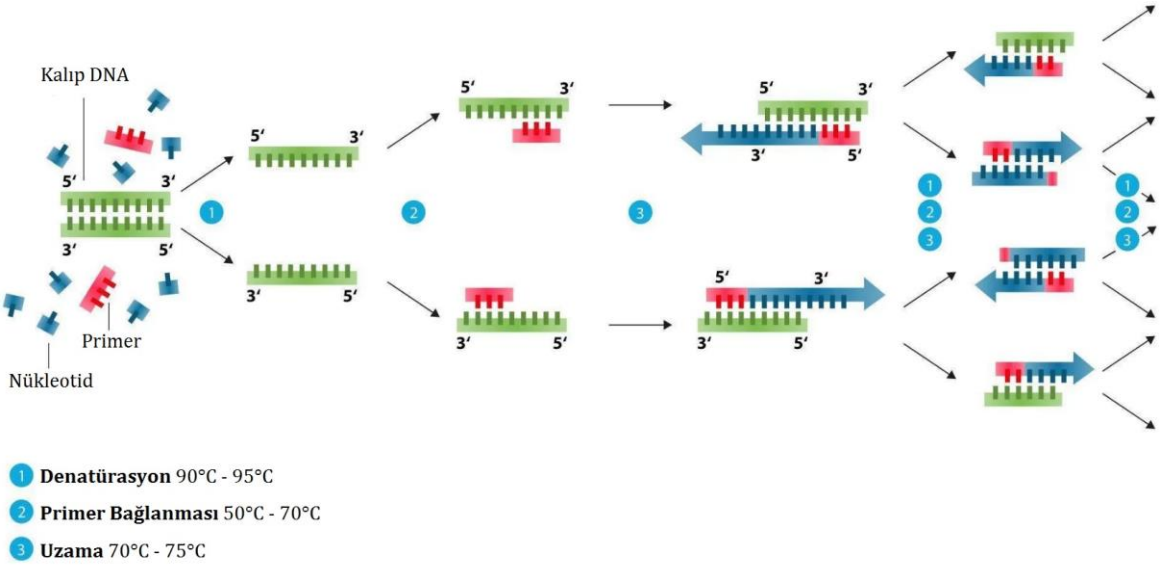
PZR işlemi, nükleotidlerin in vitro koşullar altında çoğaltılması işlemi şeklinde basitçe tanımlanabilir. Belirlenmiş DNA parçası kopyaları primer isimli yapılar sayesinde yönlendirilerek enzimatik biçimde sentezlendirilir. Yöntem, çoğaltılmak istenen kısımın her iki ucundaki nükleotid dizilerini tamamlayan bir çift sentetik primer kullanılarak ve bu iki primerle sınırlandırılan genin enzimatik biçimde sentezlenmesi ile gerçekleşir.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu yönteminde sırasıyla üç temel aşamadan söz edilebilir. Bu aşamaların tekrarlanması sayısına bağlı olarak çoğaltılan DNA miktarı belirlenir.

1) Denatürasyon (90-95ºC): Bu aşamada normalde çift sarmalı olan DNA, yüksek sıcaklığın etkisiyle tek sarmal haline gelir.

2) Primer bağlanması (50-70ºC): Primerler, bu aşamada amaçladığımız DNA'ya bağlanır.

3) DNA sentezi ya da primer uzaması (70-75ºC): DNA zincirinini uzadığı aşamadır.



Şekil 11. Polimeraz zincir reaksiyon döngüsü (162)

Döngü bitince oluşan yeni DNA zincirleri sıradaki döngüler için kalıp DNA görevi üstlenebilir. İlk döngü sonucunda oluşan ürünlerin iki primerinin bağlanma kısımları arası mesafesi daha uzundur. İkinci döngü istenilen uzunluktaki DNA zincirini oluşturur. Döngü sayısına göre elde edilen ürün miktarı (2^n-2n)x formülü ile hesaplanır. Bu formülde n döngü sayısını, x ise kalıp DNA'nın kopya sayısını göstermektedir (79).

PZR yönteminde kullanılan temel bileşenler, kalıp DNA, primerler, distile su ve DNA polimeraz enzimi, dNTP karışımları, enzim tamponu ve $MgCl_2$ içeren PZR ana karışımıdır.

Matriks metalloproteinaz-9 C-1562T gen polimorfizmi için PZR yönteminde kullandığımız primer dizisi 20 numaralı insan kromozomunda bulunan matriks metalloproteinaz-9 gen dizisinden tablo 8'de gösterildiği şekilde seçilerek belirlenmiştir.

Tablo 8. MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi için seçilen primer dizisinin MMP-9 gen dizisinde gösterimi

GCCTGGCACATAGTAGGCCCTTTAAATACAGCTTATTGGGCCGGGCGCCATGGCT
CATGCCCGTAATCCTAGCACTTTGGGAGGCCAGGTGGGCAGATCACTTGAGTCAG
AAGTTCGAAACCAGCCTGGTCAACGTAGTGAAACCCCATCTCTACTAAAAATACA
AAAAATTTAGCCAGGCGTGGTGGCGCACGCCTATAATACCAGCTACTCGGGAGG
CTGAGGCAGGAGAATTGCTTGAACCCGGGAGGCAGATGTTGCAGTGAGCCGAGA
TCACGCCACTGCACTCCAGCCTGGGTGACAGAGTGATACTACACCCCCCAAAAAT
AAAATAAAATAAATAAATACAACTTTTTGAGTTGTTAGCAGGTTTTTCCCAAATA
GGGCTTTGAAGAAGGTGAATATAGACCCTGCCCGATGCCGGCTGGCTAGGAAG

Seçtiğimiz primerler de dahil toplam 436 adet baz bulunmaktadır.

MMP-9 C-1562T gen polirmorfizmi için belirlenen primer dizisi;

5'-GCCTGGCACATAGTAGGCCC-3' (Forward)

5'-CTTCCTAGCCAGCCGGCATC-3' (Reverse)

MMP-9 C-1562T gen polimorfizminde kullanılmak üzere toplam 25 µl hacimli PZR ürünü elde etmek için örnek başına kullanılan miktarlar şu şekildedir;

12,5 µl BlasTaq™ 2X PCR MasterMix

0,30 µl Primer Forward

0,30 µl Primer Reverse

1,75 µl izole edilmiş DNA

10,15 µl dH_2O (Enjeksiyonluk Su)

MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi için PZR koşulları;

Başlangıç : 95ºC, 6 dakika

94ºC, 30 saniye

61,5ºC, 30 saniye } 35 döngü (cycle)

72ºC, 1dakika

Bitiş : 72ºC, 7 dakika

Matriks metalloproteinaz-9 Gln279Arg gen polimorfizmi için PZR yönteminde kullandığımız primer dizisi 20 numaralı insan kromozomunda bulunan matriks metalloproteinaz-9 gen dizisinden tablo 9'da gösterildiği şekilde seçilerek belirlenmiştir.

Tablo 9. MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi için seçilen primer dizisinin MMP-9 gen dizisinde gösterimi

AGACCATCCATGGGTCAAAGAACAGGACACACTTGGGGGTTATAATGTGCTGTCT
CCGCCTTCTCCCCCTTTCCCACATCCTCCTCGCCCCAGGACTCTACACCCAGGACG
GCAATGCTGATGGGAAACCCTGCCAGTTTCCATTCATCTTCCAAGGCCAATC

Seçtiğimiz primerler de dahil toplam 163 adet baz bulunmaktadır.

MMP-9 Gln279Arg gen polirmorfizmi için belirlenen primer dizisi;

5'- AGACCATCCATGGGTCAAAG -3' (Forward)

5'- GATTGGCCTTGGAAGATGAA -3' (Reverse)

MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizminde kullanılmak üzere toplam 25 µl hacimli PZR ürünü elde etmek için örnek başına kullanılan miktarlar şu şekildedir;

12,5 µl BlasTaq™ 2X PCR MasterMix

0,75 µl Primer Forward

0,75 µl Primer Reverse

1,75 µl izole edilmiş DNA

9,25 µl dH_2O (Enjeksiyonluk Su)

MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi için PZR koşulları;

Başlangıç : 95ºC, 5 dakika

95ºC, 30 saniye
50.0 ºC, 45 saniye
72ºC, 30 saniye
} 35 döngü (cycle)

Bitiş : 72ºC, 7 dakika

Matriks metalloproteinaz-9 Arg668Gln gen polimorfizmi için PZR yönteminde kullandığımız primer dizisi 20 numaralı insan kromozomunda bulunan matriks metalloproteinaz-9 gen dizisinden tablo 10'da gösterildiği şekilde seçilerek belirlenmiştir.

Tablo 10. MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmi için seçilen primer dizisinin MMP-9 gen dizisinde gösterimi

AGGTGGACCGGATGTTCCCCGGGGTGCCTTTGGACACGCACGACGTCTTCCAGTA
CCGAGGTGAGGGCTGAGGAGGATCCCTTCGTGAGACACCACACTAAGCTCCTCTT
AGTGAGTGGTCAAATTCTGAGCGAGGAAGAAAAAGCCCTTGGAAATGGAAACAA
ATGCCCCAGCACAGACAAGATCCCAGCAGAGGCAGAGGCCTTCTCCAGGT

Seçtiğimiz primerler de dahil toplam 214 adet baz bulunmaktadır.

MMP-9 Arg668Gln gen polirmorfizmi için belirlenen primer dizisi;

5′-AGGTGGACCGGATGTTCC-3′ (Forward)

5′-ACCTGGAGAAGGCCTCTG-3’ (Reverse)

MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizminde kullanılmak üzere toplam 25 µl hacimli PZR ürünü elde etmek için örnek başına kullanılan miktarlar şu şekildedir;

12,5 µl BlasTaq™ 2X PCR MasterMix

0,5 µl Primer Forward

0,5 µl Primer Reverse

2,0 µl izole edilmiş DNA

1 µl DMSO (Dimetil Sülfoksit)

8,5 µl dH_2O (Enjeksiyonluk Su)

MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmi için PZR koşulları;

Başlangıç : 95ºC, 5 dakika

95ºC, 45 saniye
63,5 ºC, 45 saniye
72ºC, 45 saniye
} 35 döngü (cycle)

Bitiş : 72ºC, 7 dakika

Kesim Fragment Uzunluk Polimorfizmleri

DNA diziliminin kısa kısımlarını özelleştirilmiş şekilde tanıyan ve bu dizilimlere yakın kısımlardan ya da dizilimlerin içerisindeki özgül kısımlardan çift taraflı ve simetrik şekilde DNA'yı kesen enzimlere kesim (restriksiyon) enzimleri denir. Kesim enzimleri çoğunluklukla bakterilerde, nadiren virusler ve ökaryot canlılarda bulunur. DNA fragmanlarının büyüklüğüne göre kullanılacak kesim enzimi belirlenir. Restriksiyon işlemi sonucunda oluşan ürünlere kesim parçaları adı verilir. RFLP yöntemi, kolay uygulanabilen, ucuz ve hızlı bir yöntemdir. Bu yöntemde kesim enzimlerinin DNA'da bulunan kesim noktalarındaki farklılaşmalarından yararlanılır (79).

MMP-9 C-1562T Gen Polimorfizmi İçin RFLP Yöntemi:

20 numaralı insan kromozomunda bulunan MMP-9 gen dizisinden MMP-9 C-1562T Gen Polimorfizmi İçin 436 baz içeren bölge belirlenmişti. RFLP yönteminde uygulamak üzere SphI (PAEI) kesim enzimi seçildi. Kesim enziminin çalışma mekanizmasına (5^1 GCATG↓C 3^1 ve 3^1C↑GTACG 5^1**)** göre belirlenen bölgede kesim olması durumunda tablo 11'de belirtildiği gibi 194 bç ve 242 bç olmak üzere kesim parçaları elde edildi.

Tablo 11. MMP-9 gen dizisinde SphI (PAEI) kesim enziminin kestiği bölgelerin gösterimi

GCCTGGCACATAGTAGGCCCTTTAAATACAGCTTATTGGGCCGGGCGCCATGGCT
CATGCCCGTAATCCTAGCACTTTGGGAGGCCAGGTGGGCAGATCACTTGAGTCAG
AAGTTCGAAACCAGCCTGGTCAACGTAGTGAAACCCCATCTCTACTAAAAATACA
AAAAATTTAGCCAGGCGTGGTGGCGCACGCCTATAATACCAGCTACTCGGGAGG
CTGAGGCAGGAGAATTGCTTGAACCCGGGAGGCAGATGTTGCAGTGAGCCGAGA
TCACGCCACTGCACTCCAGCCTGGGTGACAGAGTGATACTACACCCCCCAAAAAT
AAAATAAAATAAATAAATACAACTTTTTGAGTTGTTAGCAGGTTTTTCCCAAATA
GGGCTTTGAAGAAGGTGAATATAGACCCTGCCCGATGCCGGCTGGCTAGGAAG

Yukarıdaki dizilimde kesim enziminin mekanizmasında belirtilen GCATGC serisinin olmadığı, ancak GCACGC serisinin olduğu görülmektedir. Eğer GCATGC serisi olsaydı SphI(PAEI) isimli kesim enzimi çalışarak bu bölgeyi 194 ve 242 bç şeklinde iki parçaya ayırabilecekti. Bu nedenle gen polimorfizminin isminde C ve T harfleri bulunmaktadır. Eğer dizide C yerine T olursa kesim işlemi gerçekleşebilecektir.

Kesim işlemi için 5 µl hacimli PZR ürünü başına kullanılan miktarlar;

0,4 µl kesim enzimi (SphI(PAEI))

0,8 µl 10x Fast Digest Red Buffer

5 µl PZR ürünü

6 µl dH_2O (Enjeksiyonluk su)

Hazırlanan karışım 37 °C'de 15 dakika inkübe edilerek kesim işlemi tamamlanmıştır.

MMP-9 Gln279Arg Gen Polimorfizmi İçin RFLP Yöntemi:

MMP-9 gen dizisinden MMP-9 Gln279Arg Gen Polimorfizmi İçin 163 baz içeren bölge belirlenmişti. RFLP yönteminde uygulamak üzere SmaI kesim enzimi seçildi. Kesim enziminin çalışma mekanizmasına (5'CCC↓GGG3' ve 3'GGG↑CCC5'**)** göre belirlenen bölgede kesim olması durumunda tablo 12'de belirtildiği gibi 105 bç ve 58 bç olmak üzere kesim parçaları elde edildi.

Tablo 12. MMP-9 gen dizisinde SmaI kesim enziminin kestiği bölgelerin gösterimi

AGACCATCCATGGGTCAAAGAACAGGACACACTTGGGGGTTATAATGTGCTGTCT
CCGCCTTCTCCCCCTTTCCCACATCCTCCTCGCCCCAGGACTCTACACCCAGGACG
GCAATGCTGATGGGAAACCCTGCCAGTTTCCATTCATCTTCCAAGGCCAATC

Yukarıdaki dizilimde kesim enziminin mekanizmasında belirtilen CCC dizisinin olduğu, ancak devamında olması gereken GGG dizisinin olmadığı görülmektedir. Eğer AGG yerine GGG serisi olsaydı SmaI isimli kesim enzimi çalışarak bu bölgeyi 105 ve 58 bç şeklinde iki parçaya ayırabilecekti. Bilindiği üzere arjininin (Arg) amino asidini kodlayan kodonlar, CGU, CGC, CGA, CGG, AGA ve AGG olmak üzere 6 adettir. Glutamin (Gln) amino asidini kodlayan kodonlar ise, CAA ve CAG olmak üzere 2 adettir. Seçilen dizide kesim enziminin çalıştığı kısımda CAG kodonu görülmektedir. Eğer CAG yerine CGG kodonu olsaydı kesim enzimi, CCCGGG dizisinin varlığından dolayı bu gen parçasını yani pcr ürününü kesebilecektir. Amino asit 279'da bulunan arjinin (CAG) yerine glutamin (CGG) olması yanlış anlamlı amino asit varlığına neden olur. Gen polimorfizminin isminde bu nedenle Gln ve Arg kısaltmaları bulunmaktadır.

Kesim işlemi için 5 µl hacimli PZR ürünü başına kullanılan miktarlar;

0,75 µl kesim enzimi (SmaI)

1 µl 10x Fast Digest Green Buffer

5 µl PZR ürünü

3,25 µl dH_2O (Enjeksiyonluk su)

Hazırlanan karışım 37 °C'de 15 dakika inkübe edilerek kesim işlemi tamamlanmıştır.

MMP-9 Arg668Gln Gen Polimorfizmi İçin RFLP Yöntemi:

MMP-9 gen dizisinden MMP-9 Arg668Gln Gen Polimorfizmi İçin 214 baz içeren bölge belirlenmişti. RFLP yönteminde uygulamak üzere Eco130I (StyI) kesim enzimi seçildi. Kesim enziminin çalışma mekanizmasına (5'C↓CWWGG3' ve 3'GGWWC↑C5'**)** göre belirlenen bölgede kesim olması durumunda tablo 13'de belirtildiği gibi 56 bç ve 158 bç olmak üzere kesim parçaları elde edildi.

Tablo 13. MMP-9 gen dizisinde Eco130I (StyI) kesim enziminin kestiği bölgelerin gösterilmesi

AGGTGGACCGGATGTTCCCCGGGGTGCCTTTGGACACGCACGACGTCTTCCAGTA
CCGAGGTGAGGGCTGAGGAGGATCCCTTCGTGAGACACCACACTAAGCTCCTCTT
AGTGAGTGGTCAAATTCTGAGCGAGGAAGAAAAAGCCCTTGGAAATGGAAACAA
ATGCCCCAGCACAGACAAGATCCCAGCAGAGGCAGAGGCCTTCTCCAGGT

Kesim enzim mekanizmasında belirtilen "W" simgesi adenin (A) ya da timin (T) bazlarından herhangi birinin gelebileceğini belirtmektedir. Örneğin; WW bulunan bölgede AT, TA, AA veya TT ikili dizilerinden herhangi birisi bulunabilir. Yukarıdaki dizilimde kesim enziminin mekanizmasında belirtilen C bazının olduğu, ancak devamında olması gereken CAAGG dizisinin olmadığı görülmektedir. Eğer CGA yerine CAA kodonu olsaydı Eco130I isimli kesim enzimi çalışarak bu bölgeyi 56 ve 158 bç şeklinde iki parçaya ayırabilecekti. Daha önce arjinin (Arg) amino asidini kodlayan kodonların, CGU, CGC, CGA, CGG, AGA ve AGG olmak üzere 6 adet, glutamin (Gln) amino asidini kodlayan kodonların ise, CAA ve CAG olmak üzere 2 adet olduğu belirtilmişti. Seçilen dizide kesim enziminin çalıştığı kısımda CGA kodonu görülmektedir. Eğer CGA yerine CAA kodonu olsaydı kesim enzimi, CCAAGG dizisinin varlığından dolayı bu gen parçasını yani pcr ürününü kesebilecekti. Amino asit 668'da bulunan arjinin (CGA) yerine glutamin (CAA) olması yanlış anlamlı amino asit varlığına neden olur. Gen polimorfizminin isminde bu nedenle Arg ve Gln kısaltmaları bulunmaktadır.

Kesim işlemi için 5 µl hacimli PZR ürünü başına kullanılan miktarlar;

1 µl kesim enzimi Eco130I (StyI)

1 µl 10x Buffer O

5 µl PZR ürünü

9 µl dH_2O (Enjeksiyonluk su)

Hazırlanan karışım 37 °C'de 60 dakika inkübe edilerek kesim işlemi tamamlanmıştır.

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Bu çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS (Statistics Package of Social Science) v20 (Lisans No:10240642) istatistik programı ile yapılmıştır. Matriks metalloproteinaz-9 C-1562T, Matriks Metalloproteinaz-9 Gln279Arg ve Matriks

Metalloproteinaz-9 Arg668Gln gen polimorfizmleri genotip dağılımları, yaş, cinsiyet, varyant, tümör çapı ve lenf nodu metastazı bakımından karşılaştırılmıştır.

Yapılan güç analizi çalışmasında etki büyüklüğü 0.21 olarak hesaplanmıştır. Hesaplanan etki büyüklüğü ve bağımsız grup sayısının iki olması durumu göz önünde bulundurulduğunda %90 güç ve %5 anlamlılık düzeyinde her grupta 145 olmak üzere çalışmaya toplam 290 kişinin dahil edilmesi gerektiği hesaplanmıştır. Papiller tiroid kanseri tanısı almış olanlar (hasta grubu) ve tiroid kanseri hastalığı olmayan kişilerden (kontrol grubu) alınan kan örneklerinden genomik DNA'lar izole edilerek PCR ve RFLP yöntemleriyle MMP-9 C-1562T (rs3918242), MMP-9 Gln279Arg (rs17576) ve MMP-9 Arg668Gln (rs17577) gen polimorfizmleri araştırılmıştır. Normal dağılım varsayımı Shapiro-Wilk testi ile kontrol edilmiştir. İki bağımsız grup karşılaştırmalarında normal dağılıma uyan değişkenler için t testi kullanılmış, normal dağılıma uymayan değişkenler için ise Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Nicel değişkenler arasındaki ilişkiler normal dağılıma bağlı olarak Pearson korelasyon katsayısı veya Spearman korelasyon katsayısı ile araştırılmıştır. Nitel değişkenler arasındaki ilişkiler ise ki-kare testleri ile araştırılmıştır. Nicel değişkenler için tanımlayıcı istatistik olarak ortalama ve standart sapma veya ortanca ve çeyrekler verilmiş, nitel değişkenler için ise sıklık ve yüzde verilmiştir. Tüm istatistiksel analizlerde anlamlılık düzeyi 0,05 olarak belirlenmiş ve $p<0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

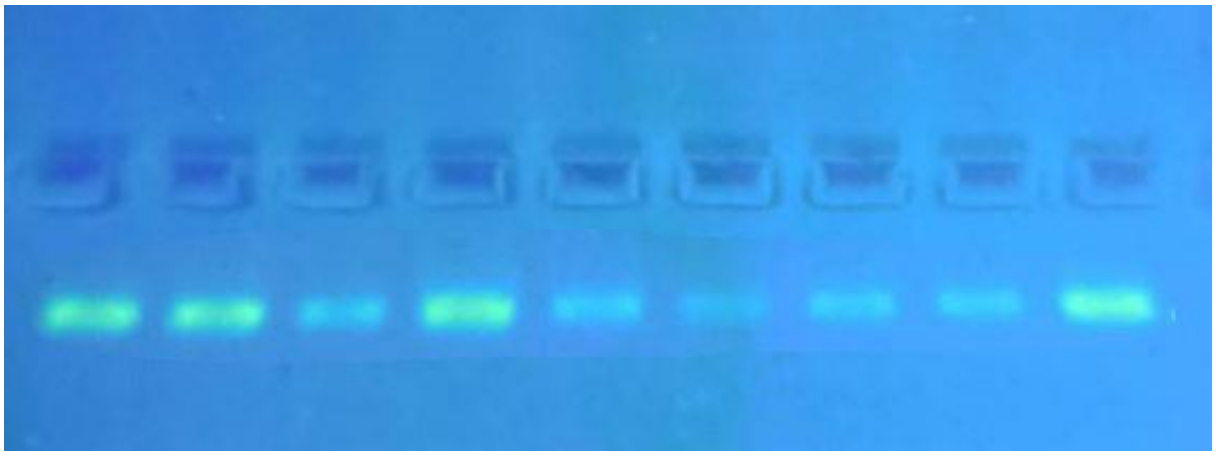
Yapılan tetkikler sonucunda papiller tirod kanseri tanısı almış olan hasta grubu ile kontrol grubu arasında yaş ve cinsiyet karşılaştırması yapılmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 14'te gösterilmiştir.

Tablo 14. Hasta ve kontrol grupları arasında yaş ve cinsiyet karşılaştırması

Bulgular	**Genel**		**p**
	Hasta Grubu (n=145)	**Kontrol Grubu (n=145)**	
Yaş	49 ± 10,07	49 ± 9,6	0, 99
Erkek	%13,1	%13,1	1
Kadın	%86,9	%86,9	1

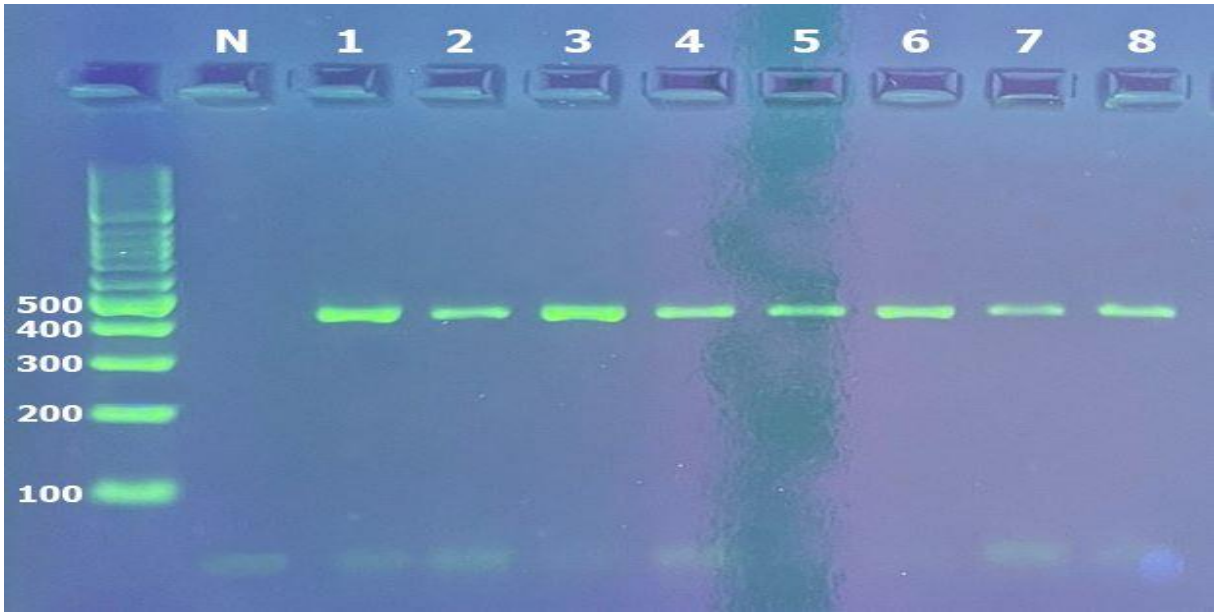
Hasta grubundaki ve kontrol grubundaki erkeklerin yaş ortalaması 50,47, hasta grubundaki ve kontrol grubundaki kadınların yaş ortalaması ise 48,79 olarak hesaplanmıştır.

Hasta ve kontrol grubundan alınan venöz kanlardan izole edilen DNA'ların saflığı ve kalitesini tespit etmek amacı ile %0.8'lik agaroz jelde elektroforez yöntemi ile DNA'lar yürütülerek elde edilen bantlar ultraviyole ışık altında gözlemlenmiştir (Şekil 12).



Şekil 12. İzole DNA'ların %0.8'lik agaroz jelde yürütüldükten sonra jelin ultraviyole ışık altındaki görüntüsü

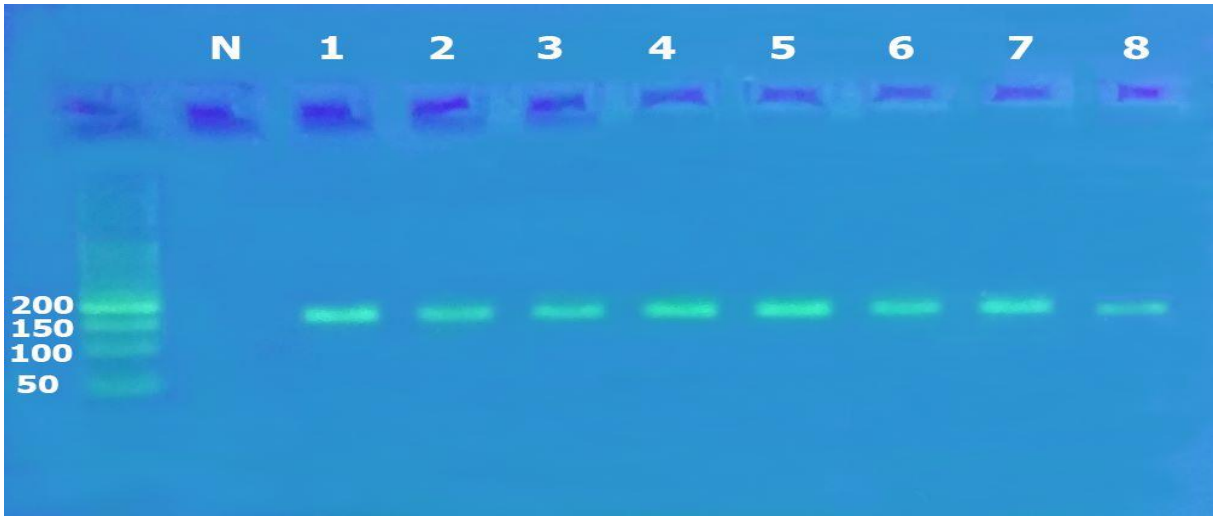
MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi için seçilmiş olan bölgelere ait primerler kullanılarak, PZR işlemi gerçekleştirildi. Elde edilmiş olan PZR ürünleri %2'lik agaroz jelde yürütüldü. PZR ürünleri yeterince yürütüldükten sonra jel, ultraviyole ışık altında incelendi (Şekil 13). Ürünlerin beklendiği gibi 436 baz çift aralığında olduğu gözlemlendi.



Şekil 13. Matriks metalloproteinaz-9 C-1562T gen polimorfizmi için elde edilen PZR ürünlerinin %2'lik agaroz jelde yürütülmesi sonucunda jelin ultraviyole ışık altındaki görüntüsü

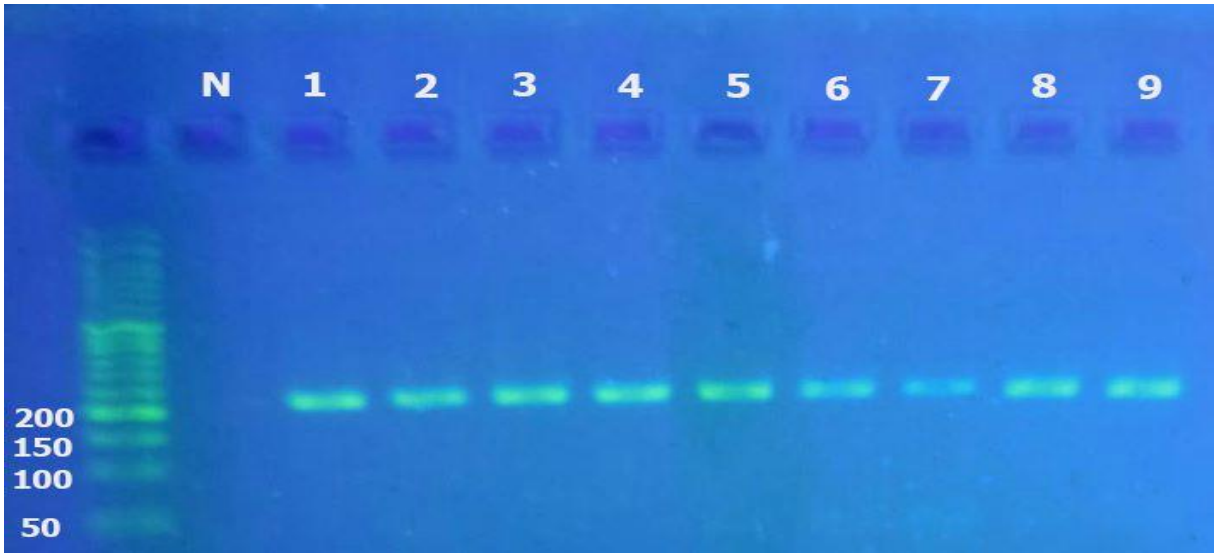
Matriks metalloproteinaz-9 Gln279Arg gen polimorfizmi için özgün bölgelere ait primerler kullanılarak polimeraz zincir reaksiyon işlemi gerçekleştirildi. Elde edilen PZR ürünleri %2,5'lik agaroz jelde yürütüldü. PZR ürünleri yeterince yürütüldükten sonra jel,

ultraviyole ışık altında incelendi (Şekil 14). Ürünlerin beklendiği gibi 163 baz çift aralığında olduğu gözlemlendi.



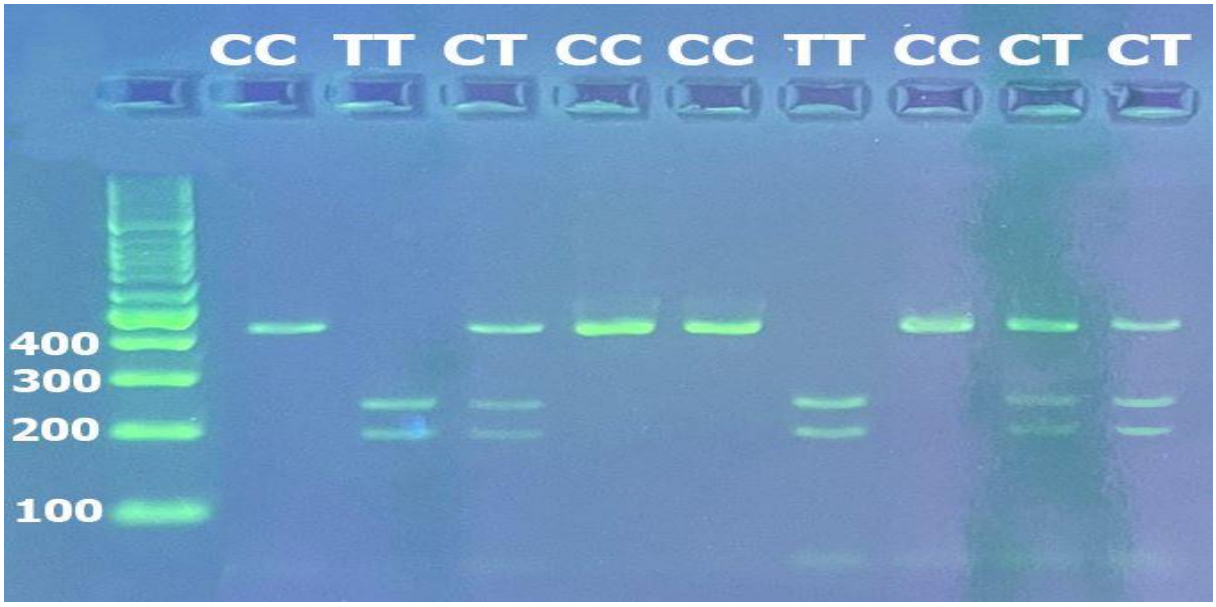
Şekil 14. Matriks metalloproteinaz-9 Gln279Arg gen polimorfizmi için elde edilen PZR ürünlerinin %2,5'lik agaroz jelde yürütülmesi sonucunda jelin ultraviyole ışık altındaki görüntüsü

Matriks metalloproteinaz-9 Arg668Gln gen polimorfizmi için özgün bölgelere ait primerler kullanılarak polimeraz zincir reaksiyon işlemi gerçekleştirildi. Elde edilen PZR ürünleri %2,2'lik agaroz jelde yürütüldü. PZR ürünleri yeterince yürütüldükten sonra jel, ultraviyole ışık altında incelendi (Şekil 15). Ürünlerin beklendiği gibi 214 baz çift aralığında olduğu gözlemlendi.



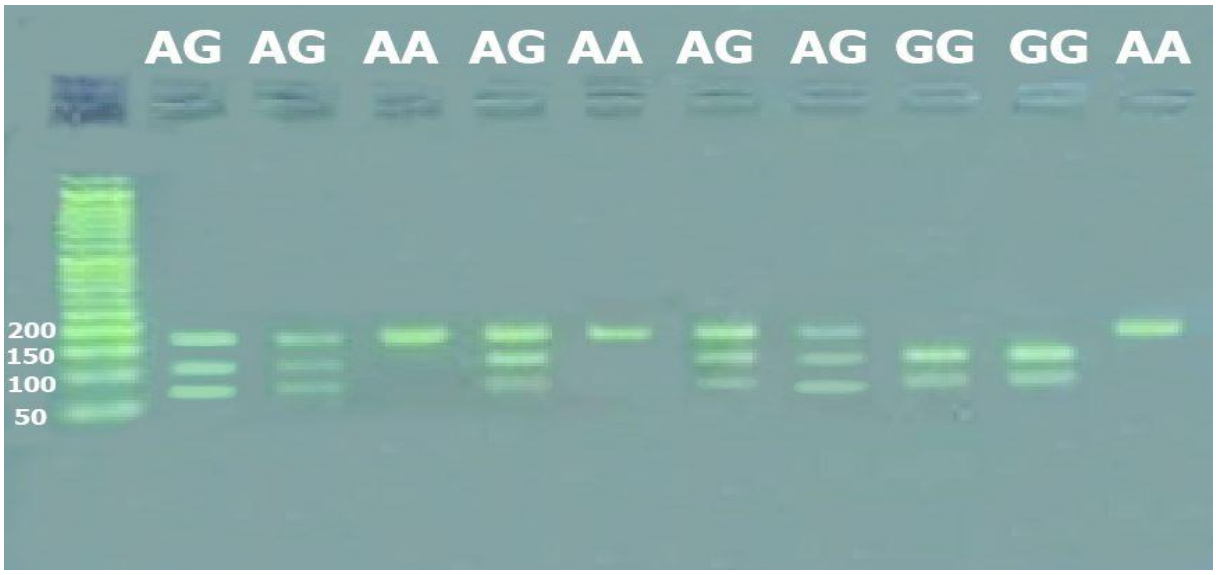
Şekil 15. Matriks metalloproteinaz-9 Arg668Gln gen polimorfizmi için elde edilen PZR ürünlerinin %2,2'lik agaroz jelde yürütülmesi sonucunda jelin ultraviyole ışık altındaki görüntüsü

Matriks metalloproteinaz-9 C-1562T gen polimorfizmi için elde edilen PZR ürünleri, ilgili bölgeye ait SphI (PAEI) kesim enzimi kullanılarak 37°C'de 15 dakika bekletildi. Elde edilen kesim ürünleri %2.5'lik agaroz jelde yürütüldü ve jel ultraviyole ışık altında gözlemlendi. Elde edilen sonuçlardan hasta ve kontrol grupları için Matriks metalloproteinaz-9 C-1562T gen polimorfizmleri belirlendi (Şekil 16).



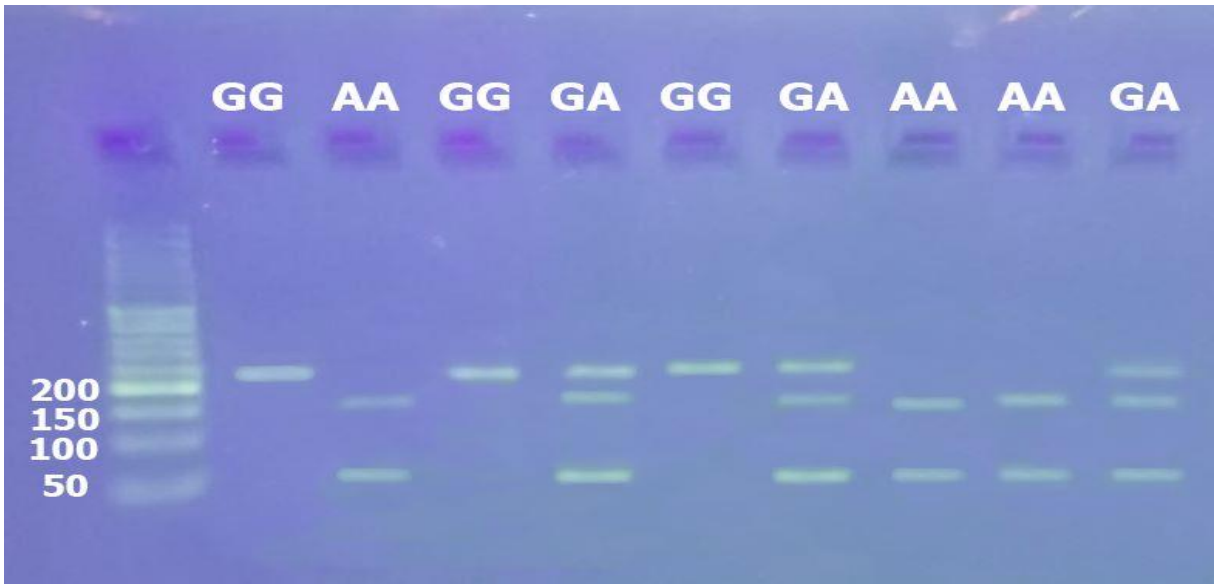
Şekil 16. Matriks metalloproteinaz-9 C-1562T gen polimorfizmi için elde edilen kesim ürünlerinin %2.5'lik agaroz jelde yürütülmesi sonucunda jelin ultraviyole ışık altındaki görüntüsü

Matriks metalloproteinaz-9 Gln279Arg gen polimorfizmi için elde edilen PZR ürünleri, ilgili bölgeye ait SmaI kesim enzimi kullanılarak 37°C'de 15 dakika bekletildi. Elde edilen kesim ürünleri %3'lük agaroz jelde yürütüldü ve jel ultraviyole ışık altında gözlemlendi. Elde edilen sonuçlardan hasta ve kontrol grupları için Matriks metalloproteinaz-9 Gln279Arg gen polimorfizmleri belirlendi (Şekil 17).



Şekil 17. Matriks metalloproteinaz-9 Gln279Arg gen polimorfizmi için elde edilen kesim ürünlerinin %3'lük agaroz jelde yürütülmesi sonucunda jelin ultraviyole ışık altındaki görüntüsü

Matriks metalloproteinaz-9 Arg668Gln gen polimorfizmi için elde edilen PZR ürünleri, ilgili bölgeye ait Eco130I(StyI) kesim enzimi kullanılarak 37°C'de 60 dakika bekletildi. Elde edilen kesim ürünleri %2,7'lik agaroz jelde yürütüldü ve jel ultraviyole ışık altında gözlemlendi. Elde edilen sonuçlardan hasta ve kontrol grupları için Matriks metalloproteinaz-9 Arg668Gln gen polimorfizmleri belirlendi (Şekil 18).



Şekil 18. Matriks metalloproteinaz-9 Arg668Gln gen polimorfizmi için elde edilen kesim ürünlerinin %2,7'lik agaroz jelde yürütülmesi sonucunda jelin ultraviyole ışık altındaki görüntüsü

MMP-9 C-1562T Gen Polimorfizmi İçin Genotip Dağılımları

Matriks metalloproteinaz-9 C-1562T gen polimorfizmi için genotip dağılımı incelendiğinde, hasta grubunda CC genotipinin görüldüğü 103 hasta (%71), CT genotipinin görüldüğü 38 hasta (%26,2) ve TT genotipinin görüldüğü 4 hasta (%2,8) belirlenmiştir. Kontrol grubunda CC genotipinin görüldüğü 113 kişi (%77,9), CT genotipinin görüldüğü 29 kişi (%20) ve TT genotipinin görüldüğü 3 kişi (%2,1) belirlenmiştir (p:0,40) (Tablo 15).

Tablo 15. Hasta ve kontrol grubu için MMP-9 C-1562T gen polimorfizmleri genotip dağılımları

MMP-9 C-1562T	**GRUPLAR**		**p**
GENOTİPLER	**HASTA**	**KONTROL**	
CC	103 (%71,0)	113 (%77,9)	0,40
CT	38 (%26,2)	29 (%20,0)	
TT	4 (%2,8)	3 (%2,1)	

CC: Citozin-Citozin**, TT:** Timin-Timin, **CT:** Citozin-Timin.

Hasta ve kontrol grubu arasında kadın ve erkek popülasyonu açısından Matriks metalloproteinaz-9 C-1562T gen polimorfizmi için genotip dağılımı değerlendirildiğinde, hasta grubunda bulunan 19 erkekten 14'ünde CC ve 5'inde CT genotipinin görüldüğü, TT genotipinin görülmediği belirlenmiştir. Kontrol grubunda bulunan 19 erkekten 12'sinde CC, 6'sında CT ve 1'inde de TT genotipinin görüldüğü belirlenmiştir (p:0,53). Hasta grubunda bulunan 126 kadındann 89'unda CC ve 33'ünde CT genotipinin görüldüğü ve 4'ünde TT genotipinin görüldüğü belirlenmiştir. Kontrol grubunda bulunan 126 kadından 101'inde CC, 23'ünde CT ve 2'sinde de TT genotipinin görüldüğü belirlenmiştir (p:0,20) (Tablo 16).

Tablo 16. MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi için cinsiyetler arası genotip dağılımları

CİNSİYET	GENOTİP	HASTA	KONTROL	P
ERKEK	CC	14 (%73,7)	12 (%63,2)	0,53
	CT	5 (%26,3)	6 (%31,6)	
	TT	0 (%0,0)	1 (%5,3)	
KADIN	CC	89 (%70,6)	101 (%80,2)	0,20
	CT	33 (%26,2)	23 (%18,3)	
	TT	4 (%3,2)	2 (%1,6)	

CC: Citozin-Citozin**, TT:** Timin-Timin, **CT:** Citozin-Timin.

Çalışmamıza dahil edilen hastalarda klasik, foliküler, onkositik ve tall cell olmak üzere 4 varyant tespit edilmiştir. 145 kişiden oluşan hasta grubunda; 68 kişide klasik varyant, 54 kişide foliküler varyant, 17 kişide onkositik varyant ve 6 kişide de tall cell varyant tespit edilmiştir. MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi için; Klasik varyant bulunan 68 kişinin 50'sinde CC, 15'inde CT ve 3'ünde de TT genotipi belirlenmiştir. Foliküler varyant bulunan 54 kişinin 41'inde CC, 12'sinde CT ve 1'inde de TT genotipi belirlenmiştir. Onkositik varyant bulunan 17 kişinin 12'sinde CC ve 5'inde CT genotopi belirlenmiş ancak TT genotipi belirlenmemiştir. Tall cell varyant bulunan 6 kişinin 6'sında da CT genotipi belirlenmiş ancak CC ve TT genotipi belirlenmemiştir (Tablo 17).

Tablo 17. Varyantlar arasında MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi genotip dağılımları

GENOTİP	VARYANTLAR				P
	KLASİK	FOLİKÜLER	ONKOSİTİK	TALL CELL	
CC	50 (%48,5)	41 (%39,8)	12(%11,7)	0 (%0,0)	0,004
CT	15 (%39,5)	12 (%31,6)	5 (%13,2)	6 (%15,8)	
TT	3 (%75)	1 (%25)	0 (%0,0)	0 (%0,0)	

CC: Citozin-Citozin**, TT:** Timin-Timin, **CT:** Citozin-Timin.

Tümör çaplarına göre değerlendirme yapıldığında; çalışmamıza katılan 145 hastanın 70'inin tümör çapının 1 cm'den küçük (T1a) olduğu, 28'inin 1-2 cm aralığında (T1b) olduğu, 21'inin 2-4 cm aralığında (T2) olduğu ve 26'sının da 4 cm'den büyük (T3) olduğu tespit edilmiştir. Tümör çaplarına göre MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi genotiplerinin dağılımlarına bakıldığında; T1a çapında tümörü olan hastaların 50'sinde CC, 18'inde CT ve 2'sinde TT genotipi tespit edilmiştir. T1b çapında tümörü olan hastaların 22'sinde CC, 5'inde CT ve 1'inde TT genotipi tespit edilmiştir. T2 çapında tümörü olan hastaların 17'sinde CC ve 4'ünde CT genotipi tespit edilmiş, TT genotipi tespit edilmemiştir. T3 çapında tümörü olan hastaların 14'ünde CC, 11'inde CT ve 1'inde de TT genotipi tespit edilmiştir (Tablo 18).

Tablo 18. Tümör çapına göre MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi genotip dağılımları

GENOTİP	**TÜMÖR ÇAPI**				**P**
	T1a	**T1b**	**T2**	**T3**	
CC	50 (%48,5)	22 (%21,4)	17 (%16,5)	14 (%13,6)	0,41
CT	18 (%47,4)	5 (%13,2)	4 (%10,5)	11 (%28,9)	
TT	2 (%50,0)	1 (%25,0)	0 (%0,0)	1 (%25,0)	

CC: Citozin-Citozin **, TT:** Timin-Timin, **CT:** Citozin-Timin.

Lenf nodu metastazı olup olmaması durumuna göre değerlendirme yapıldığında; çalışmamıza katılan 145 hastanın 57'sinde lenf nodu metastazı olmadığı (N0), 22'sinde lenf nodu metastazı olduğu (N1) tespit edilmiştir. Geriye kalan 66 kişide lenf nodu metastazı olup olmadığı değerlendirilmemiştir (NX). Lenf nodu metastazına göre MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi genotiplerinin dağılımlarına bakıldığında; lenf nodu metastazı olmayan 57 hastanın 39'unda CC, 16'sında CT ve 2'sinde TT genotipi tespit edilmiştir. Lenf nodu metastazı olan 22 hastanın 15'inde CC, 5'inde CT ve 2'sinde TT genotipi tespit edilmiştir. Lenf nodu metastazı değerlendirilmeyen 66 hastanın 49'unda CC ve 17'sinde CT genotipi tespit edilmiş ancak TT genotipi tespit edilmemiştir (Tablo 19).

Tablo 19. Lenf nodu metastazına göre MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi genotip dağılımları

GENOTİP	LENF NODU METASTAZI			P
	N0	N1	NX	
CC	39 (%37,9)	15 (%14,6)	49 (%47,5)	0,24
CT	16 (%42,1)	5 (%13,2)	17 (%44,7)	
TT	2 (%50,0)	2 (%50,0)	0 (%0,0)	

CC: Citozin-Citozin **, TT:** Timin-Timin, **CT:** Citozin-Timin.

MMP-9 C-1562T Gen Polimorfizmi İçin Allel Dağılımları

Allel frekanslarına bakıldığında hasta grubunda 244 tane C alleli, 46 tane T alleli bulunmuştur. Kontrol grubunda ise 255 tane C alleli, 35 tane T alleli bulunmuştur. Hasta ve kontrol grubundan alınan kan numunelerinin matriks metalloproteinaz-9 C-1562T gen polimorfizmi işlemi sonucunda C ve T allelleri karşılaştırıldığında önemli bir farklılık görülmemiştir (p:0,19)(Tablo 20).

Tablo 20. Hasta ve kontrol grubu için MMP-9 C-1562T gen polimorfizmleri allel dağılımları

MMP-9 C-1562T	GRUPLAR		p
ALLEL FREKANSLARI	HASTA	KONTROL	
C ALLEL FREKANSI	244 (%84,14)	255 (%87,93)	0,19
T ALLEL FREKANSI	46 (%15,86)	35 (%12,07)	

T: Timin, **C:** Citozin

Kadın ve erkek gönüllüler açısından Matriks metalloproteinaz-9 C-1562T gen polimorfizmi için allel frekansları değerlendirildiğinde; çalışmaya katılan 38 erkek gönüllüde 63 tane C alleli ve 13 tane de T alleli tespit edilmiştir. Çalışmaya katılan 252 kadın gönüllüde 436 tane C ve 68 tane de T alleli tespit edilmiştir (Tablo 21).

Tablo 21. Erkek ve kadın gönüllüler için MMP-9 C-1562T gen polimorfizmleri allel dağılımları

MMP-9 C-1562T	GRUPLAR		p
ALLEL FREKANSLARI	ERKEK	KADIN	
C ALLEL FREKANSI	63 (%82,89)	436 (%86,51)	0,40
T ALLEL FREKANSI	13 (%17,11)	68 (%13,49)	

T: Timin, **C:** Citozin

Hasta ve kontrol grubu arasında kadın ve erkek popülasyonu açısından Matriks metalloproteinaz-9 C-1562T gen polimorfizmi için allel frekansları değerlendirildiğinde; hasta grubunda bulunan erkeklerde 33 tane C ve 5 tane T alleli tespit edilmiştir. Kontrol grubunda bulunan erkeklerde 30 tane C ve 8 tane T alleli tespit edilmiştir. Hasta grubunda bulunan kadınlarda 211 tane C ve 41 tane T alleli tespit edilmiştir. Kontrol grubunda bulunan kadınlarda 225 tane C ve 27 tane T alleli tespit edilmiştir (Tablo 22).

Tablo 22. MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi için hasta ve kontrol grubu cinsiyetler arası allel dağılımları

CİNSİYET	ALLELLER	HASTA	KONTROL	P
ERKEK	C	33 (%86,84)	30 (%78,95)	0,36
	T	5 (%13,16)	8 (%21,05)	
KADIN	C	211 (%83,73)	225 (%89,28)	0,068
	T	41 (%16,27)	27 (%10,72)	

T: Timin, **C:** Citozin

Varyantlar açısından allel frekansları değerlendirildiğinde, MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi için; klasik varyant bulunan 68 kişide, 115 tane C alleli ve 21 tane T alleli belirlenmiştir. Foliküler varyant bulunan 54 kişide, 94 tane C alleli ve 14 tane T alleli, belirlenmiştir. Onkositik varyant bulunan 17 kişide, 29 tane C alleli ve 5 tane T alleli belirlenmiştir. Tall cell varyant bulunan 6 kişide 6 adet C alleli ve 6 adet T alleli belirlenmiştir (Tablo 23).

Tablo 23. Varyantlar arasında MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi allel dağılımları

ALLELLER	VARYANTLAR				P
	KLASİK	FOLİKÜLER	ONKOSİTİK	TALL CELL	
C	115 (%84,56)	94 (%87,03)	29 (%85,29)	6 (%50,00)	0,01
T	21 (%15,44)	14 (%12,97)	5 (%14,71)	6 (%50,00)	

T: Timin, **C:** Citozin

Tümör çaplarına göre MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi için allel frekanslarına bakıldığında; T1a çapında tümörü olan hastalarda 118 tane C alleli ve 22 tane T alleli tespit edilmiştir. T1b çapında tümörü olan hastalarda 49 tane C alleli ve 7 tane T alleli tespit edilmiştir. T2 çapında tümörü olan hastalarda 38 tane C alleli ve 4 tane T alleli tespit edilmiştir. T3 çapında tümörü olan hastalarda 39 tane C alleli ve 13 tane T alleli tespit edilmiştir (Tablo 24).

Tablo 24. Tümör çapına göre MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi allel dağılımları

ALLELLER	TÜMÖR ÇAPI				P
	T1a	T1b	T2	T3	
C	118 (%84,29)	49 (%87,50)	38 (%90,47)	39 (%75,00)	0,17
T	22 (%15,71)	7 (%12,50)	4 (%9,53)	13 (%25,00)	

T: Timin, **C:** Citozin

Lenf nodu metastazı olup olmamasına göre MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi için allel frekanslarının dağılımlarına bakıldığında; lenf nodu metastazı olmayan 57 hastada, 94 tane C alleli ve 20 tane T alleli tespit edilmiştir. Lenf nodu metastazı olan 22 hastada, 35 tane C alleli ve 9 tane T alleli tespit edilmiştir. Lenf nodu metastazı değerlendirilmeyen 66 hastada, 115 tane C alleli ve 17 tane T alleli tespit edilmiştir (Tablo 25).

Tablo 25. Lenf nodu metastazına göre MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi allel dağılımları

ALLELLER	LENF NODU METASTAZI			P
	N0	N1	NX	
C	94 (%82,45)	35 (%79,54)	115 (%87,12)	0,40
T	20 (%17,55)	9 (%20,46)	17 (%12,88)	

T: Timin, **C:** Citozin

MMP-9 Gln279Arg Gen Polimorfizmi İçin Genotip Dağılımları

Matriks metalloproteinaz-9 Gln279Arg gen polimorfizmi için genotip dağılımı incelendiğinde, hasta grubunda AA genotipinin görüldüğü 59 hasta (%40,7), AG genotipinin görüldüğü 69 hasta (%47,6) ve GG genotipinin görüldüğü 17 hasta (%11,7) belirlenmiştir. Kontrol grubunda AA genotipinin görüldüğü 54 kişi (%37,2), AG genotipinin görüldüğü 76 kişi (%52,4) ve GG genotipinin görüldüğü 15 kişi (%10,4) belirlenmiştir (p:0,71) (Tablo 26).

Tablo 26. Hasta ve kontrol grubu için MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmleri genotip dağılımları

MMP-9 Gln279Arg	GRUPLAR		p
GENOTİPLER	HASTA	KONTROL	
AA	59 (%40,7)	54 (%37,2)	0,71
AG	69 (%47,6)	76 (%52,4)	
GG	17 (%11,7)	15 (%10,4)	

AA: Adenin-Adenin **, AG:** Adenin-Guanin, **GG:** Guanin-Guanin

Hasta ve kontrol grubu arasında kadın ve erkek popülasyonu açısından Matriks metalloproteinaz-9 Gln279Arg gen polimorfizmi için genotip dağılımı değerlendirildiğinde, hasta grubunda bulunan 19 erkekten 7'sinde AA, 11'inde AG ve 1'inde GG genotipinin görüldüğü belirlenmiştir. Kontrol grubunda bulunan 19 erkekten 5'inde AA, 11'inde AG ve 3'ünde GG genotipinin görüldüğü belirlenmiştir (p:0,51). Hasta grubunda bulunan 126 kadından 52'sinde AA, 58'inde AG ve 16'ında GG genotipinin görüldüğü belirlenmiştir.

Kontrol grubunda bulunan 126 kadından 49'unda AA, 65'inde AG ve 12'sinde GG genotipinin görüldüğü belirlenmiştir (p:0,59) (Tablo 27).

Tablo 27. MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi için cinsiyetler arası genotip dağılımları

CİNSİYET	GENOTİP	HASTA	KONTROL	P
ERKEK	AA	7 (%36,8)	5 (%26,3)	0,51
	AG	11 (%57,9)	11 (%57,9)	
	GG	1 (%5,3)	3 (%15,8)	
KADIN	AA	52 (%41,3)	49 (%38,9)	0,59
	AG	58 (%46,0)	65 (%51,6)	
	GG	16 (%12,7)	12 (%9,5)	

AA: Adenin-Adenin**, AG:** Adenin-Guanin, **GG:** Guanin-Guanin

Varyantlar açısından bakıldığında ise çalışmamıza katılan 145 kişiden oluşan hasta grubunda; 68 kişide klasik varyant, 54 kişide foliküler varyant, 17 kişide onkositik varyant ve 6 kişide de tall cell varyant tespit edildiği belirtilmişti. MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi için; Klasik varyant bulunan 68 kişinin 33'ünde AA, 22'sinde AG ve 13'ünde de GG genotipi belirlenmiştir. Foliküler varyant bulunan 54 kişinin 21'inde AA, 31'inde AG ve 2'sinde de GG genotipi belirlenmiştir. Onkositik varyant bulunan 17 kişinin 5'inde AA, 11'inde AG ve 1'inde de GG genotopi belirlenmiştir. Tall cell varyant bulunan 6 kişinin 5'inde AG ve 1'inde GG genotipi belirlenmiş ancak AA genotipi belirlenmemiştir (Tablo 28).

Tablo 28. Varyantlar arasında MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi genotip dağılımları

GENOTİP	VARYANTLAR				P
	KLASİK	FOLİKÜLER	ONKOSİTİK	TALL CELL	
AA	33 (%55,9)	21 (%35,6)	5 (%8,5)	0 (%0,0)	0,007
AG	22 (%31,9)	31 (%44,9)	11 (%15,9)	5 (%7,3)	
GG	13 (%76,4)	2 (%11,8)	1 (%5,9)	1 (%5,9)	

AA: Adenin-Adenin **, AG:** Adenin-Guanin, **GG:** Guanin-Guanin

Tümör çaplarına göre değerlendirildiğinde; çalışmamıza katılan 145 hastanın 70'inin tümör çapının 1 cm'den küçük (T1a) olduğu, 28'inin 1-2 cm aralığında (T1b) olduğu, 21'inin 2-4 cm aralığında (T2) olduğu ve 26'sının da 4 cm'den büyük (T3) olduğu tespit edilmişti. Tümör çaplarına göre MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi genotiplerinin dağılımlarına bakıldığında; T1a çapında tümörü olan hastaların 31'inde AA, 29'unda AG ve 10'unda GG genotipi tespit edilmiştir. T1b çapında tümörü olan hastaların 12'sinde AA, 15'inde AG ve 1'inde GG genotipi tespit edilmiştir. T2 çapında tümörü olan hastaların 7'sinde AA, 11'inde AG ve 3'ünde GG genotipi tespit edilmiştir. T3 çapında tümörü olan hastaların 9'unda AA, 14'ünde AG ve 3'ünde GG genotipi tespit edilmiştir (Tablo 29).

Tablo 29. Tümör çapına göre MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi genotip dağılımları

GENOTİP	**TÜMÖR ÇAPI**				**P**
	T1a	**T1b**	**T2**	**T3**	
AA	31 (%52,5)	12 (%20,3)	7 (%11,9)	9 (%15,3)	0,68
AG	29 (%42,0)	15 (%21,8)	11 (%15,9)	14 (%20,3)	
GG	10 (%58,9)	1 (%5,9)	3 (%17,6)	3 (%17,6)	

AA: Adenin-Adenin**, AG:** Adenin-Guanin, **GG:** Guanin-Guanin.

Lenf nodu metastazı olup olmaması durumuna göre değerlendirildiğinde, çalışmamıza katılan 145 hastanın 57'sinde lenf nodu metastazı olmadığı (N0), 22'sinde lenf nodu metastazı olduğu (N1) tespit edilmişti. Geriye kalan 66 kişide lenf nodu metastazı olup olmadığının değerlendirilmediği (NX) belirtilmişti. Lenf nodu metastazına göre MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi genotiplerinin dağılımlarına bakıldığında; lenf nodu metastazı olmayan 57 hastanın 18'inde AA, 33'ünde AG ve 6'sında GG genotipi tespit edilmiştir. Lenf nodu metastazı olan 22 hastanın 5'inde AA, 14'ünde AG ve 3'ünde GG genotipi tespit edilmiştir. Lenf nodu metastazı değerlendirilmeyen 66 hastanın 36'sında AA, 22'sinde AG ve 8'inde GG genotipi tespit edilmiştir (Tablo 30).

Tablo 30. Lenf nodu metastazına göre MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi genotip dağılımları

GENOTİP	LENF NODU METASTAZI			P
	N0	N1	NX	
AA	18 (%30,5)	5 (%8,5)	36 (%61,0)	0,022
AG	33 (%47,8)	14 (%20,3)	22 (%31,9)	
GG	6 (%35,3)	3 (%17,6)	8 (%47,1)	

AA: Adenin-Adenin**, AG:** Adenin-Guanin, **GG:** Guanin-Guanin.

MMP-9 Gln279Arg Gen Polimorfizmi İçin Allel Dağılımları

Allel frekanslarına bakıldığında hasta grubunda 187 tane A alleli, 103 tane G alleli bulunmuştur. Kontrol grubunda ise 184 tane A alleli, 106 tane G alleli bulunmuştur. Hasta grubu ve kontrol grubundan alınan kan örneklerinin matriks metalloproteinaz-9 Gln279Arg gen polimorfizmi işlemi sonucunda A ve G allelleri karşılaştırıldığında önemli bir farklılık görülmemiştir (p:0,79)(Tablo 31).

Tablo 31. Hasta ve kontrol grubu için MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmleri allel dağılımları

MMP-9 Gln279Arg	GRUPLAR		p
ALLEL FREKANSLARI	HASTA	KONTROL	
A ALLEL FREKANSI	187 (%64,48)	184 (%63,45)	0,79
G ALLEL FREKANSI	103 (%35,52)	106 (%36,55)	

A: Adenin, **G:** Guanin

Kadın ve erkek gönüllüler açısından Matriks metalloproteinaz-9 Gln279Arg gen polimorfizmi için allel frekansları değerlendirildiğinde; çalışmaya katılan 38 erkek gönüllüde 46 tane A alleli ve 30 tane de G alleli tespit edilmiştir. Çalışmaya katılan 252 kadın gönüllüde 325 tane A ve 179 tane de G alleli tespit edilmiştir (Tablo 32).

Tablo 32. Erkek ve kadın gönüllüler için MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmleri allel dağılımları

MMP-9 Gln279Arg	GRUPLAR		p
ALLEL FREKANSLARI	ERKEK	KADIN	
A ALLEL FREKANSI	46 (%60,52)	325 (%64,48)	0,50
G ALLEL FREKANSI	30 (%39,48)	179 (%35,52)	

A: Adenin, **G:** Guanin

Hasta ve kontrol grubu arasında kadın ve erkek popülasyonu açısından Matriks metalloproteinaz-9 Gln279Arg gen polimorfizmi için allel frekansları değerlendirildiğinde; hasta grubunda bulunan erkeklerde 25 tane A ve 13 tane G alleli tespit edilmiştir. Kontrol grubunda bulunan erkeklerde 21 tane A ve 17 tane G alleli tespit edilmiştir. Hasta grubunda bulunan kadınlarda 162 tane A ve 90 tane G alleli tespit edilmiştir. Kontrol grubunda bulunan kadınlarda 163 tane A ve 89 tane G alleli tespit edilmiştir (Tablo 33).

Tablo 33. MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi için hasta ve kontrol grubu cinsiyetler arası allel dağılımları

CİNSİYET	ALLELLER	HASTA	KONTROL	P
ERKEK	A	25 (%65,79)	21 (%55,26)	0,35
	G	13 (%34,21)	17 (%44,74)	
KADIN	A	162 (%64,28)	163 (%64,68)	0,92
	G	90 (%35,72)	89 (%35,32)	

A: Adenin, **G:** Guanin

Varyantlar açısından allel frekansları değerlendirildiğinde, MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi için; klasik varyant bulunan 68 kişide, 88 tane A alleli ve 48 tane G alleli belirlenmiştir. Foliküler varyant bulunan 54 kişide, 73 tane A alleli ve 35 tane G alleli, belirlenmiştir. Onkositik varyant bulunan 17 kişide, 21 tane A alleli ve 13 tane G alleli belirlenmiştir. Tall cell varyant bulunan 6 kişide 5 adet A alleli ve 7 adet G alleli belirlenmiştir (Tablo 34).

Tablo 34. Varyantlar arasında MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi allel dağılımları

ALLELLER	VARYANTLAR				P
	KLASİK	FOLİKÜLER	ONKOSİTİK	TALL CELL	
A	88 (%64,70)	73 (%67,59)	21 (%61,76)	5 (%41,67)	0,35
G	48 (%35,30)	35 (%32,41)	13 (%38,24)	7 (%58,33)	

A: Adenin, **G:** Guanin

Tümör çaplarına göre MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi için allel frekanslarına bakıldığında; T1a çapında tümörü olan hastalarda 91 tane A alleli ve 49 tane G alleli tespit edilmiştir. T1b çapında tümörü olan hastalarda 39 tane A alleli ve 17 tane G alleli tespit edilmiştir. T2 çapında tümörü olan hastalarda 25 tane A alleli ve 17 tane G alleli tespit edilmiştir. T3 çapında tümörü olan hastalarda 32 tane A alleli ve 20 tane G alleli tespit edilmiştir (Tablo 35).

Tablo 35. Tümör çapına göre MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi allel dağılımları

ALLELLER	TÜMÖR ÇAPI				P
	T1a	T1b	T2	T3	
A	91 (%65,00)	39 (%69,64)	25 (%59,52)	32 (%61,54)	0,72
G	49 (%35,00)	17 (%30,36)	17 (%40,48)	20 (%38,46)	

A: Adenin, **G:** Guanin

Lenf nodu metastazı olup olmamasına göre MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi için allel frekanslarının dağılımlarına bakıldığında; lenf nodu metastazı olmayan 57 hastada, 69 tane A alleli ve 45 tane G alleli tespit edilmiştir. Lenf nodu metastazı olan 22 hastada, 24 tane A alleli ve 20 tane G alleli tespit edilmiştir. Lenf nodu metastazı değerlendirilmeyen 66 hastada, 94 tane A alleli ve 38 tane G alleli tespit edilmiştir (Tablo 36).

Tablo 36. Lenf nodu metastazına göre MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi allel dağılımları

ALLELLER	LENF NODU METASTAZI			P
	N0	N1	NX	
A	69 (%60,52)	24 (%54,55)	94 (%71,21)	0,07
G	45 (%39,48)	20 (%45,45)	38 (%28,79)	

A: Adenin, **G:** Guanin

MMP-9 Arg668Gln Gen Polimorfizmi İçin Genotip Dağılımları

Matriks metalloproteinaz-9 Arg668Gln gen polimorfizmi için genotip dağılımı incelendiğinde, hasta grubunda GG genotipinin görüldüğü 73 hasta (%50,3), GA genotipinin görüldüğü 68 hasta (%46,9) ve AA genotipinin görüldüğü 4 hasta (%2,8) belirlenmiştir. Kontrol grubunda GG genotipinin görüldüğü 72 kişi (%49,7), GA genotipinin görüldüğü 66 kişi (%45,5) ve AA genotipinin görüldüğü 7 kişi (%4,4) belirlenmiştir (p:0,65) (Tablo 37).

Tablo 37. Hasta ve kontrol grubu için MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmleri genotip dağılımları

MMP-9 Arg668Gln	GRUPLAR		p
GENOTİPLER	HASTA	KONTROL	
GG	73 (%49,7)	72 (%50,3)	0,65
GA	68 (%45,5)	66 (46,9)	
AA	4 (%4,8)	7 (%2,8)	

AA: Adenin-Adenin**, GA:** Guanin-Adenin, **GG:** Guanin-Guanin

Hasta ve kontrol grubu arasında kadın ve erkek popülasyonu açısından Matriks metalloproteinaz-9 Arg668Gln gen polimorfizmi için genotip dağılımı değerlendirildiğinde, hasta grubunda bulunan 19 erkekten 11'inde GG ve 8'inde GA genotipi belirlenmiş ancak AA genotipi belirlenmemiştir. Kontrol grubunda bulunan 19 erkekten 10'unda GG ve 9'unda GA genotipi belirlenmiş ancak AA genotipi belirlenmemiştir (p:0,74). Hasta grubunda bulunan 126 kadından 62'sinde GG, 60'ında GA ve 4'ünde AA genotipinin görüldüğü belirlenmiştir.

Kontrol grubunda bulunan 126 kadından 62'sinde GG, 57'sinde GA ve 7'sinde AA genotipinin görüldüğü belirlenmiştir (p:0,64) (Tablo 38).

Tablo 38. MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmi için cinsiyetler arası genotip dağılımları

CİNSİYET	GENOTİP	HASTA	KONTROL	P
ERKEK	GG	11 (%57,9)	10 (%52,6)	0,74
	GA	8 (%42,1)	9 (%47,4)	
	AA	0 (%0,0)	0 (%0,0)	
KADIN	GG	62 (%49,2)	62 (%49,2)	0,64
	GA	60 (%47,6)	57 (%45,2)	
	AA	4 (%3,2)	7 (%5,6)	

AA: Adenin-Adenin **, GA:** Guanin-Adenin, **GG:** Guanin-Guanin

Varyantlar açısından değerlendirildiğinde, 145 gönüllüden oluşan hasta grubunda; 68 kişide klasik varyant, 54 kişide foliküler varyant, 17 kişide onkositik varyant ve 6 kişide de tall cell varyant tespit edildiği belirtilmişti. MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmi için; Klasik varyant bulunan 68 kişinin 34'ünde GG, 33'ünde GA ve 1'inde AA genotipi belirlenmiştir. Foliküler varyant bulunan 54 kişinin 29'unda GG, 23'ünde GA ve 2'sinde AA genotipi belirlenmiştir. Onkositik varyant bulunan 17 kişinin 5'inde GG, 11'inde GA ve 1'inde AA genotopi belirlenmiştir. Tall cell varyant bulunan 6 kişinin 5'inde GG ve 1'inde GA genotipi belirlenmiş ancak AA genotipi belirlenmemiştir (Tablo 39).

Tablo 39. Varyantlar arasında MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmi genotip dağılımları

GENOTİP	VARYANTLAR				P
	KLASİK	FOLİKÜLER	ONKOSİTİK	TALL CELL	
GG	34 (%46,6)	29 (%39,8)	5 (%6,8)	5 (%6,8)	0,34
GA	33 (%48,5)	23 (%33,8)	11 (%16,2)	1 (%1,5)	
AA	1 (%25,0)	2 (%50,0)	1 (%25,0)	0 (%0,0)	

AA: Adenin-Adenin **, GA:** Guanin-Adenin, **GG:** Guanin-Guanin

Çalışmamıza katılan 145 hastanın 70'inin tümör çapının 1 cm'den küçük (T1a) olduğu, 28'inin 1-2 cm aralığında (T1b) olduğu, 21'inin 2-4 cm aralığında (T2) olduğu ve 26'sının da 4 cm'den büyük (T3) olduğu belirtilmişti. Tümör çaplarına göre MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmi genotiplerinin dağılımlarına bakıldığında; T1a çapında tümörü olan hastaların 33'ünde GG, 34'ünde GA ve 3'ünde AA genotipi tespit edilmiştir. T1b çapında tümörü olan hastaların 11'inde GG, 16'sında GA ve 1'inde AA genotipi tespit edilmiştir. T2 çapında tümörü olan hastaların 13'ünde GG ve 8'inde GA genotipi tespit edilmiş ancak AA genotipi tespit edilmemiştir. T3 çapında tümörü olan hastaların 16'sında GG ve 10'unda GA genotipi tespit edilmiş ancak AA genotipi tespit edilmemiştir (Tablo 40).

Tablo 40. Tümör çapına göre MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmi genotip dağılımları

GENOTİP	**TÜMÖR ÇAPI**				**P**
	T1a	**T1b**	**T2**	**T3**	
GG	33 (%45,2)	11 (%15,1)	13 (%17,8)	16 (%21,9)	0,49
GA	34 (%50,0)	16 (%23,5)	8 (%11,8)	10 (%14,7)	
AA	3 (%75,0)	1 (%25,00)	0 (%0,0)	0 (%0,0)	

AA: Adenin-Adenin **, GA:** Guanin-Adenin, **GG:** Guanin-Guanin

Çalışmamıza katılan 145 hastanın 57'sinde lenf nodu metastazı olmadığı (N0), 22'sinde lenf nodu metastazı olduğu (N1) tespit edilmişti. Geriye kalan 66 kişide lenf nodu metastazı olup olmadığının değerlendirilmediği (NX) belirtilmişti. Lenf nodu metastazı varlığına göre MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmi genotiplerinin dağılımlarına bakıldığında; lenf nodu metastazı olmayan 57 hastanın 30'unda GG, 26'sında GA ve 1'inde AA genotipi tespit edilmiştir. Lenf nodu metastazı olan 22 hastanın 13'ünde GG, 7'sinde GA ve 2'sinde AA genotipi tespit edilmiştir. Lenf nodu metastazı değerlendirilmeyen 66 hastanın 30'unda GG, 35'inde GA ve 1'inde AA tespit edilmiştir (Tablo 41).

Tablo 41. Lenf nodu metastazına göre MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmi genotip dağılımları

GENOTİP	LENF NODU METASTAZI			P
	N0	N1	NX	
GG	30 (%41,1)	13 (%17,8)	30 (%41,1)	0,19
GA	26 (%38,2)	7 (%10,3)	35 (%51,5)	
AA	1 (%25,0)	2 (%50,0)	1 (%25,0)	

AA: Adenin-Adenin **, GA:** Guanin-Adenin, **GG:** Guanin-Guanin

MMP-9 Arg668Gln Gen Polimorfizmi İçin Allel Dağılımları

Allel frekanslarına bakıldığında hasta grubunda 214 tane G alleli, 76 tane A alleli bulunmuştur. Kontrol grubunda ise 210 tane G alleli, 80 tane A alleli bulunmuştur. Hasta grubu ve kontrol grubundan alınan kan örneklerinin matriks metalloproteinaz-9 Arg668Gln gen polimorfizmi işlemi sonucunda G ve A allelleri karşılaştırıldığında önemli bir farklılık görülmemiştir (p:0,70)(Tablo 42).

Tablo 42. Hasta ve kontrol grubu için MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmleri allel dağılımları

MMP-9 Arg668Gln	GRUPLAR		p
ALLEL FREKANSLARI	HASTA	KONTROL	
G ALLEL FREKANSI	214 (%73,79)	210 (%72,41)	0,70
A ALLEL FREKANSI	76 (%26,21)	80 (%27,59)	

A: Adenin, **G:** Guanin

Kadın ve erkek gönüllüler açısından Matriks metalloproteinaz-9 Arg668Gln gen polimorfizmi için allel frekansları değerlendirildiğinde; çalışmaya katılan 38 erkek gönüllüde 59 tane G alleli ve 17 tane de Aalleli tespit edilmiştir. Çalışmaya katılan 252 kadın gönüllüde 365 tane G ve 139 tane de A alleli tespit edilmiştir (Tablo 43).

Tablo 43. Erkek ve kadın gönüllüler için MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmleri allel dağılımları

MMP-9 Arg668Gln	GRUPLAR		p
ALLEL FREKANSLARI	ERKEK	KADIN	
G ALLEL FREKANSI	59 (%77,63)	365 (%72,42)	0,34
A ALLEL FREKANSI	17 (%22,37)	139 (%27,58)	

A: Adenin, **G:** Guanin

Hasta ve kontrol grubu arasında kadın ve erkek popülasyonu açısından Matriks metalloproteinaz-9 Arg668Gln gen polimorfizmi için allel frekansları değerlendirildiğinde; hasta grubunda bulunan erkeklerde 30 tane G ve 8 tane A alleli tespit edilmiştir. Kontrol grubunda bulunan erkeklerde 29 tane G ve 9 tane A alleli tespit edilmiştir. Hasta grubunda bulunan kadınlarda 184 tane G ve 68 tane A alleli tespit edilmiştir. Kontrol grubunda bulunan kadınlarda 181 tane G ve 71 tane A alleli tespit edilmiştir (Tablo 44).

Tablo 44. MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmi için hasta ve kontrol grubu cinsiyetler arası allel dağılımları

CİNSİYET	ALLELLER	HASTA	KONTROL	P
ERKEK	G	30 (%78,95)	29 (%76,32)	0,78
	A	8 (%21,05)	9 (%23,68)	
KADIN	G	184 (%73,02)	181 (%71,82)	0,76
	A	68 (%26,98)	71 (%28,18)	

A: Adenin, **G:** Guanin

Varyantlar açısından allel frekansları değerlendirildiğinde, MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmi için; klasik varyant bulunan 68 kişide, 101 tane G alleli ve 35 tane A alleli belirlenmiştir. Foliküler varyant bulunan 54 kişide, 81 tane G alleli ve 27 tane A alleli, belirlenmiştir. Onkositik varyant bulunan 17 kişide, 21 tane G alleli ve 13 tane A alleli belirlenmiştir. Tall cell varyant bulunan 6 kişide 11 adet G alleli ve 1 adet A alleli belirlenmiştir (Tablo 45).

Tablo 45. Varyantlar arasında MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmi allel dağılımları

ALLELLER	VARYANTLAR				P
	KLASİK	FOLİKÜLER	ONKOSİTİK	TALL CELL	
G	101 (%74,26)	81 (%75,0)	21 (%61,76)	11 (%91,67)	0,20
A	35 (%25,74)	27 (%25,0)	13 (%38,24)	1 (%8,33)	

A: Adenin, **G:** Guanin

Tümör çaplarına göre MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmi için allel frekanslarına bakıldığında; T1a çapında tümörü olan hastalarda 100 tane G alleli ve 40 tane A alleli tespit edilmiştir. T1b çapında tümörü olan hastalarda 38 tane G alleli ve 18 tane A alleli tespit edilmiştir. T2 çapında tümörü olan hastalarda 34 tane G alleli ve 8 tane A alleli tespit edilmiştir. T3 çapında tümörü olan hastalarda 42 tane G alleli ve 10 tane A alleli tespit edilmiştir (Tablo 46).

Tablo 46. Tümör çapına göre MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmi allel dağılımları

ALLELLER	TÜMÖR ÇAPI				P
	T1a	T1b	T2	T3	
G	100 (%71,43)	38 (%67,86)	34 (%80,95)	42 (%80,77)	0,28
A	40 (%28,57)	18 (%32,14)	8 (%19,05)	10 (%19,23)	

A: Adenin, **G:** Guanin

Lenf nodu metastazı olup olmamasına göre MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmi için allel frekanslarının dağılımlarına bakıldığında; lenf nodu metastazı olmayan 57 hastada, 86 tane G alleli ve 28 tane A alleli tespit edilmiştir. Lenf nodu metastazı olan 22 hastada, 33 tane G alleli ve 11 tane A alleli tespit edilmiştir. Lenf nodu metastazı değerlendirilmeyen 66 hastada, 95 tane G alleli ve 37 tane A alleli tespit edilmiştir (Tablo 47).

Tablo 47. Lenf nodu metastazına göre MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmi allel dağılımları

ALLELLER	LENF NODU METASTAZI			P
	N0	N1	NX	
G	86 (%75,44)	33 (%75,0)	95 (%71,97)	0,81
A	28 (%24,56)	11 (%25,0)	37 (%28,03)	

A: Adenin, **G:** Guanin

MMP-9 Gln279Arg, MMP-9 Arg668Gln ve MMP-9 C-1562T gen polimorfizmleri sonucu elde ettiğimiz genotipleri üçlü gruplar halinde değerlendirdiğimizde hasta ve kontrol gruplarında en fazla AAGACC haplotipinin olduğu görülmüştür. En az ise GGAATT haplotipi görülmüştür (Tablo 48).

Tablo 48. Üçlü grup halinde gen polimorfizmlerinin genotip dizilerinin dağılımı

MMP-9 Gln279Arg, MMP-9 Arg668Gln, MMP-9 C-1562T SIRALAMASI ŞEKLİNDE ELDE EDİLEN HAPLOTİPLER			
HAPLOTİPLER	**GRUPLAR**		**P**
	HASTA	**KONTROL**	
AAAACC	1	3	0,40
AAGACC	30	28	
AAGGCC	28	23	
AGAACC	2	1	
AGAACT	1	2	
AGGACC	18	21	
AGGACT	13	8	
AGGGCC	22	28	
AGGGCT	13	16	
GGAATT	0	1	
GGGACC	2	7	
GGGACT	3	1	
GGGATT	2	1	
GGGGCC	0	2	
GGGGCT	8	2	
GGGGTT	2	1	

A: Adenin, **G:** Guanin, **C:** Citozin, **T:** Timin

MMP-9 Gln279Arg ve MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmleri sonucu elde ettiğimiz genotipleri ikili gruplar halinde değerlendirdiğimizde hasta ve kontrol gruplarında en fazla AGGG haplotipinin olduğu görülmüştür. En az ise GGAA haplotipi görülmüştür (Tablo 49).

Tablo 49. İkili grup halinde MMP-9 Gln279Arg ile MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmlerinin genotip dizilerinin dağılımı

HAPLOTİPLER	GRUPLAR		P
	HASTA	KONTROL	
AAAA	1	3	0,69
AAGA	30	28	
AAGG	28	23	
AGAA	3	3	
AGGA	31	29	
AGGG	35	44	
GGAA	0	1	
GGGA	7	9	
GGGG	10	5	

A: Adenin, **G:** Guanin

MMP-9 Arg668Gln ve MMP-9 C-1562T gen polimorfizmleri sonucu elde ettiğimiz genotipleri ikili gruplar halinde değerlendirdiğimizde hasta ve kontrol gruplarında en fazla GACC haplotipinin olduğu görülmüştür. En az ise AATT haplotipi görülmüştür (Tablo 50).

Tablo 50. İkili grup halinde MMP-9 Arg668Gln ile MMP-9 C-1562T gen polimorfizmlerinin genotip dizilerinin dağılımı

HAPLOTİPLER	GRUPLAR		P
	HASTA	KONTROL	
AACC	3	4	0,78
AACT	1	2	
AATT	0	1	
GACC	50	56	
GACT	16	9	
GATT	2	1	
GGCC	50	53	
GGCT	21	18	
GGTT	2	1	

A: Adenin, **G:** Guanin, **C:** Citozin, **T:** Timin

MMP-9 Gln279Arg ve MMP-9 C-1562T gen polimorfizmleri sonucu elde ettiğimiz genotipleri ikili gruplar halinde değerlendirdiğimizde hasta ve kontrol gruplarında en fazla AACC haplotipinin olduğu görülmüştür. En az ise GGTT haplotipi görülmüştür (Tablo 51).

Tablo 51. İkili grup halinde MMP-9 Gln279Arg ile MMP-9 C-1562T gen polimorfizmlerinin genotip dizilerinin dağılımı

HAPLOTİPLER	GRUPLAR		P
	HASTA	KONTROL	
AACC	59	54	0,07
AGCC	42	50	
AGCT	27	26	
GGCC	2	9	
GGCT	11	3	
GGTT	4	3	

A: Adenin, **G:** Guanin, **C:** Citozin, **T:** Timin

TARTIŞMA

Tüm malign hastalıklara kıyasla daha nadir görülen tiroid bezi kanseri vakalarında metastaz görülmesi halinde, özellikle yaşlı bireylerde hayatta kalma oranı oldukça düşmektedir (22). Tiroid bezi kanser vakalarının büyük kısmını diferansiye tiroid bezi kanserleri, diferansiye tiroid bezi kanserlerinin de büyük kısmını papiller tiroid kanser vakaları oluşturmaktadır. 45 yaş altı papiller tiroid kanseri saptanan kişilerde hayatta kalım oranı %99 üzeri iken bu oran 45 yaş ve üzerinde olan kişilerde %90'a kadar düşmektedir. Lenf gangliyon metastazlarına sıklıkla rastlanan papiller tiroid kanserli hastaların yarıdan fazlasında malignite çok odaklıdır (29).

Tiroid kanserini etkilediği düşünülen genlerde yapılan birçok çalışmada gen polimorfizminin de etkin olduğu tespit edilmiştir. Örneğin 2021 yılında Çin'de yapılan bir çalışmada VAV3 gen polimorfizmlerinin tiroid kanseri ile ilişkisi olduğu gösterilmiştir (163). Yine 2021 yılında Çin'de yapılan başka bir çalışmada PCNXL2 gen polimorfizminin tiroid kanseri ile ilişkili olduğundan bu gen polimorfizminin hastalık için bir risk faktörü olabileceği öne sürülmüştür (164). 2022 yılında Romanya'da yapılan çalışmada diferansiye tiroid kanserlerinde vitamin D durumu ve VDR gen polimorfizmleri incelenmiş, sonuç olarak FokI gen polimorfizminin FF genotipinin ve TaqI gen polimorfizminin de TT genotipinin agresif tiroid kanser türlerinde etkisi olabileceği öne sürülmüştür (165). 2012 yılında Portekiz'de yapılan çalışmada medüller olmayan tiroid kanseri hastaları çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışma sonucunda Portekiz'de yaşayanlar için FOXE1 gen polimorfizmlerinin hastalıkla güçlü ilişkisi olduğu bildirilmiştir (166). 2022 yılında Mısır'da yapılan çalışmada GLP1-R gen polimorfizminin papiller tiroid kanseri hastalığı için risk faktörü olabileceği öne sürülmüştür

(167). Her ne kadar tiroid kanserleri ile bir çok gen polimorfizmlerinin ilişkili olduğu bildirilmiş ise de tiroid kanserlerinin ilişkili olmadığının tespit edildiği çalışmalar da bulunmaktadır. Örneğin 2003 yılında İspanya'da yapılan çalışmada Glutatyon S-transferaz polimorfizmlerinin tiroid kanserinin gelişmesinde herhangi bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir (168). Güney Kore'de yapılan çalışma sonucunda XRCC1 gen polimorfizmlerinin Güney Kore'de yaşayanların papiller tiroid kanserine yakalanması için herhangi bir risk faktörü olmadığını bildirmişlerdir (169). 2022 yılında İran'da yapılan çalışmada tiroid kanserinin klinikopatolojik özellikleri ile HOTAIR gen polimorfizminin ilişkisi olmadığı bildirilmiştir (170). Yine 2022 yılında Brezilya'da yapılan, IL17A ve IL17RA gen polimorfizmlerinin araştırıldığı çalışmada papiller tiroid kanserli hastalar ve kontrol grubu arasında alel ve genotip dağılımları açısından anlamlı bir farkın gözlenmediği bildirilmiştir (171). 2015 yılında Çin'de yapılan 1238 papiller tiroid kanserli hasta ve 1275 kişilik kontrol grubu içeren çalışmada papiller tiroid kanser riski ve hastalığın klinikopatolojik özellikleri ile Pre-miR-146a gen polimorfizminin ilişkili olmadığı belirtilmiştir (172).

20q11-q13 kromozomu üzerinde bulunan MMP-9 geni, 92-kDa kollajenaz IV'ü kodlamaktadır. MMP-9 C-1562T'nin fonksiyonel polimorfizmi MMP-9'un promotöründe, yükselen MMP-9 dereceleri ile bağlantılıdır (151). MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi gen promoterinde 1562'nci nükleotit olan sitozin ile timinin yer değiştirmesi neticesinde oluşur (79). MMP-9 C-1562T gen polimorfizminin bazı hastalıklarla ilişkisi olduğu bildirilmiştir. Örneğin; 2022 yılında Hidistan'da yapılan çalışma neticesinde kronik periodontitis hastalığı ile MMP-9 C-1562T gen polimorfizminin ilişkili olduğu gösterilmiştir (173). Avustralya'da Meme kanseri hastaları ile yapılan çalışmada, MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi sonucunda CT veya TT genotiplerine sahip hastaların, CC homozigotlarına kıyasla marjinal olarak daha iyi prognoz gösterdiği bildirilmiştir (174). 114 obez ve 112 obez olmayan kadının dahil edildiği bir başka çalışmada da MMP-9 C−1562T gen polimorfizminin kadınlarda obezite gelişiminde yer alan patogenetik mekanizmalara katkıda bulunabileceği belirtilmiştir (175). 2005 yılında Çin'de akut koroner sendrom hastaları yapılan çalışmada MMP-9 C-1562T genetik polimorfizminin, Çin'in han popülasyonundaki akut koroner sendrom hastalığına duyarlılığı ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir (176). Yine Çin'de iskemik inmeli hastalar ile yapılan çalışmada MMP-9 C-1562T gen polimorfizminin daha yüksek bir iskemik inme riski ile bağlantılı olduğuna dair ön kanıtlar sunduğunu ve MMP-9'un iskemik inme patofizyolojisindeki rolünün potansiyel olarak önemli terapötik etkilerle ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (177). 2022 yılında Çin'de intrakranial anevrizma hastaları ile yapılan

çalışmada MMP-9 C-1562T gen polimorfizminin intrakraniyal anevrizma hastalığı arasında bir korelasyon olduğu bildirilmiştir (178). Her ne kadar MMP-9 C-1562T gen polimorfizminin bazı hastalıklar ile ilişkili olduğu bildirilmiş ise de, tam tersine bazı hastalıklarla ilişkili olmadığını da gösteren çalışmalar vardır. Örneğin 2017 yılında yapmış olduğumuz çalışmada, MMP-9 C-1562T gen polimorfizminin iskemik inme hastalığı ile ilişkisi olmadığını göstermiştik (79). 2005 yılında Çin'de yapılan çalışmaya küçük hücreli olmayan akciğer kanserli hastalar ve kontrol grubu dahil edilmiştir. Çalışma neticesinde MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi ile hastalık arasında herhangi anlamlı bir fark belirlenmemiştir (179). 2020 yılında Mısır'da yapılan çalışmada, MMP-9 C-1562T gen polimorfizminin preeklampsi ile ilişkisi olmadığı bildirilmiştir (180). 2019 yılında Tayvan'da yapılan çalışmada, kolorektal kanser riski ile MMP-9 C-1562T gen polimorfizminin ilişkisi olmadığı, hatta sigara kullanımı, alkol kullanımı, yaş, cinsiyet, tümör boyutu ve tümör lokalizasyonunun da MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi ile ilişkisi olmadığı bildirilmiştir (181). 2019 ylında Slovakya'da yapılan çalışmaya Slovak multipl skleroz hastaları dahil edilmiştir. Çalışma neticesinde MMP-9 C-1562T gen polimorfizminin multipl skleroz hastalığı ile ilişkisi olmadığı bildirilmiştir (182). 2018 yılında Brezilya'da yapılan çalışmaya 148 meme kanseri hastalığı olan kadın ile 245 meme kanseri hastalığı olmayan kadın çalışmaya dahil edilmiş ve MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi ile meme kanseri oluşumunun ilişkili olmadığı bildirilmiştir (183). Çalışmamızda papiller tiroid kanserli hasta ve kontrol grubunda MMP-9 C-1562T gen polimorfizmini araştırdık. 2019 yılında Sırbistan'da yapılan çalışmada MMP-9 C-1562T gen polimorfizminin papiller tiroid kanseri hastalığı ile ilişkili olmadığını ancak MMP-9 ekspresyonunu modüle ederek hastalık seyrini etkilediğini bildirmişlerdir (184). 2008 yılında Türkiye'de yapılan çalışmaya 42 papiller tiroid kanserli hasta ve 145 kontrol grubu dahil edilmiştir. Çalışma sonucunda MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi ile hastalık arasında bir ilişki saptanamamıştır. Yaş, cinsiyet, çok odaklılık ve kapsül yayılımı gibi prognostik faktörlerle de herhangi bir bağlantı bulunmadığı bildirilmiştir (185).

MMP-9 geninin ekson 6 bölgesinin 836. pozisyonunda görülen bir adeninin bir guanine değişimi, amino asit 279'da bulunan glutaminin (CAG), arjinine (CGG), değişimine, bu da yanlış anlamlı amino asitin lokasyonuna sebep olmaktadır (155). MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi miyeloid hücrelerde ve megakaryositik hücre dizilerinde bulunmaktadır. Keratinosit, monosit, alveolar makrofajlar, polimorfonükleer lökositler ve malign hücrelerden salgılanmaktadır. MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi, substrat bağlama bölgesinde bulunur

ve tip IV kollajenin MMP-9'a bağlanma afinitesini azaltmaktadır (156). MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizminin bazı hastalıklarla ilişkisi olduğu bildirilmiştir. 2018 yılında Brezilya'da yapılan çalışmada gestasyonel diyabeti olan hamile kadınlar çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışma sonucunda MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi ile hastalığın ilişkili olduğunu, hatta Brezilya'lılarda G alleli varlığının hastalık riskini önemli ölçüde arttırdığını bildirmişlerdir (186). 2022 yılında İran'da prospektif olarak gözlemlenen meme kanseri hastalarının dahil edildiği çalışmada, MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizminin meme kanseri nüksü ile ilişkisi araştırılmıştır. Bu çalışma ile MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi allel ve genotiplerinin meme kanseri nüksüne karşı koruyucu etkisi olduğunu göstermişlerdir (187). 2013 yılında Pakistan'da yaşayan primer açık açılı ve kapalı açılı glokom hastaları ile yapılan çalışmada, MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi genotipleri ile hastalık arasında anlamlı bir ilişki olduğunu göstermişlerdir. Aynı çalışmada erkek hastaların MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi ile ilişkisi olduğunu ancak kadın hastaların herhangi bir ilişkisinin saptanmadığını bildirmişlerdir (157). Her ne kadar MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizminin bazı hastalıklar ile ilişkili olduğu bildirilmiş ise de, tam tersine bazı hastalıklarla ilişkili olmadığını da gösteren çalışmalar vardır. Örneğin 2017 yılında Mısır'da yapılan çalışmada, MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizminin genotip ve allellerinin Behçet hastalığı ile ilişkisi olmadığı bildirilmiştir (188). Yine 2021 yılında Orta Rusya'da yaşayan 798 Kafkas peptik ülser hastalığı olan hasta ve 347 kontrol grubu ile yapılan çalışmada MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi genotip ve allellerinin hastalıkla ilişkisi olmadığı gösterilmiştir (189). 2018 yılında Hindistan'da yapılan çalışmaya 271 anevrizmal subaraknoid kanamalı hasta ve 280 kontrol grubu dahil edilmiştir. Çalışma sonucunda MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi genotip frekansları ile hastalık arasında herhangi bir ilişki olmadığı bildirilmiştir (190). Çalışmamızda papiller tiroid kanserli hasta ve kontrol grubunda MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmini araştırdık. Yapılmış olan tüm çalışmaların kontrolü neticesinde bu güne kadar henüz papiller tiroid kanserli hastalarda MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizminin ilişkisinin olup olmadığının araştırıldığı herhangi bir çalışma tespit edilememiştir. Bu nedenle çalışmamız, özgün bir çalışma niteliğindedir.

MMP-9 geninin ekson 12 bölgesinin 2003. pozisyonunda görülen bir guaninden bir adenine değişim, amino asit 668'de lokalize olan arjininin (CGA), glutamine (CAA) değişimine, bu da yanlış anlamlı amino asit yerleşimine sebep olur. MMP-9 Arg668Gln adı verilen polimorfizm, homodimerizasyonda yer alan MMP-9'un hemopeksin alanına, substratlara ve TIMP1'e bağlanır. Buna bağlı olarak etkilenen substrat ve inhibitör bağlama

kapasitesi, çeşitli hastalıklarda incelenmiştir. 2009 yılında Çin'de yapılan çalışmada, küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hastalığı ile MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmi genotiplerinin özellikle kemoterapi veya radyoterapi tedavileri alanlarda sağkalımı önemli ölçüde azaltığını göstermişlerdir (191). 2008 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan çalışmada, MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizminin Gln668 allelinin, azalan skuamöz hücreli karsinom riski ile anlamlı şekilde ilişkili olduğu bildirilmiştir. Yine aynı çalışmada MMP-9 Gln279Arg ve MMP-9 Arg668Gln varyant alellerini taşıyan haplotipler yaşa göre ayarlandıktan sonra kontrol edildiğinde, haplotip frekanslarında anlamlı bir fark bulunmuş ve bu farkın skuamöz hücreli karsinom riskinde azalma ile önemli ölçüde ilişkili olduğu belirtilmiştir (160). Yine 2013 yılında Çin'de yapılan, 245 meme kanserli hastanın katıldığı çalışmada, MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizminin, Çin popülasyonunda meme kanseri prognozu için genetik etkisi olabileceği gösterilmiştir. Bu çalışma ile hücre dışı matriksi bozan bir enzim ailesinden biri olan MMP-9'un aktivitesinin agresif kanserler ve metastazlarda etkili olacağını bildirmişlerdir (192). Her ne kadar MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizminin bazı hastalıklar ile ilişkili olduğu bildirilmiş ise de, bilakis bazı hastalıklarla ilişkili olmadığını gösteren çalışmalar da vardır. Mesela 2021 yılında Rusya'da yapılan çalışmada helikobakter pylori negatif olan gastrik ülser hastalarında MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmi araştırılmış ve hastalıkla herhangi bir ilişkisi olmadığı bildidrilmiştir (193). 2011 yılında Lüksemburg'da miyokardiyal enfarktüs hastalarının dahil edildiği çalışmada, MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizminin özellikle sol ventrikül fonksiyon bozukluğu ve kalp yetmezliği gelişimi ile ilişkili olmadığını belirtmişlerdir (159). 2018 yılında Çin'de subaraknoid hemoraji olan hastalarla yapılan çalışmada MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizminin hastalık veya hastalık risk faktörleri ile ilişkisi olmadığı bildirilmiştir (194). Çalışmamızda papiller tiroid kanserli hasta ve kontrol grubunda MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmini araştırdık. Bu güne kadar yapılmış olan tüm çalışmaların kontrolü neticesinde henüz papiller tiroid kanserli hastalarda MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizminin ilişkisinin olup olmadığının araştırıldığı herhangi bir çalışma tespit edilememiştir. Tıpkı MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizminde olduğu gibi, bu gen polimorfizmi de özgün çalışma niteliğindedir.

Çalışmamız, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji Poliklinikleri'ne başvuran papiller tiroid kanseri tanısı almış 145 hastadan oluşan hasta grubu ile Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dahiliye Poliklinikleri'ne başvuran, tiroid bezinde herhangi bir hastalık saptanmamış 145 kişiden oluşan kontrol grubundan oluşmaktadır. Çalışmamızda

hasta ve kontrol grubu arasında MMP-9 C-1562T, MMP-9 Gln279Arg ve MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmleri incelenmiştir. Hasta ile kontrol grubu arasında cinsiyet ve yaş kriterleri karşılaştırılmıştır. Cinsiyet yönünden yapılmış olan karşılaştırma sonucunda çalışmaya katılanların %13,1'inin erkek, %86,9'unun da kadın olduğu tespit edilmiştir. Hasta ve kontrol grupları ayrı ayrı değerlendirildiğinde de aynı şekilde her iki gurupta %13,1 oranında erkek ve %86,9 oranında kadın olduğu tespit edilmiştir (p:1,0). Hasta ve kontrol grubu gönüllülerinin yaş ortalamaları da aynı olup, 49'dur (p:0,99).

Matriks metalloproteinaz-9 C-1562T gen polimorfizmi için genotip dağılımı incelendiğinde, hasta grubunda CC genotipinin görüldüğü 103 hasta (%71), CT genotipinin görüldüğü 38 hasta (%26,2) ve TT genotipinin görüldüğü 4 hasta (%2,8) belirlenmiştir. Kontrol grubunda CC genotipinin görüldüğü 113 kişi (%77,9), CT genotipinin görüldüğü 29 kişi (%20) ve TT genotipinin görüldüğü 3 kişi (%2,1) belirlenmişti. Tıpkı Dobrescu Ruxandra ve ark. (195) Romanya'lı kişiler ile gerçekleştirdikleri çalışmada MMP-9 C-1562T gen polimorfizminin mikropapiller tiroid kanseri hastalığı ile ilişkisini araştırdığı çalışmadaki ve Jelena Roncevic ve ark. (184) Sırbistan'lı kişiler ile gerçekleştirdikleri, MMP-9 C-1562T gen polimorfizminin papiller tiroid kanseri hastalığı ile ilişkisini araştırdığı çalışmadaki ve Ahmet Gökhan Özgen ve ark. (185). Türkiye'de yapmış olduğu çalışmadaki gibi, çalışmamızda da papiller tiroid kanserli hasta ve kontrol grubu için MMP-9 C-1562T gen polimorfizminin genotipleri açısından anlamlı bir fark gözlemlenememiştir (p:040).

Hasta ve kontrol grubu arasında kadın ve erkek popülasyonu açısından Matriks metalloproteinaz-9 C-1562T gen polimorfizmi için genotip dağılımı değerlendirildiğinde hasta grubunda bulunan 19 erkekten 14'ünde CC ve 5'inde CT genotipinin görüldüğü, TT genotipinin görülmediği belirlenmişti. Kontrol grubunda bulunan 19 erkekten 12'sinde CC, 6'sında CT ve 1'inde de TT genotipinin görüldüğü belirlenmiştir (p:0,53). Hasta grubunda bulunan 126 kadından 89'unda CC ve 33'ünde CT genotipinin görüldüğü ve 4'ünde TT genotipinin görüldüğü belirlenmişti. Kontrol grubunda bulunan 126 kadından 101'inde CC, 23'ünde CT ve 2'sinde de TT genotipinin görüldüğü belirlenmişti (p:0,20). Roncevic ve ark. (184) ve Ahmet Gökhan Özgen ve ark. (185) tarafından yapılmış olan her iki çalışmada da tespit edildiği gibi, çalışmamızda da Matriks metalloproteinaz-9 C-1562T gen polimorfizmi genotip dağılımının hasta ve kontrol grubu arasında cinsiyet parametresi açısından ilişkili olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$).

Tümör çaplarına göre MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi genotiplerinin dağılımlarına bakıldığında; T1a çapında tümörü olan hastaların 50'sinde CC, 18'inde CT ve

2'sinde TT genotipi tespit edilmişti. T1b çapında tümörü olan hastaların 22'sinde CC, 5'inde CT ve 1'inde TT genotipi tespit edilmişti. T2 çapında tümörü olan hastaların 17'sinde CC ve 4'ünde CT genotipi tespit edilmiş, TT genotipi tespit edilmemişti. T3 çapında tümörü olan hastaların 14'ünde CC, 11'inde CT ve 1'inde de TT genotipi tespit edilmişti (p:0,41). Her ne kadar Roncevic ve ark. (184) yapmış olduğu çalışmada tümör çapları ile MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi genotiplerinin dağılımı açısından anlamlı bir ilişki bulmuşlar ise de, Ahmet Gökhan Özgen ve ark. (185) yapmış olduğu çalışmada tümör çapları ile MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi genotiplerinin dağılımı arasında anlamlı bir ilişki bulamamışlardır. Yapmış olduğumuz çalışmada da tümör çapları ile MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi genotiplerinin dağılımı arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık gözlemlenememiştir (p>0,05).

Lenf nodu metastazına göre MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi genotiplerinin dağılımları değerlendirildiğinde; lenf nodu metastazı olmayan 57 hastanın 39'unda CC, 16'sında CT ve 2'sinde TT genotipi tespit edilmişti. Lenf nodu metastazı olan 22 hastanın 15'inde CC, 5'inde CT ve 2'sinde TT genotipi tespit edilmişti. Lenf nodu metastazı değerlendirilmeyen 66 hastanın 49'unda CC ve 17'sinde CT genotipi tespit edilmiş ancak TT genotipi tespit edilmemişti (p:0,24). Çalışmamıza benzer olan Roncevic ve ark. (184) yapmış olduğu çalışmada papiller tiroid kanserli hastaların lenf nodu metastazına göre MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi genotiplerinin dağılımında anlamlı bir fark bulmuşlardır. Ancak Ahmet Gökhan Özgen ve ark. (185) yapmış olduğu çalışmada papiller tiroid kanserli hastaların lenf nodu metastazına göre MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi genotiplerinin dağılımında anlamlı bir fark bulamamışlardır. Yapmış olduğumuz çalışma sonucunda, lenf nodu metastazı durumu ile MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi genotip dağılımları arasında ilişki saptanmamıştır (p>0,05).

Hasta grubu ve kontrol grubu arasında MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi işlemi sonucunda C ve T allelleri karşılaştırıldığında; hasta grubunda 244 tane C allelinin, 46 tane T allelinin, kontrol grubunda ise 255 tane C allelinin, 35 tane T allelinin bulunduğu belirtilmişti (p:0.19). Tıpkı Roncevic ve ark. (184) hasta grubu ve kontrol grubu arasında MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi allelleri arasında ilişki bulamadığı gibi çalışmamızda da hasta ve kontrol grubu için C ve T allelleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (p>0,05). Roncevic ve ark. (184) yapmış olduğu çalışmada sadece hasta grubunda MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi sonucu elde edilen C ve T allellerini karşılaştırmış ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlemişlerdir. Çalışmamızda hasta grubunda 244 tane C, 46 tane T alleli bulunmaktadır (p:0,026). Yapmış olduğumuz çalışmada

sadece hasta grubunda, MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi allel frekansları değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$).

Yapılan çalışmalar ile çalışmamız arasındaki bazı sonuçların farklı olmasının nedeni; çevresel faktörler, etnik köken veya hasta ve kontrol grupları için farklı kriterlerin seçilmesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda, papiller tiroid kanserli hasta ve kontrol grubunda MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi dışında ayrıca MMP-9 Gln279Arg ve MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmlerinin incelendiğini belirtmiştik. Ancak bu güne kadar yapılmış olan tüm çalışmalar incelendiğinde papiller tiroid kanseri hastalığında MMP-9 Gln279Arg ve MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmlerinin incelenmediği tespit edildiğinden, başka çalışmalar baz alınarak çalışmamız ile herhangi bir kıyaslama yapılamamıştır.

SONUÇLAR

Yapmış olduğumuz çalışmada, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji Poliklinikleri'ne başvuran papiller tiroid kanseri tanısı almış 145 kişiden oluşan hasta grubu ile Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dahiliye Poliklinikleri'ne başvuran, tiroid bezinde herhangi bir hastalık saptanmamış 145 kişiden oluşan kontrol grubu için MMP-9 C-1562T, MMP-9 Gln279Arg ve MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmleri incelendi.

Hasta ve kontrol grupları için seçilen bireylerin yaş ortalamalarının çok yakın olmasından dolayı her iki grupta yaş kriteri açısından anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$)

Hasta grubunda bulunan kadın ve erkek sayısının kontrol grubunda bulunan kadın ve erkek sayısına eşit olmasından dolayı her iki grupta cinsiyet kriteri açısından da anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi için genotip dağılımları incelendiğinde; hasta ve kontrol grupları arasında MMP-9 C-1562T gen polimorfizminin genotip dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi için hasta ve kontrol grubundaki erkekler ve hasta ve kontrol grubundaki kadınlar şeklinde cinsiyet açısından genotip dağılımları incelendiğinde de her iki cinsiyet için istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlenememiştir ($p>0,05$).

MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi genotip dağılımları ile varyantlar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlenmiştir ($p<0,05$).

Tümör çapları ile MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi genotip dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

Lenf nodu metastazı olup olmaması durumu ile MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi genotip dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi için allel frekans dağılımları incelendiğinde; hasta ve kontrol grubu arasında MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi allel frekans dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi allel frekans dağılımları ile her iki gruptaki gönüllülerin kadın ve erkek cinsiyet dağılımları değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlenememiştir ($p>0,05$).

MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi allel frekans dağılımları ile hasta ve kontrol grubundaki erkekler, hasta ve kontrol grubundaki kadınlar şeklinde cinsiyet dağılımları incelendiğinde de her iki cinsiyet için istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenememiştir ($p>0,05$).

MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi allel frekans dağılımları ile varyantlar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlenmiştir ($p<0,05$).

Tümör çapları ile MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi allel frekans dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

Lenf nodu metastazı olup olmaması durumu ile MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi allel frekans dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi için genotip dağılımları incelendiğinde; hasta ve kontrol grubu arasında MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi genotip dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi için hasta ve kontrol grubundaki erkekler ve hasta ve kontrol grubundaki kadınlar şeklinde cinsiyet açısından genotip dağılımları incelendiğinde de her iki cinsiyet için istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlenememiştir ($p>0,05$).

MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi genotip dağılımları ile varyantlar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlenmiştir ($p<0,05$).

Tümör çapları ile MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi genotip dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenememiştir ($p>0,05$).

Lenf nodu metastazı olup olmaması durumu ile MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi genotip dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$).

MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi için allel frekans dağılımları incelendiğinde; hasta ve kontrol grubu arasında MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi allel frekans dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi allel frekans dağılımları ile her iki gruptaki gönüllülerin kadın ve erkek cinsiyet dağılımları değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi allel frekans dağılımları ile hasta ve kontrol grubundaki erkekler, hasta ve kontrol grubundaki kadınlar şeklinde cinsiyet dağılımları incelendiğinde de her iki cinsiyet için istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenememiştir ($p>0,05$).

MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi allel frekans dağılımları ile varyantlar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

Tümör çapları ile MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi allel frekans dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

Lenf nodu metastazı olup olmaması durumu ile MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi allel frekans dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmi için genotip dağılımları incelendiğinde; hasta ve kontrol grupları arasında MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmi genotip dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmi için hasta ve kontrol grubundaki erkekler ve hasta ve kontrol grubundaki kadınlar şeklinde cinsiyet açısından genotip dağılımları incelendiğinde de her iki cinsiyet için istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmi genotip dağılımları ile varyantlar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlenememiştir ($p>0,05$).

Tümör çapları ile MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmi genotip dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenememiştir ($p>0,05$).

Lenf nodu metastazı olup olmaması durumu ile MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmi genotip dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bi fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmi için allel frekans dağılımları incelendiğinde; hasta ve kontrol grubu arasında MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmi allel frekans dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmi allel frekans dağılımları ile her iki gruptaki gönüllülerin kadın ve erkek cinsiyet dağılımları değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlenmemiştir (p>0,05).

MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmi allel frekans dağılımları ile hasta ve kontrol grubundaki erkekler, hasta ve kontrol grubundaki kadınlar şeklinde cinsiyet dağılımları incelendiğinde de her iki cinsiyet için istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (p>0,05).

MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmi allel frekans dağılımları ile varyantlar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlenememiştir (p>0,05).

Tümör çapları ile MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmi allel frekans dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir (p>0,05).

Lenf nodu metastazı olup olmaması durumu ile MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmi allel frekans dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (p>0,05).

Çalışmamızda sırasıyla; MMP-9 Gln279Arg, MMP-9 Arg668Gln, MMP-9 C-1562T gen polimorfizmleri genotip dağılımlarını göz önünde bulundurarak elde ettiğimiz üçlü gruplar halindeki haplotiplerden, hasta ve kontrol gruplarında en fazla AAGACC haplotipinin olduğu, en az ise GGAATT haplotipinin olduğu belirlenmişti. Ancak belirlemiş olduğumuz haplotiplerin ilgili gen polimorfizmleri genotip dağılımları ile istatistiksel olarak anlamlı bir farkının olmadığı tespit edilmiştir (p>0,05).

İkili grup halinde sırasıyla; MMP-9 Gln279Arg ile MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmlerinin genotip dizilerinin dağılımını göz önünde bulundurarak elde ettiğimiz ikili gruplar halindeki haplotiplerden, hasta ve kontrol gruplarında en fazla AGGG haplotipinin olduğu, en az ise GGAA haplotipinin olduğu tespit edilmiştir. Ancak belirlemiş olduğumuz haplotiplerin ilgili gen polimorfizmleri genotip dağılımları ile istatistiksel olarak anlamlı bir farkının olmadığı belirlenmiştir (p>0,05).

İkili grup halinde sırasıyla; MMP-9 Arg668Gln ile MMP-9 C-1562T gen polimorfizmlerinin genotip dizilerinin dağılımınını göz önünde bulundurarak elde ettiğimiz ikili gruplar halindeki haplotiplerden, hasta ve kontrol gruplarında en fazla GACC haplotipinin olduğu, en az ise AATT haplotipinin olduğu belirlenmiştir. Fakat belirlemiş olduğumuz haplotiplerin ilgili gen polimorfizmleri genotip dağılımları ile istatistiksel olarak anlamlı bir farkının olmadığı tespit edilmiştir (p>0,05).

İkili grup halinde sırasıyla; MMP-9 Gln279Arg ile MMP-9 C-1562T gen polimorfizmlerinin genotip dizilerinin dağılımını göz önünde bulundurarak elde ettiğimiz ikili

gruplar halindeki haplotiplerden, hasta ve kontrol gruplarında en fazla AACC haplotipinin olduğu, en az ise GGTT haplotipinin görülmüş olsa da belirlemiş olduğumuz haplotiplerin ilgili gen polimorfizmleri genotip dağılımları ile istatistiksel olarak anlamlı bir farkının olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$).

Literatürde bir çok çalışmada MMP-9 C-1562T gen polimorfizminin papiller tiroid kanseri hastalığı ile ilişkisi araştırılmış ve bulunan sonuçların bazıları çalışmamızın sonuçlarından farklı olarak tespit edilmiştir. Sonuçlarda ortaya çıkan farklılıkların; çalışmaya katılan gönüllülerin etnik kökenlerindeki farklılıklardan, farklı yerde yaşayanlar ya da aynı bölgede ancak farklı yerleşim bölgelerinde yaşayanlardan ya da çalışma için seçilmiş olan hasta ve kontrol grubu gönüllülerinin seçim kriterlerinin farklı belirlenmesinden dolayı olabileceği düşünülmektedir. Gelecekte yapılması planlanan çalışmalarda gönüllü sayısı arttırılırsa, çalışmamızdaki bazı sonuçlardan daha anlamlı sonuçların elde edilebileceği düşünülmektedir. Eğer papiller tiroid kanseri hastalığının gelişiminde etkili olan genler bilinirse, hastalık için erken tanı ve erken tanı sonucunda da etkin tedavi yöntemlerinin uygulanması mümkün olabilecektir.

ÖZET

Tiroid kanserinin en sık görülen formu papiller tiroid kanseridir. Klinik özellikler açısından birçok varyantı bulunur. Matriks metalloproteinaz-9 (MMP-9) dahil olmak üzere birçok matriks modüle edici enzim, karsinojenezdeki erken olayları, tümör invazyonunu ve metastazı da etkileyebilir.

Çalışmamızın amacı, MMP-9 promotor genotiplerinin papiller tiroid kanseri hastalığı üzerindeki etkisini araştırmak ve agresif fenotip gelişimi için olası bir risk faktörü olup olmadığını belirlemektir. Çalışmamızda papiller tiroid kanseri hastalarında MMP-9 C-1562T, MMP-9 Gln279Arg ve MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmleri ile prognostik faktörler arasındaki ilişki değerlendirildi.

Papiller tiroid kanseri hastalarında MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi sonucunda elde edilen genotip ve allel frekanslarının hastalığın alt tipleri açısından farklılıklar gösterdiği belirlendi.

MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi sonucunda elde edilen genotip frekanslarının papiller tiroid kanseri hastalığı alt tipleri açısından farklılıklar gösterdiği belirlendi. Ayrıca lenf nodu metastazına göre genotip frekanslarında da farklılıklar olduğu gözlemlendi.

MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmi sonucunda elde edilen genotip ve allel frekanslarının alt tipler, tümör çapı ve lenf nodu metastazı açısından farklılık göstermediği belirlendi.

Verilerimiz, papiller tiroid kanseri hastalarında MMP-9 gen polimorfizmlerinde anlamlı bir fark bulunmadığını gösterdi. Ancak MMP-9 genotiplemesi, papiller tiroid kanseri

hastalarının risk sınıflandırması ve alt tiplerin belirlenmesinde yararlı olabilecek önemli bilgiler sağlayabilir.

Anahtar Kelimeler: MMP-9 C-1562T, matriks metalloproteinaz-9, iskemik inme, gen polimorfizmi

INVESTIGATION OF MMP-9 GENE POLYMOPHISMS IN PATIENTS WITH PAPILLARY THYROID CANCER

SUMMARY

The most common form of thyroid cancer is papillary thyroid cancer. It has many variants in terms of clinical features. Many matrix modulating enzymes, including matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) can affect early events in carcinogenesis, tumor invasion, and even metastasis.

Genotypes were determined by restriction fragment length polymorphism method from venous blood taken from 145 patients with papillary thyroid cancer and 145 healthy control groups included in our study. Statistical analysis showed that there was no significant difference between papillary thyroid cancer patients and controls.

It was determined that genotype and allele frequencies obtained as a result of MMP-9 C-1562T gene polymorphism in patients with papillary thyroid cancer showed differences in terms of subtypes of the disease.

It was determined that genotype frequencies obtained as a result of MMP-9 Gln279Arg gene polymorphism differ in terms of papillary thyroid cancer disease subtypes. In addition, it was observed that there were differences in genotype frequencies according to lymph node metastasis.

It was determined that genotype and allele frequencies obtained as a result of MMP-9 Arg668Gln gene polymorphism did not differ in terms of subtypes, tumor diameter and lymph node metastasis.

Our data showed no significant differences in MMP-9 gene polymorphisms in papillary thyroid cancer patients. However, MMP-9 genotyping can provide important information that may be useful in risk stratification and subtype determination of papillary thyroid cancer patients.

Key Words: MMP-9 C-1562T, matrix metalloproteinase-9, ischemic stroke, gene polymorphism.

KAYNAKLAR

1. Rosai J. Rosai and Ackerman's surgical pathology e-book. Elsevier Health Sciences 2011.

2. Nagase H, Woessner JF Jr. Matrix metalloproteinases. J Biol Chem 1999; 274:21491-4.

3. Snoek-van Beurden PAM, Von den Hoff JW. Zymographic techniques for the analysis of matrix metalloproteinases and their inhibitors. Biotechniques 2005;38(1):73-83.

4. Cady B, Sedgwick CE. History of thyroid and parathyroid surgery. Major Probl Clin Surg 1980;15:1-5.

5. Akcakaya A, Koc B, Ferhatoglu F. Tiroid anatomisi ve cerrahi yaklaşım. Okmeydanı Tıp Dergisi 2012;28(1):1-9.

6. Lira RB, Cicco RD, Rangel LG, Bertelli AA, Silva GD, Vanderlei JPDM et al. Transoral endoscopic thyroidectomy vestibular approach: Experience from a multicenter national group with 412 patients. Head Neck 2021; 43: 3468-75.

7. Clark T, Savı N. History, ontogeny and anatomy. Wener I (ed). The Thyroid. 2000;27:1-5.

8. Schwartz SI. Principles of surgery: Pretest self-assessment and review. McGrawHill, Health Professions Division. 1999;1-284.

9. http://www.pharmacy180.com/media/article/article-Thyroid-Gland-4bj.jpg. Erişim tarihi: 18 Şubat 2023.

10. Limbachiya SV, Balasubramanian D. Neck nodal levels and classification of neck dissection. Basic Concepts in Head & Neck Surgery and Oncology 2015;77.

11. Vipin RE, Ramkumar V, Ritesh NS, Akshay VS. Identification of external branch of superior laryngeal nerve during thyroid surgery: a prospective study. Int J Otorhinolaryngol Head Neck 2018;4(1):228-32.

12. https://i.pinimg.com/originals/68/de/10/68de10b17915bc9c980490fc77b9ed21.png. Erişim tarihi: 18 Şubat 2023.

13. Akudu LS, Ukoha UU, Ekezie J, Ukoha CC. Ultrasonographic study of the incidence of pyramidal lobe and agenesis of the thyroid isthmus in Nnewi population. Journal of ultrasonography. 2018;18(75):290.

14. Henry JF. Surgical anatomy and embryology of the thyroid and parathyroid glands and recurrent and external laryngeal nerves. Clark OH, Duh QY(ed).Textbook of Endocrine Surgery. 1997;2:8-14.

15. https://www.kenhub.com/thumbor/uTzt_fWFSMyf55i71IMpYfXM0Mw=/fit-in/413x413/filters:fill(FFFFFF,true):watermark(/images/watermark_only_sm.png,0,0,0):watermark(/images/logo_url_sm.png,-10,-10,0):format(jpeg)/images/anatomy_term/arteria-thyroidea-superior/UH1IPmIyluIuNv9Gj1OVBg_Arteria_thyreoidea_superior_01.png. Erişim tarihi: 18 Şubat 2023.

16. https://thumbor.kenhub.com/FpDlydvkQ1S3x4Qq7Fe8McJN4oU=/fitin/800x1600/filters:watermark(/images/logo_url.png,-10,10,0):background_color(FFFFFF):format(jpeg)/images/library/13710/Ahna5j6yhymtcJRRqcSi3A_V._thyroidea_inferior_01.png. Erişim tarihi: 18 Şubat 2023.

17. https://www.researchgate.net/profile/Rodrigo-Arrangoiz-2/publication/326375395/figure/fig5/AS:647919065657345@1531487351400/The-lymphatic-drainage-of-the-thyroid-gland-is-extensive-and-flows-in-a-multidirectional.png. Erişim tarihi: 18 Şubat 2023.

18. Nikolic KD, Vlajkovic M. Characteristics of the scintigraphy with 99mTc- pertechnetate in patients with differentiated thyroid carcinoma. Medical Youth 2019;70(2):30-6.

19. Sakr M. Head and Neck and Endocrine Surgery (e-book). Switzerland: Springer 2016; doi: 10.1007/978-3-319-27532-1.

20. Koroglu R, Koroglu M. Parathyroid scintigraphy in preoperative detection of parathyroid adenomas and use of gama probe in minimal invasive surgery. J Clin Exp Invest 2011;2(2):238-43.

21. https://s3-us-west-2.amazonaws.com/utsw-patientcare-web-production/original_images/Parathyroid_Medlbog_600.jpg. Erişim tarihi: 18 Şubat 2023.

22. Suliburk J, Delbridge L. Surgical management of well-differentiated thyroid cancer: state of the art. Surgical Clinics 2009;*89*(5):1171-91.

23. Chai YJ, Hong JH, Koo DH, Yu HW, Lee JH, Kwon H, et al. Clinicopathological characteristics and treatment outcomes of 38 cases of primary thyroid lymphoma: a multicenter study. Ann Surg Treat Res 2015;89(6):295-99.

24. Walczyk A, Zgubienski K, Chmielewski G, Hincza-Nowak K, Kowalik A, Jaskulski J, et al. Late-onset medullary thyroid cancer in a patient with a germline RET codon C634R mutation. Diagnostics 2021;11(1448):1-8.

25. Bellini MI, Biffoni M, Patrone R, Borcea MC, Costanzo ML, Garritano T, et al. Poorly differentiated thyroid carcinoma: single centre experience and review of the literature. J. Clin. Med 2021;10(5258):1-8.

26. Yang GCH. Thyroid Fine Needle Aspiration. Cambridge University Press. 2014; Doi: 10.1017/CBO9781139135504.

27. https://slidetodoc.com/presentation_image/5bcc824a3fde542c46b84277c16bcf6d/image-1.jpg. Erişim tarihi: 18 Şubat 2023.

28. Basri IKH. Potential use of biomarker γ-H2AX on peripheral blood patient who underwent radioiodine ablation treatment in Indonesia. Indonesian Journal of Cancer. 2021;15(2):101-6.

29. Yang CQ, Gardiner L, Wang H, Hueman MT, Chen D. Creating prognostic systems for well-differentiated thyroid cancer using machine learning. Front Endocrinol (Lausanne) 2019;10(288):1-9.

30. https://www.thyroidcancer.com/thyroid-cancer/papillary/staging. Erişim Tarihi: 18 Şubat 2023.

31. Al AE. Papiller tiroid kanseri boyun metastazını saptamada FDG PET etkinliğinin değerlendirilmesi (tez). Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2021.

32. Haugen BR, Alexander EK, Bible KC, Doherty GM, Mandel SJ, Nikiforov YE, et al. 2015 American Thyroid Association management guidelines for adult patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer: the American Thyroid Association guidelines task force on thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. Thyroid 2016;26(1):1-133.

33. Miyauchi A, Kudo T, Kihara M, Higashiyama T, Ito Y, Kobayashi K, et al. Relationship of biochemically persistent disease and thyroglobulin-doubling time to age at surgery in patients with papillary thyroid carcinoma. Endocr J 2013;60(4):415-21.

34. Zhang D, Tang J, Kong D, Cui Q, Wang K, Gong Y, et al. Impact of gender and age on the prognosis of differentiated thyroid carcinoma: a retrospective analysis based on SEER. Horm Cancer 2018;9(5):361-70.

35. Jonklaas J, Nogueras-Gonzalez G, Munsell M, Litofsky D, Ain K, Bigos S, et al. The impact of age and gender on papillary thyroid cancer survival. JCEM 2012;97(6):878-87.

36. Mazzaferri EL, Jhiang SM. Long-term impact of initial surgical and medical therapy on papillary and follicular thyroid cancer. Am J Med 1994;97(5):418-28.

37. Cady B, Rossi R. An expanded view of risk-group definition in differentiated thyroid carcinoma. Surgery 1988;104(6):947-53.

38. Matsuzu K, Sugino K, Masudo K, Nagahama M, Kitagawa W, Shibuya H, et al. Thyroid lobectomy for papillary thyroid cancer: long-term follow-up study of 1,088 cases. World J Surg 2014;38(1):68-79.

39. Herrera MF, López-Graniel CM, Saldana J, Gamboa-Domínguez A, RichaudPatín Y, Vargas-Vorackova F, et al. Papillary thyroid carcinoma in Mexican patients: clinical aspects and prognostic factors. World J Surg 1996;20(1):94-100.

40. Lin JD, Hsueh C, Chao TC. Soft tissue invasion of papillary thyroid carcinoma. Clin Exp Metastasis 2016;33(6):601-8.

41. Amit M, Boonsripitayanon M, Goepfert RP, Tam S, Busaidy NL, Cabanillas ME, et al. Extrathyroidal extension: does strap muscle invasion alone influence recurrence and survival in patients with differentiated thyroid cancer? Ann Surg Oncol 2018;25(11):3380-8.

42. Ciappuccini R, Heutte N, Lasne-Cardon A, Saguet-Rysanek V, Leroy C, Henaff VL et al. Tumor burden of persistent disease in patients with differentiated thyroid cancer: correlation with postoperative risk-stratification and impact on outcome. BMC Cancer 2020;20(765):1-12.

43. Wichmann M, Maddern G. Palliative Surgery e-book. Springer 2014:253-62.

44. Ito Y, Kudo T, Kobayashi K, Miya A, Ichihara K, Miyauchi AJ. Prognostic factors for recurrence of papillary thyroid carcinoma in the lymph nodes, lung, and bone: analysis of 5,768 patients with average 10-year follow-up. World J Surg 2012;36(6):1274-78.

45. Özdemir M, Çetinkalp Ş, Caner A, Şimşir IY, Özgen G, Ertan Y et al. Epidemiological and overall survival characteristics of thyroid cancers in Ege University hospital database. Ege Journal of Medicine 2020;59:40-6.

46. Guleria P, Phulware R, Agarwal S, Jain D, Mathur SR, Iyer VK. Cytopathology of solid variant of papillary thyroid carcinoma: differential diagnoses with other thyroid tumors. Acta Cytologica 2018;62:371–79.

47. Markovic I, Goran M, Besic N, Buta M, Djurisic I, Stojiljkovic D, et al. Multifocality as independent prognostic factor in papillary thyroid cancer-A multivariate analysis. J BUON 2018;23(1049):54.

48. Abdullah MI, Junit SM, Ng KL, Jayapalan JJ, Karikalan B, Hashim OH. Papillary thyroid cancer: genetic alterations and molecular biomarker investigations. Int J Med Sci 2019;16(3):450-60.

49. Ito Y, Miyauchi A, Kakudo K, Hirokawa M, Kobayashi K, Miya A. Prognostic significance of ki-67 labeling index in papillary thyroid carcinoma. World J Surg 2010;34(12):3015-21.

50. Choi C, Tran NTT, Ngu TV, Park SW, Song MS, Kim SH, et al. Promotion of tumor progression and cancer stemness by MUC15 in thyroid cancer via the GPCR/ERK and integrin-FAK signaling pathways. Oncogenesis 2018;7(85):1-13.

51. Tang W, Huang C, Tang C, Xu J, Wang HJ. Galectin-3 may serve as a potential marker for diagnosis and prognosis in papillary thyroid carcinoma: A meta-analysis. Onco Targets Ther 2016;9:455-60.

52. Luo D, Chen H, Li X, Lu P, Long M, Peng X, et al. Activation of the ROCK1/MMP-9 pathway is associated with the invasion and poor prognosis in papillary thyroid carcinoma. Int J Oncol 2017;51(4):1209-18.

53. Toy H, Etli O, Celik ZE, Alikanoglu AS. Associations between nucleus size, and immunohistochemical Galectin-3, Cytokeratine-19 and Hbme-1 markers in thyroid papillary carcinoma: a morphometric analyze. Pathol Oncol Res 2019;25(1):401-8.

54. Menz A, Bauer R, Kluth M, Bargen CMV, Gorbokon N, Viehweger F, et al. Diagnostic and prognostic impact of cytokeratin 19 expression analysis in human tumors: a tissue microarray study of 13,172 tumors. Hum Pathol 2021;115:19-36.

55. Williams D. Twenty years' experience with post-Chernobyl thyroid cancer. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 2008;22(6):1061-73.

56. Thakur P, Saini RV, Chhillar AK, Saini NK, Thakur VK, Siwal SS, et al. Alteration in the expression of microRNA-21 regulated target genes: Role in breast cancer. Biocell 2022;46(2):309-24.

57. Le P, Romano G, Nana-Sinkam P, Acunzo M. Non-coding RNAs in cancer diagnosis and therapy: focus on lung cancer. Cancers 2021;13(1372):1-25.

58. Hejaz HA, Abuzaina I, Aldeen RN, Saad S. Currently used and new molecular markers for thyroid cancer diagnosis. Middle East J Cancer 2022; doi: 10.30476/mejc.2022.87060.1392.

59. Chien MN, Yang PS, Hsu YC, Liu TP, Lee JJ, Cheng SP, et al. Transcriptome analysis of papillary thyroid cancer harboring telomerase reverse transcriptase promoter mutation. Head Neck 2018;40(11):2528-37.

60. Liu X, Qu S, Liu R, Sheng C, Shi X, Zhu G, et al. TERT promoter mutations and their association with BRAF V600E mutation and aggressive clinicopathological characteristics of thyroid cancer. J Clin Endocrinol Metab 2014;99(6):1130-36.

61. Povoa AA, Teixeira E, Bella-Cueto MR, Batista R, Pestana A, Melo M, et al. Genetic determinants for prediction of outcome of patients with papillary thyroid carcinoma. Cancers 2021;13(2048):1-16.

62. Liu X, Su C, Xu J, Zhou D, Yan H, Li W, et al. Immunohistochemical analysis of matrix metalloproteinase-9 predicts papillary thyroid carcinoma prognosis. Oncol Lett 2019;17(2):2308-16.

63. Hegedus L. The thyroid nodule: clinical practice. N Engl J Med. 2004;351: 1764-71.

64. Batool S, Afridi MS, Khoja A, Islam N. Pre-operative serum TSH levels: A risk factor for advanced metastatic differentiated thyroid carcinoma. Pak J Med Sci 2019;35(5):1312-17.

65. Cherian AJ, Ramakant P, Pai R, Manipadam MT, Elanthenral S, Chandramohan A, et al. Outcome of treatment for medullary thyroid carcinoma-a single centre experience. Indian J Surg Oncol 2018;9:52-8.

66. TEMD Tiroid Çalışma Grubu. Tiroid hastalıkları tanı ve tedavi kılavuzu 2020. Ankara, Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, 2020.

67. Ahn SH. Usage and diagnostic yield of fine-needle aspiration cytology and core needle biopsy in thyroid nodules: a systematic review and meta-analysis of literature published by Korean authors. Clin Exp Otorhinolaryngol 2021;14(1):116-30.

68. Law MT, Taylor M, Bennett IC. Surgeon-performed ultrasound-guided needle biopsy of the thyroid: a safe and effective diagnostic procedure. World J Endoc Surg 2011;3(3):116-21.

69. Ozguven MA, Ozturk E. Pozitron emisyon tomografisi el kitabı. 2006;p.1-14.

70. Ulaner GA, Jhaveri K, Chandarlapaty S, Hatzoglou V, Riedl CC, Lewis JS, et al. Head-to-head evaluation of 18F-FES and 18F-FDG PET/CT in metastatic ınvasive lobular breast cancer. J Nucl Med 2021;62(3):326-31.

71. Nakano T, Kijima T. Malignant pleural mesothelioma advances in pathogenesis, diagnosis, and treatments e-book. Springer 2021:207-21.

72. Zhu A, Hou X, Tian S, Zhang W. Diagnostic value of 18F‑FDG PET/ CT versus contrast‑enhanced MRI for venous tumour thrombus and venous bland thrombus in renal cell carcinoma. Sci Rep 2022;12(587):1-10.

73. Tarabichi M, Demetter P, Craciun L, Maenhaut C, Detours V. Thyroid cancer under the scope of emerging technologies. Mol Cell Endocrinol 2022;541:111491.

74. Gross J, Lapiere CM. Collagenolytic activity ın amphibian tissues: a tissue culture assay. Proc Natl Acad Sci USA 1962;48(6):1014-22.

75. Eisen A, Jeffrey J, Gross J. Human skin collagenase. Isolation and mechanism of attack on the collagen molecule. Biochim Biophys Acta 1968;151(3):637–45.

76. Harper E, Bloch K, Gross J. The zymogen of tadpole collagenase. Biochemistry 1971;10(16):3035–41.

77. Hearst S, Bednarova A, Draughn B, Johnson K, Mills D, Thomas C, et al. Expression of drosophila matrix metalloproteinases in cultured cell lines alters neural and glial cell morphology. Front. Cell Dev. Biol 2021;9(610887):1-16.

78. Barret AJ, Rawlings ND. Clasification of peptidases. Biol Chem 1992;244:353–73.

79. Kara I. İskemik İnmeli Hastalarda Matriks Metalloproteinaz-9 C-1562T Gen Polimorfizminin Araştırılması (tez). Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2017.

80. Hidalgo M, Eckhardt SG. Development of matrix metalloproteinase ınhibitors in cancer therapy. Journal Of Nation Cancer Ins. 2001;93(3):178–84.

81. Nagase H, Visse R, Murphy G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. Cardiovas Res 2006;69(3):562-73.

82. Çam M, Bağış HY. Matriks metalloproteinaz inhibitörleri ve adezyondaki önemi. Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi 2018;45(3):191-9.

83. Sternlicht MD, Werb Z. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. Annu Rev Cell Dev Biol 2001;17(1):463-516.

84. https://www.researchgate.net/figure/Structure-of-MMPs-MMPs-typically-consist-of-a-predomain-a-prodomain-including-the_fig1_35947106. Erişim Tarihi: 18 Şubat 2023.

85. Reel B. Matriks metalloproteinaz enzimleri ve ateroskleroz. Türkiye Klinikleri J Med 2006;26:527–37.

86. Jabłońska-Trypuć A, Matejczyk M, Rosochacki S. Matrix metalloproteinases (MMPs), the main extracellular matrix (ECM) enzymes in collagen degradation, as a target for anticancer drugs. J Enzyme Inhib Med Chem 2016;31(1): 177–83.

87. Mook ORF, Frederiks WM, Van Noorden CJF. The role of gelatinases in colorectal cancer progression and metastasis. Biochim Biophys Acta 2004;1705(2):69–89.

88. Li Y, Bao Q, Yang S, Yang M, Mao C. Bionanoparticles in cancer imaging, diagnosis, and treatment. VIEW 2022; 20200027:1-45.

89. Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function and biochemistry. Circulation Res 2003;92:827–39.

90. Chen YY, Liang JJ, Wang DL, Chen JB, Cao JP, Wang Y, et al. Nobiletin as a chemopreventive natural product against cancer, a comprehensive review. Crit Rev Food Sci Nutr 2022; doi: 10.1080/10408398.2022.2030297.

91. Klein G, Vellenga E, Fraaije MW, Kamps WA, De 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(2):87–100.

92. Çıraklı A, Gürgör PN, Uzun E, Erdem H, Şahin AA, Baş O. Tranexamic acid has positive effect in early period of tendon healing by stimulating the tumor necrosis factor-alpha and matrix metalloproteinase-3 expression levels. Jt Dis Relat Surg 2020;31(3):463-9.

93. Loffek S, Schilling O, Franzke CW. Biological role of matrix metalloproteinases: a critical balance. Eur Respir J 2010;38(1):191–208.

94. Kessenbrock K, Plaks V, Werb Z. Matrix metalloproteinases: regulators of the tumor microenvironment. Cell 2010;141(1):52–67.

95. Sahu A, Bhuyan SK, Bhuyan R, Kar B, Ghosh G, Rath G. Understanding the role of metalloproteinases and their ınhibitors in periodontology. Clinic Rev Bone Miner Metab 2021;19:36–49.

96. Sundaram MK, Preetha R, Haque S, Akhter N, Khan S, Ahmad S, et al. Dietary isothiocyanates inhibit cancer progression by modulation of epigenome. Semin Cancer Biol 2021:30281–9.

97. Niland S, Riscanevo AX, Eble JA. Matrix metalloproteinases shape the tumor microenvironment in cancer progression. Int. J. Mol. Sci 2022;23(146):1-53.

98. Cabral-Pacheco GA, Garza-Veloz I, Castruita-De La Rosa C, Ramirez-Acuña JM, Perez-Romero BA, Guerrero-Rodriguez JF et al. The roles of matrix metalloproteinases and their ınhibitors in human diseases. Int. J. Mol. Sci 2020;21(9739):1-55.

99. Harryman WL, Marr KD, Nagle RB, Cress AE. Integrins and epithelial-mesenchymal cooperation in the tumor microenvironment of muscle-ınvasive lethal cancers. Front Cell Dev Biol. 2022;10(837585):1-15.

100. Yadav PK, Ghosh M, Kataria M. Matrix metalloproteinases (MMPs) in cancer immunotherapy. Handbook of Oxidative Stress in Cancer: Therapeutic Aspects 2022:1-26.

101. Nakahara H, Howard L, Thompson EW, Sato H, Seiki M, Yeh Y, et al. Transmembrane/cytoplasmic domain-mediated membrane type 1-matrix metalloprotease docking to invadopodia is required for cell invasion. Proc Natl Acad Sci 1997;94:7959-64.

102. Yu WH, Woessner JF Jr, McNeish JD, Stamenkovic I. CD44 anchors the assembly of matrilysin/MMP-7 with heparinbinding epidermal growth factor precursor and ErbB4 and regulates female reproductive organ remodeling. Genes Dev 2002;16:307–23.

103. Oncel M. Matrix Metalloproteinases and Cancer. Eur J Basic Med Sci 2012;2(3):91-100.

104. Tampa M, Georgescu SR, Mitran MI, Mitran CI, Matei C, Caruntu A, et al. Current perspectives on the role of matrix metalloproteinases in the pathogenesis of basal cell carcinoma. Biomolecules 2021;11(903):1-23.

105. Lin H, Xu P, Huang M. Structure-based molecular insights into matrix metalloproteinase inhibitors in cancer treatments. Future Med Chem 2022;14(1):35-51.

106. Kim H, Roh Y, Park SY, Lee C, Lim S, Cho S, et al. In vitro and in vivo anti-tumor efficacy of krill oil against bladder cancer: involvement of tumor-associated angiogenic vasculature. Food Res Int 2022;156(111144):1-13.

107. Ribatti D. Endogenous inhibitors of angiogenesis: a historical review. Leuk Res 2009;33:638–44.

108. Heljasvaara R, Nyberg P, Luostarinen J, Parikka M, Heikkila P, Rehn M, et al. Generation of biologically active endostatin fragments from human collagen XVIII by distinct matrix metalloproteases. Exp Cell Res 2005;307:292–304.

109. Kaplan RN, Riba RD, Zacharoulis S, et al. VEGFR1-positive haematopoietic bone marrow progenitors initiate the pre-metastatic niche. Nature 2005:438;820–7.

110. Suzuki J, Tsuboi M, Ishii G. Cancer-associated fibroblasts and the tumor microenvironment in non-small cell lung cancer. Expert Rev Anticancer Ther 2022;22(2):169-82.

111. Choi JY, Lee YS, Shim DM, Seo SW. PTCH1 regulates anchorage-independent growth and bone invasion of non-small cell lung cancer cells. Bone 2021;144:115829.

112. Winkler J, Abisoye-Ogunniyan A, Metcalf KJ, Werb Z. Concepts of extracellular matrix remodelling in tumour progression and metastasis. Nature Communications 2020;11(5120):1–19.

113. Ciccone L, Vandooren J, Nencetti S, Orlandini E. Natural marine and terrestrial compounds as modulators of matrix metalloproteinases-2 (MMP-2) and MMP-9 in alzheimer's disease. Pharmaceuticals 2021;14(86):1-25.

114. Guo W, Gao X, Zhan R, Zhao Z, Xu K, Tang B. Tricolor imaging of MMPs to investigate the promoting roles of inflammation on invasion and migration of tumor cells. Talanta 2021;222:121525.

115. Gonzalez-Cubero E, Gonzalez Fernandez ML, Olivera ER, Villar-Suarez V, Manicone AM, Mc Guire JK. Matrix metalloproteinases as modulators of inflammation. Semin Cell Dev Biol 2008;19:34–41.

116. Roy R, Yang J, Moses MA. Matrix metalloproteinases as novel biomarkers and potential therapeutic targets in human cancer. J Clin Oncol 2009;27(31):5287-97.

117. Wu ZS, Wu Q, Yang JH, Wang HQ, Ding XD, Yang F, et al . Prognostic significance of MMP-9 and TIMP-1 serum and tissue expression in breast cancer. Int J Cancer 2008; 122:2050-56.

118. Meesiripan N, Petmitr S, Swangsri T, Thiangtrongjit T, Tangthai W, Svedginda J, et al. Plasma matrix metalloproteinase-9 level in invasive ductal breast carcinoma patients. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health 2021;52(4):505-16.

119. Avalle L, Raggi L, Monteleone E, Savino A, Viavattene D, Statello L, et al. STAT3 induces breast cancer growth via ANGPTL4, MMP13 and STC1 secretion by cancer associated fibroblasts. Oncogene 2022;41:1456-67.

120. Pories SE, Zurakowski D, Roy R, Lamb CC, Raza S, Exarhopoulos A, et al. Urinary metalloproteinases: noninvasive biomarkers for breast cancer risk assessment. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2008;17(5):1034-42.

121. Shehab AB, Mahdi AM, Ibrahim AM. Matrix metalloproteinase-1 expression in human breast cancer: morphological analysis using in situ hybridization technique. Res. J. Biotech 2019;14(1):172-5.

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

123. Radisky ES, Raeeszadeh-Sarmazdeh M, Radisky DC. Therapeutic potential of matrix metalloproteinase inhibition in breast cancer. J Cell Biochem 2017;118(11):3531-48.

124. Dranka-Bojarowska D, Lewinski A, Lekstan A, Gajda M, Ciosek J, Mrowiec S. The assessment of serum and diagnostic peritoneal lavage concentration of matrix metalloproteinase-2, matrix metalloproteinase-9, carbohydrate antigen 19-9, and carcinoembryonic antigen in patients with pancreatic cancer and chronic pancreatitis. JPP 2020;71(5):689-704.

125. Roy R, Zurakowski D, Wischhusen J, Frauenhoffer C, Hooshmand S, Kulke M, et al. Urinary TIMP-1 and MMP-2 levels detect the presence of pancreatic malignancies. BJC 2014;111:1772-9.

126. Kuhlmann KFD, Van Till JWO, Boermeester MA, De Reuver PR, Tzvetanova ID, Offerhaus GJA, et al. Evaluation of matrix metalloproteinase 7 in plasma and pancreatic juice as a biomarker for pancreatic cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2007; 16(5):886-91.

127. Rath B, Klameth L, Plangger A, Hochmair M, Ulsperger E, Huk I, et al. Expression of proteolytic enzymes by small cell lung cancer circulating tumor cell lines.Cancers 2019;11(114):1-13.

128. Qiao X, Zhai X, Wang J, Zhao X, Yang X, Lv J, et al. Sequential measurements of serum matrix metalloproteinase 9 to monitor chemotherapy responses in patients with advanced non-small-cell lung cancer. Onco Targets Ther 2016:9;3299–305.

129. Sun X, Xiao T, Yang L, Gao Y, Cheng G, Sun K. The expression level and clinical significance of mmp-7 protein in peripheral blood in the patients with lung cancer. Zhongguo Fei Ai Za Zhi 2012;15(12):725-9.

130. Weng Y, Cai M, Zhu J, Geng J, Zhu K, Jin X, et al. Matrix metalloproteinase activity in early-stage lung cancer. Onkologie 2013;36:256–9.

131. Shen T, Chang W, Tsai C, Chao C, Lin Y, Hsiao C, et al. The contribution of matrix metalloproteinase-1 promoter genotypes in Taiwan lung cancer risk. Anticancer Res 2018;38:253-7.

132. Lee SJ, Lee EJ, Kim SK, Jeong P, Cho YH, Yun SJ, et al. Identification of pro-ınflammatory cytokines associated with muscle ınvasive bladder cancer; the roles of IL-5, IL-20, and IL-28A. Plos One 2012;7(9):1-18.

133. Dibdiakova K, Svec A, Majercikova Z, Adamik M, Grendar M, Vana J, et al. Associations between matrix metalloproteinase, tissue inhibitor of metalloproteinase and collagen expression levels in the adjacent rectal tissue of colorectal carcinoma patients. Mol Clin Oncol 2022;16(41):1-9.

134. Pezeshkian Z, Nobili S, Peyravian N, Shojaee B, Nazari H, Soleimani H, et al. Insights into the role of matrix metalloproteinases in precancerous conditions and in colorectal cancer. Cancers 2021;13(6226):1-20.

135. Li CY, Yuan P, Lin SS, Song CF, Guan WY, Yuan L, et al. RETRACTED ARTICLE: Matrix metalloproteinase 9 expression and prognosis in colorectal cancer: a meta-analysis. Tumor Biology 2013;34:735-41.

136. Kostova E, Slaninka-Miceska M, Labacevski N, Jakovski K, Trojachanec J, Atanasovska E, et al. Expression of matrix metalloproteinases 2, 7 and 9 in patients with colorectal cancer. Vojnosanit Pregl 2014;71(1):52-9.

137. Vocka M, Langer D, Fryba V, Petrtyl J, Hanus T, Kalousova M, et al. Serum levels of TIMP-1 and MMP-7 as potential biomarkers in patients with metastatic colorectal cancer. IJBM 2019;34(3):292-301.

138. Carey P, Low E, Harper E, Stack MS. Metalloproteinases in ovarian cancer. Int. J. Mol. Sci. 2021;22(3403):1-15.

139. Vos MC, Van Der Wurff AAM, Van Kuppevelt TH, Massuger LFAG. The role of MMP-14 in ovarian cancer: a systematic review. J Ovarian Res 2021;14(101):1-13.

140. Assidi M, Jafri MA, Abu-Elmagd M, Saddick S, Messaoudi S, Rasool M, et al. Prognostic value of matrix metalloproteinase 2 protein expression in ovarian cancer is age- and stage-dependent. Eur. J. Gynaecol. Oncol. 2022;43(1):26–35.

141. Kiani A, Kamankesh M, Vaisi-Raygani A, Moradi MR, Tanhapour M, Rahimi Z, et al. Activities and polymorphisms of MMP-2 and MMP-9, smoking, diabetes and risk of prostate cancer. Mol Biol Rep 2020;47:9373-83.

142. Gwak J, Shin JY, Lee K, Hong SK, Oh S, Goh SH, et al. SFMBT2 (Scm-like with four mbt domains 2) negatively regulates cell migration and invasion in prostate cancer cells. Oncotarget 2016:30(7);48250-64.

143. Fiorentini C, Bodei S, Bedussi F, Fragni M, Bonini SA, Simeone C, et al. GPNMB/OA protein increases the invasiveness of human metastatic prostate cancer cell lines DU145 and PC3 through MMP-2 and MMP-9 activity. Exp Cell Res 2014;323(1):100-1.

144. Pettaway CA, Song R, Wang X, Sanchez-Ortiz R, Spiess Pe, Strom S, et al. The ratio of matrix metalloproteinase to E-cadherin expression: a pilot study to assess mRNA and protein expression among African American prostate cancer patients. The Prostate 2008; 68(13):1467-76.

145. Lakka SS, Rao JS. Role and regulation of proteases in human glioma. Proteases In The Brain 2005;3:151-77.

146. Yoshida S, Takahashi H. Expression of extracellular matrix molecules in brain metastasis. J Surg Oncol 2009;100(1):65-8.

147. Zhang K, Liu X, Hao F, Dong A, Chen D. Targeting TGF-β1 inhibits invasion of anaplastic thyroid carcinoma cell through SMAD2-dependent S100A4-MMP-2/9 signalling. Am J Transl Res 2016;8(5):2196–209.

148.Levi J, Kothapalli SR, Bohndiek S, Yoon JK, Dragulescu-Andrasi A, Nielsen C, et al. Molecular photoacoustic imaging of follicular thyroid carcinoma. Clin Cancer Res 2013;19(6):1494–502.

149.Xu D, Su C, Guo L, Yan H, Wang S, Yuan C, et al. Predictive significance of serum MMP-9 in papillary thyroid carcinoma. Open Life Sci 2019;14(1):275-87.

150.Korem S, Kraiem Z, Shiloni E, Yehezkel O, Sadeh O, Resnick MB. Increased expression of matrix metalloproteinase-2: a diagnostic marker but not prognostic marker of papillary thyroid carcinoma. IMAJ 2002;4:247-51.

151.Rahimi Z, Yari K, Rahimi Z. Matrix metalloproteinase-9 -1562T allele and its combination with MMP-2 -735 C allele are risk factors for breast cancer. Asian Pac J Cancer Prev 2015;16(3):1175-9.

152.Luizon MR, Belo VA, Fernandes KS, Andrade VL, Tanus-Santos JE, Sandrim VC. Plasma matrix metalloproteinase-9 levels, MMP-9 gene haplotypes, and cardiovascular risk in obese subjects. Mol Biol Rep 2016;43:463–71.

153.Mohagheghi S, Khodadadi I, Karami M, Amiri I, Tavilani H. Gene polymorphism of matrix metalloproteinase 9 in asthenozoospermic male subjects. Int J Fertil Steril 2018;11(4):247–52.

154.Jiang Y, Liu H, Wang Y, Shi X, Shao Y, Xu Z. Meta-analysis of matrix metalloproteinase (MMP)-9 C1562T polymorphism and susceptibility to ischemic stroke in the Chinese population. J Int Med Res 2020;48(6):1–13.

155.Singh R, Srivastava P, Srivastava A, Mittal RD. Matrix metalloproteinase (MMP-9 and MMP-2) gene polymorphisms influence allograft survival in renal transplant recipients. Nephrol Dial Transplant 2010;25:3393–401.

156. Maral S, Acar M, Balcik OS, Uctepe E, Hatipoglu OF, Akdeniz D, et al. Matrix metalloproteinases 2 and 9 polymorphism in patients with myeloproliferative diseases. Medicine 2015;94(16):1-8.

157.Micheal S, Yousaf S, Khan MI, Akhtar F, Islam F, Khan WA, et al. Polymorphisms in matrix metalloproteinases MMP1 and MMP9 are associated with primary open-angle and angle closure glaucoma in a Pakistani population. Mol Vis 2013;19:441-7.

158.Strbac D, Goricar K, Dolzan V, Kovac V. Evaluation of matrix metalloproteinase 9 serum concentration as a biomarker in malignant mesothelioma. Hindawi Disease Markers 2019;2019:1-8.

159.Rodius S, Mulliert G, Azuaje F, Devaux Y, Wagner DR. Matrix metalloproteinase 9 polymorphism and outcome after myocardial infarction. Cardiogenetics 2011;1(e5):13-9.

160.Nan H, Niu T, Hunter DJ, Han J. Missense polymorphisms in matrix metalloproteinase genes and skin cancer risk. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2008;17(12):3551–7.

161. https://www.nps.gov/articles/images/yellthermophilic2.jpg. Erişim tarihi: 18 Şubat 2023.

162. https://www.drozdogan.com/webp-images/polimeraz-zincir-reaksiyonu-nedir-nasil-yapilir-uygulanir-etki-mekanizmasi-423069.webp. Erişim tarihi: 18 Şubat 2023.

163. Ren W, Xu C, Wang S, Li H, Dai H, Yang F, et al. The effect of VAV3 polymorphisms on thyroid cancer. Endocrine 2022;75:178-84.

164. Hao R, Han P, Zhang L, Bi Y, Yan J, Li H, et al. Genetic polymorphisms in the PCNXL2 gene are risk factors for thyroid cancer in the Chinese population. Future Oncol 2021;17(34):4677-86.

165. Cocolos AM, Muresan A, Caragheorgheopol A, Ghemigian M, Ioachim D, Poiana C. Vitamin D status and VDR polymorphisms as prognostic factors in differentiated thyroid carcinoma. In Vivo 2022;36:2434-41.

166. Tomaz RA, Sousa I, Silva JG, Santos C, Teixeira MR, Leite V, et al. FOXE1 polymorphisms are associated with familial and sporadic nonmedullary thyroid cancer susceptibility. Clin Endocrinol (Oxf) 2012;77(6):926-33.

167. Abdul-Maksoud RS, Elsayed WSH, Rashad NM, Elsayed RS, Elshorbagy S, Hamed MG. GLP-1R polymorphism (rs1042044) and expression are associated with the risk of papillary thyroid cancer among the Egyptian population. Gene 2022;834:146597.

168. Hernández A, Céspedes W, Xamena N, Surrallés J, Creus A, Galofré P, et al. Glutathione S-transferase polymorphisms in thyroid cancer patients. Cancer Lett 2003;190(1):37-44.

169. Ryu RA, Tae K, Min HJ, Jeong JH, Cho SH, Lee SH, et al. XRCC1 polymorphisms and risk of papillary thyroid carcinoma in a korean sample. J Korean Med Sci 2011;26(8):991-5.

170. Rad RM, Pouladi N, Bosharani AN, Alizadeh M. Association between HOTAIR rs1899663 G>T gene polymorphism and thyroid cancer susceptibility. JBUMS 2022;24(1):95-102.

171. Bertol BC, Góes de Araújo JN, Costa de Carvalho KT, Gonzaga dos Santos M, Martelli-Palomino G, Feitosa NLF, et al. Polymorphisms at the IL17A and IL17RA genes are associated with prognosis of papillary thyroid carcinoma. Arch Med Res 2022;53(2):163-9.

172. Zhang X, Gu Y, Liu X, Yu Y, Shi J, Yu Q, et al. Association of Pre-miR-146a rs2910164 polymorphism with papillary thyroid cancer. Int J Endocrinol 2015;2015:1-9.

173. Sarkar P, Muthuraj TS, Bandyopadhyay P, Ghosh P. Matrix metalloproteinase-9-1562 C/T promoter gene polymorphism in chronic periodontitis: a cross-sectional observational study. J Indian Soc Periodontol 2022;26(4):348–52.

174. Grieu F, Li WQ, Iacopetta B. Genetic polymorphisms in the MMP-2 and MMP-9 genes and breast cancer phenotype. Breast Cancer Res Treat 2004;88:197–204.

175. Andrade VL, Fernandes KS, Bosco AA, Tanus-Santos JE, Sandrim VC. Functional polymorphism located in MMP-9 gene promoter is strongly associated with obesity. DNA Cell Biol 2012;31(6):1054-7.

176.Tang LJ, Chen XF, Zhu M, Shen WF, Jiang JJ. Study of relations between matrix metalloproteinase-9 polymorphism (C-1562T) and acute coronary syndrome in Han population of China. Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi 2005;22(3):313-6.

177.Li Y, Chen L, Yao S, Chen J, Hu W, Wang M, et al. Matrix metalloproteinase 9 gene with ischaemic stroke in a southern chinese population. Cell Physiol Biochem 2018;49:2188–99.

178.Wang W, Guo Z, Xie D, Lin Z, Lin R. Relationship between MMP-9 gene polymorphism and intracranial aneurysm. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand) 2022;68(1):14-9.

179.Wang Y, Fang S, Wei L, Wang R, Jin X, Wen D, et al. 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(2):155-61.

180.Ibrahem MA, Ibrahim MM, Al-Karamany AS, Etewa RL. Gene polymorphisms and risk of preeclampsia in Egyptian women. EBWHJ 2020;10(4):273-83.

181.Wu MH, Tzeng H, Wu C, Yueh T, Peng Y, Tsai C, et al. Association of matrix metalloproteinase-9 rs3918242 promoter genotypes with colorectal cancer risk. Anticancer Res 2019;39(12):6523-9.

182.Durmanova V, Parnicka Z, Javor J, Cserkoova A, Copikova-Cudrakova D, Lisa I, et al. Association of MMP9 polymorphism rs3918242 with clinical findings in Slovak multiple sclerosis patients. Act Nerv Super Rediviva 2019;61(1):12–8.

183.Felizi RT, Veiga MG, Filho IC, Peres do Souto R, Fernandes CE, Oliveira E. Association between matrix metallopeptidase 9 polymorphism and breast cancer risk. Rev Bras Ginecol Obstet 2018;40:620–4.

184.Roncevic J, Djoric I, Selemetjev S, Jankovic J, Dencic TI, Bozic V, et al. MMP-9-1562 C/T single nucleotide polymorphism associates with increased MMP-9 level and activity during papillary thyroid carcinoma progression. Pathology 2019;51(1):55-61.

185.Ozgen AG, Karadeniz M, Erdogan M, Berdeli A. Matrix metalloproteinases (MMP)-1, -2, and -9 gene polymorphism in papillary thyroid cancers (PTC). The Endocrinologist 2008;18:137–41.

186.Costa CD, Teleginski A, Al-Lahham Y, Souza EM, Valdameri G, Alberton D, et al. Association of polymorphism rs17576 of the metalloproteinase 9 gene with gestational diabetes in Euro-Brazilian pregnant women. Clin Lab 2018;64:645-9.

187.Kohan L, Mirhosseini M, Mortazavizadeh SM. The risk of relapse in breast cancer patients is associated with MMP-9 gene polymorphism: a prospective study in a sample of the Iranian population. Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids 2022;41(10):1012-23.

188.Kamal A, Elgengehy FT, Abd Elaziz MM, Gamal SM, Sobhy N, Medhat A, et al. Matrix metalloproteinase-9 rs17576 gene polymorphism and behçet's disease: is there an association? Immunol Invest 2017;46(5):460-8.

189. Minyaylo O, Ponomarenko I, Reshetnikov E, Dvornyk V, Churnosov M. Functionally significant polymorphisms of the MMP-9 gene are associated with peptic ulcer disease in the Caucasian population of Central Russia. Sci Rep 2021;11(13515):1-8.

190. Ramesh SS, Supriya M, Devi BI, Bhat DI, Christopher R. Gender-specific effects of MMP-2 and MMP-9 gene variants and the risk of aneurysmal subarachnoid haemorrhage. Meta Gene 2018;18:153-6.

191. Jin G, Miao R, Hu Z, Xu L, Huang X, Chen Y, et al. Putative functional polymorphisms of MMP9 predict survival of NSCLC in a Chinese population. Int J Cancer 2009;124(9):2172-8.

192. Fu F, Wang C, Chen L, Huang M, Huang H. The influence of functional polymorphisms in matrix metalloproteinase 9 on survival of breast cancer patients in a Chinese population. DNA Cell Biol 2013;32(5):274-82.

193. Dvornyk V, Ponomarenko I, Minyaylo O, Reshetnikov E, Churnosov M. Association of the functionally significant polymorphisms of the MMP9 gene with H. pylori-positive gastric ulcer in the Caucasian population of Central Russia. Plos One 2021;16(9):1-16.

194. Wang T, Fu W, Song S, Han Y, Yao L, Lu Y, et al. Matrix metalloproteinase-9 gene polymorphisms and their interaction with environment on subarachnoid hemorrhage risk. Exp Biol Med (Maywood) 2018;243(9):749-53.

195. Ruxandra D, Sorina S, Dana M, Andra C, Corin B. Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) promoter -1562C/T functional polymorphism is associated with an increased risk to develop micropapillary thyroid carcinoma. Cancer Biomarkers 2022;34(4):555-62.

ŞEKİLLER LİSTESİ

ŞEKİLLER **Sayfa**

Şekil 1. Tiroid bezi bölümleri 6
Şekil 2. Tiroid bezinin Hematoksilen-Eozin boyama ile elde edilen görüntüsü 7
Şekil 3. Tiroid bezinin atardamar ve toplardamarları 8
Şekil 4. Tiroid bezinin lenfatik direnajı 9
Şekil 5. Paratiroid bezleri 12
Şekil 6. İndiferansiye (anaplastik) tiroid kanseri 15
Şekil 7. İnce iğne aspirasyon biyopsisi uygulama ve ultrasonografi görüntüsü 26
Şekil 8. Matriks metalloproteinazların yapısı 34
Şekil 9. Kanser oluşum sürecinde MMP'lerin rolleri 38
Şekil 10. Taq polimeraz enziminin izole edildiği Yellowstone Milli Parkı 54
Şekil 11. Polimeraz zincir reaksiyon döngüsü 57
Şekil 12. İzole DNA'ların %0.8'lik agaroz jelde yürütüldükten sonra jelin ultraviyole ışık altındaki görüntüsü 66
Şekil 13. Matriks metalloproteinaz-9 C-1562T gen polimorfizmi için elde edilen PZR ürünlerinin %2'lik agaroz jelde yürütülmesi sonucunda jelin ultraviyole ışık altındaki görüntüsü 66
Şekil 14. Matriks metalloproteinaz-9 Gln279Arg gen polimorfizmi için elde edilen PZR ürünlerinin %2,5'lik agaroz jelde yürütülmesi sonucunda jelin ultraviyole ışık altındaki görüntüsü 67

Şekil 15. Matriks metalloproteinaz-9 Arg668Gln gen polimorfizmi için elde edilen PZR ürünlerinin %2,2'lik agaroz jelde yürütülmesi sonucunda jelin ultraviyole ışık altındaki görüntüsü 67
Şekil 16. Matriks metalloproteinaz-9 C-1562T gen polimorfizmi için elde edilen kesim ürünlerinin %2.5'lik agaroz jelde yürütülmesi sonucunda jelin ultraviyole ışık altındaki görüntüsü 68
Şekil 17. Matriks metalloproteinaz-9 Gln279Arg gen polimorfizmi için elde edilen kesim ürünlerinin %3'lük agaroz jelde yürütülmesi sonucunda jelin ultraviyole ışık altındaki görüntüsü 69
Şekil 18. Matriks metalloproteinaz-9 Arg668Gln gen polimorfizmi için elde edilen kesim ürünlerinin %2,7'lik agaroz jelde yürütülmesi sonucunda jelin ultraviyole ışık altındaki görüntüsü 69

TABLOLAR LİSTESİ

TABLOLAR **Sayfa**

Tablo 1. Papiller tiroid kanserinin TNM sınıflamasına göre evrelemesi 18
Tablo 2. ATA'ne göre papiller tiroid kanseri risk sınıflaması 19
Tablo 3. Tiroid nodül vakalarında tanı ve tedavi yaklaşım şeması 25
Tablo 4. Matriks metalloproteinazların substrat özgüllüğüne göre sınıflandırılması 36
Tablo 5. Matriks Metalloproteinaz-9 C-1562T gen polimorfizmleri kesim sonuçları 49
Tablo 6. Matriks Metalloproteinaz-9 Gln279Arg gen polimorfizmleri kesim sonuçları 49
Tablo 7. Matriks Metalloproteinaz-9 Arg668Gln gen polimorfizmleri kesim sonuçları 50
Tablo 8. MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi için seçilen primer dizisinin MMP-9 gen dizisinde gösterimi 57
Tablo 9. MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi için seçilen primer dizisinin MMP-9 gen dizisinde gösterimi 58
Tablo 10. MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmi için seçilen primer dizisinin MMP-9 gen dizisinde gösterimi 59
Tablo 11. MMP-9 gen dizisinde SphI (PAEI) kesim enziminin kestiği bölgelerin gösterimi . 61
Tablo 12. MMP-9 gen dizisinde SmaI kesim enziminin kestiği bölgelerin gösterimi 62
Tablo 13. MMP-9 gen dizisinde Eco130I (StyI) kesim enziminin kestiği bölgelerin gösterilmesi 63
Tablo 14. Hasta ve kontrol grupları arasında yaş ve cinsiyet karşılaştırması 65
Tablo 15. Hasta ve kontrol grubu için MMP-9 C-1562T gen polimorfizmleri genotip dağılımları 70

Tablo 16. MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi için cinsiyetler arası genotip dağılımları 71
Tablo 17. Varyantlar arasında MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi genotip dağılımları 71
Tablo 18. Tümör çapına göre MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi genotip dağılımları 72
Tablo 19. Lenf nodu metastazına göre MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi genotip dağılımları..... 73
Tablo 20. Hasta ve kontrol grubu için MMP-9 C-1562T gen polimorfizmleri allel dağılımları..... 73
Tablo 21. Erkek ve kadın gönüllüler için MMP-9 C-1562T gen polimorfizmleri allel dağılımları..... 74
Tablo 22. MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi için hasta ve kontrol grubu cinsiyetler arası allel dağılımları..... 74
Tablo 23. Varyantlar arasında MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi allel dağılımları 75
Tablo 24. Tümör çapına göre MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi allel dağılımları 75
Tablo 25. Lenf nodu metastazına göre MMP-9 C-1562T gen polimorfizmi allel dağılımları 76
Tablo 26. Hasta ve kontrol grubu için MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmleri genotip dağılımları..... 76
Tablo 27. MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi için cinsiyetler arası genotip dağılımları.... 77
Tablo 28. Varyantlar arasında MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi genotip dağılımları 77
Tablo 29. Tümör çapına göre MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi genotip dağılımları 78
Tablo 30. Lenf nodu metastazına göre MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi genotip dağılımları..... 79
Tablo 31. Hasta ve kontrol grubu için MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmleri allel dağılımları..... 79
Tablo 32. Erkek ve kadın gönüllüler için MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmleri allel dağılımları..... 80
Tablo 33. MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi için hasta ve kontrol grubu cinsiyetler arası allel dağılımları..... 80
Tablo 34. Varyantlar arasında MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi allel dağılımları..... 81
Tablo 35. Tümör çapına göre MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi allel dağılımları..... 81
Tablo 36. Lenf nodu metastazına göre MMP-9 Gln279Arg gen polimorfizmi allel dağılımları..... 82
Tablo 37. Hasta ve kontrol grubu için MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmleri genotip dağılımları..... 82

Tablo 38. MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmi için cinsiyetler arası genotip dağılımları.... 83
Tablo 39. Varyantlar arasında MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmi genotip dağılımları 83
Tablo 40. Tümör çapına göre MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmi genotip dağılımları 84
Tablo 41. Lenf nodu metastazına göre MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmi genotip dağılımları..... 85
Tablo 42. Hasta ve kontrol grubu için MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmleri allel dağılımları..... 85
Tablo 43. Erkek ve kadın gönüllüler için MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmleri allel dağılımları..... 86
Tablo 44. MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmi için hasta ve kontrol grubu cinsiyetler arası allel dağılımları..... 86
Tablo 45. Varyantlar arasında MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmi allel dağılımları..... 87
Tablo 46. Tümör çapına göre MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmi allel dağılımları..... 87
Tablo 47. Lenf nodu metastazına göre MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmi allel dağılımları..... 88
Tablo 48. Üçlü grup halinde gen polimorfizmlerinin genotip dizilerinin dağılımı 89
Tablo 49. İkili grup halinde MMP-9 Gln279Arg ile MMP-9 Arg668Gln gen polimorfizmlerinin genotip dizilerinin dağılımı 90
Tablo 50. İkili grup halinde MMP-9 Arg668Gln ile MMP-9 C-1562T gen polimorfizmlerinin genotip dizilerinin dağılımı 91
Tablo 51. İkili grup halinde MMP-9 Gln279Arg ile MMP-9 C-1562T gen polimorfizmlerinin genotip dizilerinin dağılımı 92

ÖZGEÇMİŞ

EKLER

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU Edirne, Türkiye

ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYIBAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	TÜTF-BAEK 2021/97	
	PROTOKOL ADI	Papiller Tiroid Kanserli Hastalarda MMP-9 Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması	
	SORUMLU ARAŞTIRICI ÜNVANI / ADI	Prof. Dr. Tammam SİPAHİ	
	ARAŞTIRMA MERKEZİ		
	DESTEKLEYİCİ		
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	Tek Merkez Ulusal	Çok Merkez Uluslararası
KARAR BİLGİLERİ	**Karar No:04/29**	**Tarih:15.02.2021**	
	Fakültemiz Biyofizik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Tammam SİPAHİ'nin sorumluluğunda yapılması planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen Doktora Öğrencisi İsmail KARA'nın tez çalışmasının araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş; araştırmaya ilişkin giderlerin gönüllüye ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödetilmediği koşullarda ve veri toplanacak yerlerden gerekli izinler alındıktan sonra gerçekleştirilmesinde etik bilimsel standartlar açısından sakınca bulunmadığına mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.	
ETİK KURUL BİLGİLERİ			
ÇALIŞMA ESASI	Helsinki Bildirgesi, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu, TÜTF-BAEK Yönergesi		

ÜYELER

Ünvan/Ad/ Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki(*)	Katılım (**)	İmza
Dr. Öğr. Üyesi Fatma Gülsüm ÖNAL Başkan	Tıp Tarihi ve Etik	T.Ü.T.F. Tıp Tarihi ve Etik A.D.	K	E H	E H	
Doç. Dr. Hakan GÜRKAN Başkan Yardımcısı	Tıbbi Genetik	T.Ü.T.F. Tıbbi Genetik A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. Hasan ÜMİT Üye	İç Hastalıkları	T.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	E	**E H**	**E H**	
Dr. Öğr. Üyesi Oktay KAYA Üye	Fizyoloji	T.Ü.T.F. Fizyoloji A.D.	E	E (H)	(E) H	
Prof. Dr. Galip EKUKLU Üye	Halk Sağlığı	T.Ü.T.F. Halk Sağlığı A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. Filiz TÜTÜNCÜLER KÖKENLİ Üye	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.D	K	E H	E H	
Öğr. Gör. Dr. Sinan ATEŞ Üye	Kadın Hastalıkları ve Doğum	T.Ü.T.F. Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D.	E	E H	(E) H	
Prof. Dr. Sevtap HEKİMOĞLU ŞAHİN Üye	Anestezi ve Reanimasyon	T.Ü.T.F. Anestezi ve Reanimasyon A.D.	K	E H	E H	
Prof. Dr. Atakan SEZER Üye	Genel Cerrahi	T.Ü.T.F. Genel Cerrahi A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. Serhat OĞUZ Üye	Genel Cerrahi	T.Ü.T.F. Genel Cerrahi A.D.	E	E (H)	(E) H	
Avukat Emine NURLU Üye		T.Ü. Rektörlüğü	K	E (H)	(E) H	
Emekli Öğretmen Sinan SEÇKİN Üye		Serbest Üye	E	E (H)	(E) H	

*Araştırma ile ilişki
**Toplantıda Bulunma

Prof. Dr. Ahmet TEZEL
Dekan a
Dekan Yrd

T.C. TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ SÖZLEŞMESİ

PROJE NO: 2021/123
PROJE NİTELİĞİ: DOKTORA

1-PROJE BAŞLIĞI

Papiller tiroid kanserli hastalarda MMP-9 gen polimorfizmlerinin araştırılması

2-PERSONEL BİLGİLERİ

	Adı ve Soyadı	Unvanı	Telefon
Proje Yöneticisi	Prof.Dr. Tammam SİPAHİ	Prof.Dr.	(284)235-7641
Araştırmacılar	Öğrenci İsmail KARA	Öğrenci	(284)226-8404

3-PROJE BÜTÇESİ

Teçhizatın Tanımı :	**Detay listesi ektedir.**
Ekonomik Kod	**Toplam Fiyatı (TL)**
03.02 TÜKETİME YÖNELİK MAL VE MALZEME ALIMLARI	38.950,00
TOPLAM ÖDENEK	38.950,00

3-PROJE GELİŞİMİ

1.Projenin Kabul Tarihi: 10-11-2021	**1.Ara Rapor** : 06-06-2022	**Sonuç :** ..... (+ / -)
2.Projenin Başlama Tarihi :07-12-2021	**2.Ara Rapor** : 06-12-2022	**Sonuç :** ..... (+ / -)
3.Projenin Bitiş Tarihi : 06-12-2023	**3.Ara Rapor** : 06-06-2023	**Sonuç :** ..... (+ / -)
4.Projenin Süresi: 24 Ay	**Sonuç Raporu** : 06-12-2023	**Sonuç :** ..... (+ / -)

5.İLGİLİ BÖLÜM VE FAKÜLTE:

Tıp Fakültesi / Temel Tıp Bilimleri Bölümü

6.PROJENİN UYGULAMASI

1. Bu proje 2547 sayılı YÖK Kanununun 4684 sayılı Kanunla değişik 58.maddesi gereğince, Yükseköğretim Kurumları Bilimsel Araştırma Projeleri Hakkında Yönetmelik ve Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Uygulama Yönergesi çerçevesinde yürütülür.

2. Proje süresinde ve harcama fasıllarında Rektörlük onayı alınmadan değişiklik yapılamaz.

3. Proje Yöneticisi her 6 ayın sonunda gelişme raporunu, Bölüm Başkanlığı ve ilgili Dekanlık veya Enstitü Müdürlüğü aracılığı ile Rektörlüğe iletmekle yükümlüdür.

4. Projelerden alınan teçhizat tüm öğretim üyelerinin kullanımına açıktır.

5. Bir ay geçtiği halde gelişme raporu verilmemiş veya süresi bitmiş olup süre uzatımı talebinde bulunulmamış projeler iptal edilir. Bakiye ödenek, BAP Komisyonu tarafından kabul edilecek yeni projelere tahsis edilir veya diğer projelere aktarılır.

	Adı-Soyadı	**Tarih**	**İmza**
Proje Yöneticisi :	Prof.Dr. Tammam SİPAHİ		

Komisyon Başkanı

Prof. Osman Nuri HATİPOĞLU
Rektör