

Meme Kanserli Hastalarda TIMP2 Gen Polimorfizmlerinin Sıklığının Araştırılması

Ulviye Göksen Arslan¹, Recep Özmerdivenli², Kürşat Oğuz Yaykaşlı³, Murat Oktay⁴, Havva Erdem⁴, Hatice Soğuktaş¹, Nesibe Yamak¹, Emine Yaykaşlı¹

¹Düzce Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Düzce

²Düzce Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Düzce

³Düzce Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Düzce

⁴Düzce Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, Düzce

Eur J Basic Med Sci 2012;2(4):101-105

Received: 24-09-2012

Accepted: 10-01-2013

Correspondence (Yazışma Adresi):

Dr. Kürşat Oğuz Yaykaşlı

Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik AD,

81620 Konuralp, Düzce

Tel: 03805421100/4160

E-mail: kursatyay@yahoo.com

Investigation of TIMP2 Gene Polymorphisms Incidence in Patients with Breast Cancer

ABSTRACT

The breast cancers were placed in first rank among other cancer types in women, and second rank after lung cancer in terms of death in the World. It is estimated that this cancer has 20/100.000 frequency in east region and 40-50/100.000 frequency west region according to present data in Turkey. Matrix Metalloproteinase (MMP), proteolytic enzymes involve in the breakdown of proteins located in the cell membrane and intercellular matrix such as collagen, elastin, proteoglycans, and gelatin. The tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs) are proteins which are specific and natural inhibitor for MMPs. Its primary tasks regulate the activation of MMPs by suppress. The destruction of the balance between MMPs and TIMPs, may lead the emergence of pathological processes. In this study, the effect of TIMP2 (-418) G/C and TIMP2 (303) G/A polymorphisms in breast cancer patients in Turkish population were analyzed by Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP). The statistically significant difference was found between the control group and patients with breast cancer. However it is found that TIMP2 (303) GA genotype increases the risk of developing breast cancer at 1.486fold (p=0.519), TIMP2 (-418) CC genotype increases the risk of developing breast cancer at 3.719-fold (p=0.519). In our knowledge, this study is the first to evaluate the relationship between breast cancer and TIMP2 gene polymorphisms in Turkish population. Our results show that there is no any association between breast cancer and TIMP2 gene polymorphisms in the community which is represented by our study and control groups. It was concluded from results that TIMP2 (303) GA genotype ile TIMP2 (-418) CC genotype may create the susceptibility to breast cancer.

Key Words: TIMP2, Breast Cancer, Polymorphism

ÖZET

Dünyada meme kanseri, kadınlarda görülen kanser türleri arasında ilk sırada, kanser nedeniyle oluşan ölümlerde ise akciğer kanserinden sonra ikinci sırada yer almaktadır. Türkiye'de mevcut verilere göre, doğu bölgelerimizde 20/100.000, batı bölgelerimizde ise 40-50/100.000 oranında bir sıklığın olduğu tahmin edilmektedir. Proteolitik enzimler olan Matriks Metalloproteinaz (MMP)'lar temel olarak hücre membranındaki ve hücreler arası matrikste bulunan kolajen, elastin, jelatin ve proteoglikan gibi proteinlerin yıkımında görev alırlar. Matriks metalloproteinazların doku inhibitörleri (TIMP) ise MMP

enzimlerinin özgül ve doğal inhibitörleri olan proteinlerdir. Öncelikli görevleri MMP'leri baskılamak ve aktivasyonlarını düzenlemektir. MMP ve TIMP'ler arasındaki bu dengenin bozulması patolojik süreçlerin ortaya çıkmasına sebep olabilmektedir. Bu çalışmada TIMP2 (-418) G/C ile TIMP2 (303) G/A polimorfizmleri ile Türk toplumundaki meme kanseri arasındaki ilişkisi Polimeraz Zincir Reaksiyonu-Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi (PZR-RFLP) yöntemiyle incelendi. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda meme kanseri hastaları ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Fakat TIMP2 (303) GA genotipi, meme kanserine yakalanma riskini 1,486 kat ($p=0.519$), TIMP2 (-418) CC genotipinin meme kanserine yakalanma riskini 3,719 kat arttırdığı bulunmuştur ($p=0,519$). Bu çalışma literatürde tespit ettiğimiz kadarıyla Türk toplumunda meme kanserinde TIMP2 gen polimorfizmlerini araştıran ilk çalışmadır. Elde ettiğimiz sonuçlara göre TIMP2 (303) GA genotipi ile TIMP2 (-418) CC genotipinin meme kanserine yakınlık oluşturduğu düşünülebilir.

Anahtar kelimeler: TIMP2, Meme Kanseri, Polimorfizm

GİRİŞ

Kanser, birden fazla genetik ve epigenetik faktörün etkisiyle çok aşamalı olarak kalıtsal ve sporadik mutasyonların birikmesiyle ortaya çıkan bir genetik hastalıktır (1). Genel olarak kanser nedenli ölümlerde akciğer kanserinden sonra ikinci sırada yer alan meme kanseri, kadınlarda görülen en sık kanser türüdür. Kadınlarda ise kanser ölümlerinin başında gelmektedir (2,3). Meme kanseri yaygın olmasına karşın, genellikle yavaş bir gelişme hızı gösteren ve tanısı erken yapıldığında oldukça başarılı tedavi sonuçları elde edilebilen ve ölüm oranı azaltılabilen bir kanser türüdür (4). Dünya genelinde 2008 yılında 1,38 milyon yeni meme kanseri vakası rapor edilmiştir. Vaka sayısı artmasına karşın meme kanseri kaynaklı ölüm oranı düşmeye devam etmektedir. Bunun başlıca sebepleri gelişen görüntüleme teknikleriyle erken tanı ve tedavi yöntemlerinin gelişmesidir (5). Literatürde Türkiye'de ki meme kanseri sıklığı, doğu bölgelerimiz için 20/100.000, batı bölgelerimiz için ise 40-50/100.000 oranında olduğu tahmin edilmektedir (6). Hücre dışı matriksin en az bir komponentini proteoliz edebilen Matriks Metalloproteinazlar (MMP)'ler, 21'den fazla üyesi olan çinko bağımlı endopeptidaz enzim ailesidir. MMP'ler başlıca kollajen, elastin, jelatin ve proteoglikan gibi ekstraselüler matriks bileşenlerinin yıkımından sorumludurlar. Böylece MMP'ler metastazın önemli bir basamağı olan hücre göçünü kolaylaştırırlar (7). Bunun yanı sıra; hücre büyümesinde, farklılaşmasında, apoptozisde, invazyonda ve tümörlerdeki angiogenez'de bir takım roller üstlenmişlerdir. TIMP'ler ise dokulardaki MMP'lerin özgül ve doğal inhibitörleri olan

proteinlerdir. Öncelikli görevleri MMP'leri baskılamak ve aktivasyonlarını düzenlemek olan TIMP'ler hücre dışı matriksin depolanması ve yıkımı arasındaki dengenin sürdürülebilmesinde anahtar rol oynarlar. TIMP'ler hem proMMP'lerin hem de MMP'lerin çinko bağlanma bölgelerine bağlanarak aktif olanların aktivasyonunu düzenlerler aktif olmayanların ise aktivasyonunu engelleyerek malign tümörün büyümesini, invazyonunu ve metastazını inhibe ederler (8,9,10). TIMP ailesinin bilinen dört tane üyesi (TIMP1, TIMP2, TIMP3, TIMP4) vardır (8). İlk kez melanom hücrelerinden izole edilen TIMP2, 21 kDa ağırlığında olup, non-glikolize bir proteindir. TIMP-2 geni; 17q25.3 kromozomu üzerinde yer alır ve 5 ekzon içerir ve 83 kb uzunluğundadır. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda TIMP 2 genlerindeki bazı polimorfizmlerin birçok kanser türünde etkili olduğu gösterilmiştir (11).

Meme kanseri, etiyolojisinde genetik ve epigenetik faktörlerin rol aldığı multifaktöriyel bir hastalıktır. Meme kanserine genetik yakınlığın belirlenebilmesi ve oluşma riskinin tahmin edilebilmesi için etiyolojisinde rol alan polimorfik genotiplerin açıklığa kavuşturulması gerekmektedir. Böylece erken tanı konabilecek ve meme kanseri kaynaklı mortalite azaltılabilecektir. Bu amaca uygun olarak bu çalışmada TIMP2 (-418) G/C ile TIMP2 (303) G/A polimorfizmlerinin Türk toplumundaki meme kanseri hastalarında etkin rol oynayıp oynamadığı Polimeraz Zincir Reaksiyonu-Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi (PZR-RFLP) yöntemiyle incelendi.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı tarafından meme kanseri tanısı konulmuş 52 hasta ve meme kanseri dışında başka sebeplerden opere edilen meme kanseri olmayan 53 olgu kontrol grubu olarak dâhil edildi. Dokuların tamamı Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Anabilim Dalı laboratuvarından temin edildi. Olguların sosyodemografik bilgileri kayıt edilmiştir. Parafin bloklardan 2X5µ'lık kesitler alınarak DNA izolasyonu, analitik jena blackPREP FFPE DNA kit (Almanya) yardımıyla yapılmıştır. Kısaca, parafin bloktan alınan kesitler üzerine QPT solüsyonu ve Proteinaz K eklenerek belirli sıcaklıklarda inkübe edildi. Santrifüj sonrası supernatant filtreye alındı üzerine SBS eklendikten sonra santrifüj edildi. Filtre MS solüsyonu ile iki defa yıkandı. Daha sonra filtreye elution tampon çözeltisi ilave edilip, santrifüj edilerek DNA elde edildi (12). TIMP2 genindeki (-418) G/C ile TIMP2 (303) G/A polimorfizmleri, PZR-

Table 1. TIMP2 polimorfizmlerinde değerlendirilen bireylerin histopatolojik ve demografik özellikleri

	Özellikler	Kontrol (n=53)		Hasta (n=52)		Tek değişkenli analizler P	Lojistik regresyon	
		Sayı	%	Sayı	%		OR	P
Cinsiyet	K	35	66,0	51	98,1	0,0001	19,5	0,006
	E(referans)	18	34,0	1	1,9		-	-
Tümör Derecesi	Düşük	-	-	4	14,8	-	-	-
	Orta	-	-	16	59,3	-	-	-
	Yüksek	-	-	7	25,9	-	-	-
Tümör tipi	İnvaziv duktal	-	-	38	80,9	-	-	-
	İnvaziv lobüler	-	-	7	14,9	-	-	-
	Müsinöz lobüler	-	-	1	2,1	-	-	-
	Tubulo lobüler	-	-	1	2,1	-	-	-
Sigara	Yok (referans)	33	70,2	37	71,2	0,918	1,00	-
	Var	4	29,8	15	28,8		0,42	0,31

RFLP yöntemiyle analiz edildi. TIMP2 (-418) G/C bölgesi PCR için forward 5'-CGTCTCTTGTGGCTGGTCA-3' ve reverse 5'-CCTTCAGCTCGACTCTGGAG-3' primerleri kullanıldı. Oluşan 304 bazlık PZR ürünü Aval (Fermantas) enzimi ile 37 °C'da inkübe edildi. TIMP2 (303) G/A bölgesi PCR için forward 5'-TAGGAACAGCCCCACTTCTG-3' ve reverse 5'-CCTCTCGGCAGTGTGTG-3' primerleri kullanıldı. Oluşan 304 bazlık PZR ürünü TspRI (Fermantas) enzimi ile 65 °C'da inkübe edildi. (13). Kesim ürünleri agaroz jelde yürütülerek sonuçlar kaydedildi.

TIMP2 (-418) G/C polimorfizmi için kesim sonucunda 253, 51 bazlık bandlar görünüyorsa CC genotipi, 230, 51 ve 23 bazlık bandlar görünüyorsa GG genotipi, 253, 230, 51 ve 23 bazlık olmak üzere 4 band görünüyorsa CG genotipi olarak belirlendi. TIMP2 (303) G/A polimorfizmi için kesim sonucunda 119 bazlık tek band görünüyorsa AA genotipi, 103 ve 16 bazlık iki band görünüyorsa GG genotipi, 119, 103 ve 16 bazlık olmak üzere 3 band görünüyorsa GA genotipi olarak belirlendi. İstatistiksel değerlendirme için SPSS 17.0 paket programı kullanılmıştır. Gruplar arasında sayısal değişkenlerin karşılaştırılmasında student's t-testi, kategorik veriler için ise Ki-kare testi yapıldı. Tüm değişkenlerin birlikte ilişkisi Lojistik regresyon analizi ile kontrol edildi. Betimleyici değer olarak ortalama ± standart sapma ve oranlar verildi. P değeri 0.05 düzeyi anlamlı seviye olarak kabul edildi.

BULGULAR

TIMP2 (303) G/A ve TIMP2 (-418) G/C polimorfizmleri çalışmaya dâhil edilen meme kanseri tanısı konmuş 52 hasta ve herhangi bir kanser tanısı konmamış 53 sağlıklı bireye ait histopatolojik ve demografik özellikleri Tablo 1'de gösterilmiştir. Hasta grubunun 51 (%98,1)'inin bayan, 1 (% 1,9)'inin erkek olduğu tespit edildi. Kontrol grubundaki bireylerin ise 35 (%66)'ü bayan, 18 (%34)'i erkekti. Çalışma grubundaki bireyler sigara kullanımı açısından değerlendirildiğinde 37 (% 71,2)'sinin sigara kullanmadığı, 15 (% 28,8)'inin sigara kullandığı tespit edildi. Kontrol grubundaki bireylerin ise 33 (% 70,2)'nin sigara kullanmadığı, 14 (% 29,8)'nin ise sigara kullandığı tespit edildi. Histopatolojik özelliklerden tümörün histopatolojik türü açısından değerlendirildiğinde; invaziv duktal karsinomlu 38 (% 80,9), invaziv lobüler karsinomlu 7 (% 514,9), müsinöz lobüler karsinomlu 1 (% 2,1), Tubulo lobuler karsinomlu 1 (% 2,1) birey olduğu tespit edildi. Tümör derecesi açısından değerlendirildiğinde ise düşük dereceli tümörü olan 4 (%14,8), orta dereceli tümörü olan 16 (% 59,3), yüksek dereceli tümörü olan 7 (% 25,9) birey olduğu tespit edildi (Tablo 1). Meme kanseri hasta grubu bireyleri 22-89 yaş aralığında olup, yaş ortalaması 51 ± 14,3 olarak bulundu. Kontrol grubu bireyleri ise 26-75 yaş aralığında olup, yaş ortalaması 49 ±11,6 olarak bulundu (Tablo 2). Hasta ve kontrol

Tablo 2. TIMP2 polimorfizmlerinde değerlendirilen bireylerin yaş özellikleri

Özellikler	Kontrol (n=53)		Hasta (n=52)		Tek değişkenli analizler P	Lojistik regresyon	
	Ort±SD	Min-Max	Ort±SD	Min-Max		OR	P
Yaş	49 ±11,6	26-75	51 ±14,3	22-89	0,428	0,982	0,355

Tablo 3. TIMP2 (303) G/A polimorfizmini açısından değerlendirilen bireylerin genotip dağılımları

Genotip	Kontrol (n=52)		Hasta (n=44)		Tek değişkenli analizler P	Lojistik regresyon	
	Sayı	%	Sayı	%		OR	P
GG (referans)	41	78,8	34	77,3	0,523	-	-
GA	11	21,2	10	22,7		1,486	0,519
AA	-	-	-	-		-	-

grubu bireyleri TIMP2 (303) G/A polimorfizmi açısından incelendiğinde; hasta grubunu oluşturan bireylerin 34 (% 77,3)'ünün GG alleli, 10 (% 22,7)'nin GA alleli taşıdığı tespit edildi. Homozigot A alleli ise tespit edilemedi. Kontrol grubunu oluşturan bireylerin 41 (% 78,8)'inin homozigot G alleli, 11 (% 21,2)'nin GA alleli, taşıdığı tespit edildi. Homozigot A alleli ise tespit edilemedi. Yaptığımız istatistiksel analizler sonucu çalışma ve kontrol grubundaki bireylerin genotip dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı fakat heterozigot GA genotipine sahip bireylerin meme kanserine eğilim gösterdiği bulundu (OR=1,486 p=0.519). Sonuçlar Tablo 3'te gösterildi. Hasta ve kontrol grubu bireyleri TIMP2 (-418) G/C polimorfizmi açısından incelendiğinde; hasta grubunu oluşturan bireylerin 18 (%39,1)'inin GG alleli, 14 (%30,4)'ünün GC alleli, 14 (%30,4)'ünün ise CC alleli taşıdığı tespit edildi. Kontrol grubunu oluşturan bireylerin 20 (%40,8)'sinin GG alleli, 24 (%49,0)'ünün GC alleli, 5 (%10,2)'inin ise CC alleli taşıdığı tespit edildi. Yaptığımız istatistiksel analizler sonucu çalışma ve kontrol grubundaki bireylerin genotip dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (p=0,32). Fakat homozigot CC genotipine sahip bireylerin meme kanserine karşı yatkınlık oluşturduğu bulunmuştur (OR=3,719). Sonuçlar Tablo 4'de gösterildi.

TARTIŞMA

Proteolitik enzimler olan MMP'ler temel olarak hücre membranındaki ve hücrelerarası matrikste bulunan kolajen, elastin, jelatin ve proteoglikan gibi proteinlerin yıkımında görev alırlar. Böylece hücre dışı matriks bileşenlerini parçalayarak, tümör in-

vazyonunu kolaylaştırdığı böylece metastaz riskini arttırabilmektedir (7). TIMP'ler ise MMP enzimlerinin özgül ve doğal inhibitörleri olan proteinlerdir. Öncelikli görevleri MMP'leri baskılamak ve aktivasyonlarını düzenlemektir. MMP ve TIMP'ler arasındaki bu dengenin bozulması patolojik süreçlerin ortaya çıkmasına sebep olabilir. TIMP proteinlerinde en çok araştırılan TIMP2 geninin başta prostat kanseri (14) olmak üzere pankreas kanserinde (15), kolorektal kanserde (16), ağız kanserinde (17) ve yumurtalık kanserinde (18) rol aldığı bulunmuştur.

Srivastava ve arkadaşları TIMP2 (303) C/T ve TIMP2 (-418) G/C, polimorfizmlerinin prostat kanseri üzerine etkisini incelemişlerdir. Çalışmaları sonucunda TIMP2 (-418) G/C prostat kanserini başlatıcı etkisinin olmadığı fakat geliştirebileceği sonucunu elde etmişlerdir. Ayrıca MMP2 (1306T, 735C) genotip kombinasyonunun prostat kanseri riskini 1,5 kat, TIMP2 (-418G, 303T) genotip kombinasyonunun ise 1,8 kat artırdığını tespit etmişlerdir (19). Park ve arkadaşları TIMP2 ve MMP2 spesifik tek nükleotitlik polimorfizmlerinin kolorektal kanserinde tümör oluşumu ve biyoloji davranışı üzerine etkisini incelemişlerdir. Çalışmaları sonucunda istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edememişlerdir (20). Wu ve arkadaşları MMP2 ve TIMP2 gen genotiplerinin gastrik kanseri üzerine ilişkilerini incelemişlerdir. Çalışmaları sonucunda istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde etmemelerine rağmen TIMP2 G/G genotipinin serosal invazyonu (OR=1.89, p=0.009), lenf nodu metastazı (OR=2.19, p=0.021), lenfatik invazyon (OR=2,87, p=0,016) ve venöz invazyonu (OR=2,65, p=0,033) ile ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir (21). Bizim çalışma da ise TIMP2 (303) G/A ile TIMP2 (-418) G/C tek nükleotitlik

Tablo 4. TIMP2 (-418) G/C polimorfizmini açısından değerlendirilen bireylerin genotip dağılımları

Genotip	Kontrol (n=49)		Hasta (n=46)		Tek değişkenli analizler P	Lojistik regresyon	
	Sayı	%	Sayı	%		OR	P
GG (referans)	20	40,8	18	39,1	0,32	-	-
GC	24	49,0	14	30,4		0,418	0,185
CC	5	10,2	14	30,4		3,719	0,038

değişimler incelenmiştir. Yaptığımız istatistiksel analizler sonucunda çalışma ve kontrol grubundaki bireylerin genotip dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Fakat TIMP2 (303) GA genotipi, meme kanserine yakalanma riskini 1,486 kat ($p=0.519$), TIMP2 (-418) C/C genotipinin meme kanserine yakalanma riskini 3,719 kat arttırdığı bulunmuştur ($p=0,519$). Bu çalışma daha çok bireyler içeren gruplarla tekrarlanması durumunda daha kesin sonuçlar alınacaktır.

KAYNAKLAR

1. Ekmekçi A, Konaç E, Önen Hİ. Gen polimorfizmi ve kansere yatkınlık. *Türkiye Marmara Medical Journal* 2008; 21(3):282-95.
2. Koç Z, Sağlam Z. Kadınların meme kanseri, koruyucu önlemler ve kendi kendine meme muayenesi ile ilgili bilgi ve uygulamalarının belirlenmesi ve eğitimin etkinliği. *Meme Sağlığı Dergisi* 2009; 5(1):25-33.
3. Özmen V, Dünya'da ve Türkiye'de meme kanseri tarama ve kayıt programları. *Meme Sağlığı Dergisi* 2006; 2(1):55-8.
4. Ersin F, Bahar Z. Sağlığı geliştirme modelleri'nin meme kanseri erken tanı davranışlarına etkisi: Bir literatür derlemesi. *Deuhyo ed* 2012; 5(1):28-38.
5. Grubnik A, Benn C, Edwards G. Therapeutic Mammoplasty for Breast Cancer: Oncological and Aesthetic Outcomes. *World J Surg* 2013; 37(1):72-83.
6. Özmen V, Fidaner C, Aksaz E, Bayol Ü, Dede İ, Göker E, Güllüoğlu BM, Işıkdogan A, Topal U, Uhri M, Utkan Z, Zengin N, Tuncer M. Türkiye'de meme kanseri erken tanı ve tarama programlarının Hazırlanması 'Sağlık Bakanlığı meme kanseri erken tanı ve tarama alt kurulu raporu'. *The Journal of Breast Health* 2009; 5(3):125-34.
7. Gürocak ÖS, Sözen S, Üre İ, Erdem Ö, Akyol G, Alkibay T. Impact of tissue matrix metalloproteinase and its inhibitors on prognosis of patients with renal cell carcinoma. *Türk üroloji dergisi* 2008; 34(2):149-54.
8. Kaya Z. Meme kanserinde Matris MetalloProteinaz1 ve 2 ekspresyonunun diğer prognostik faktörlerle ilişkisi, Uzmanlık Tezi, T.C. Sağlık Bakanlığı Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Bölümü. İstanbul 2008.
9. Efindioğlu M. Menenjiomalı Hastalarda Matris Metalloproteinaz 1 Geni Promotor Bölge Polimorfizminin Sıklığı ve İnvazyondaki Rolünün İncelenmesi, Uzmanlık Tezi, T.C. Sağlık Bakanlığı İstanbul Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nöroşirürji Servisi. İstanbul 2009.
10. Sağlam F. The role of matrix metalloproteinases in renal diseases. *Türk Neph Dial Transpl* 2011; 20(2): 109-14.
11. Güzel S. Akut miyokard infarktüsünde serum matris metalloproteinaz-9 Düzeyleri. Uzmanlık Tezi. T.C. Sağlık Bakanlığı Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya. İstanbul 2008.
12. Yamak N, Yaykasli KO, Soğuktaş H, Yaykaslı E, Oktay M, Erdem H, Kaya E, Ekinci A, Kaya S, Kurman Y. Mide Kanseri Hastalarda Survivin Gen Polimorfizminin Araştırılması. *Dicle Tıp Dergisi* 2012; 39(4):499-503.
13. Park KS, Kim SJ, Kim KH, Kim JC. Clinical characteristics of TIMP2, MMP2, and MMP9 gene polymorphisms in colorectal cancer. *J Gastroenterol Hepato* 2011; 26(2):391-7.
14. Pulukuri SM, Patibandla S, Patel J, Estes N, Rao JS. Epigenetic inactivation of the tissue inhibitor of metalloproteinase-2 (TIMP-2) gene in human prostate tumors. *Oncogene* 2007; 9;26(36):5229-37.
15. Rigg AS, Lemoine NR. Adenoviral delivery of TIMP1 or TIMP2 can modify the invasive behavior of pancreatic cancer and can have a significant antitumor effect in vivo. *Cancer Gene Ther* 2001; 8(11):869-78.
16. Langers AM, Verspaget HW, Hommes DW, Sier CF. Single-nucleotide polymorphisms of matrix metalloproteinases and their inhibitors in gastrointestinal cancer. *World J Gastrointest Oncol* 2011; 3(6):79-98.
17. Singh RD, Haridas N, Patel JB, Shah FD, Shukla SN, Shah PM, Patel PS. Matrix metalloproteinases and their inhibitors: correlation with invasion and metastasis in oral cancer. *Indian J Clin Biochem.* 2010; 25(3):250-9.
18. Yan L, Lin B, Gao L, Gao S, Liu C, Wang C, Wang Y, Zhang S, Iwamori M. Lewis (y) Antigen Overexpression Increases the Expression of MMP-2 and MMP-9 and Invasion of Human Ovarian Cancer Cells. *Int J Mol Sci* 2010; 8;11(11):4441-52.
19. Srivastava P, Lone TA, Kapoor R, Mittal RD. Association of promoter polymorphisms in MMP2 and TIMP2 with prostate cancer susceptibility in North India. *Arch Med Res* 2012; 43(2):117-24.
20. Park KS, Kim SJ, Kim KH, Kim JC. Clinical characteristics of TIMP2, MMP2, and MMP9 gene polymorphisms in colorectal cancer. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26(2):391-7.
21. Wu CY, Wu MS, Chen YJ, Chen CJ, Chen HP, Shun CT, Chen GH, Huang SP, Lin JT. Clinicopathological significance of MMP-2 and TIMP-2 genotypes in gastric cancer. *Eur J Cancer* 2007; 43(4):799-808.