

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMASÖTİK TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI

**DNA ONARIM ENZİMİ OGG1 SER326CYS POLİMORFİZMİ İLE AKCİĞER
KANSERİ İLİŞKİSİNİN TÜRK POPÜLASYONUNDA ARAŞTIRILMASI ve
OKSİDATİF HASARIN BİYOGÖSTERGESİ 8-OHdG ÖLÇÜMÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ecz. Esra EMERCE TUFAN

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Benu KARAHALİL

ANKARA
Temmuz 2007

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMASÖTİK TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI

**DNA ONARIM ENZİMİ OGG1 SER326CYS POLİMORFİZMİ İLE AKCİĞER
KANSERİ İLİŞKİSİNİN TÜRK POPÜLASYONUNDA ARAŞTIRILMASI ve
OKSİDATİF HASARIN BİYOGÖSTERGESİ 8-OHdG ÖLÇÜMÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ecz. Esra EMERCE TUFAN

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Benu KARAHALİL

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 02-2006/12 proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA
Temmuz 2007

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

DOKTORA /YÜKSEK LİSANS TEZ SAVUNMA SINAV TUTANAĞI

ÖĞRENCİNİN ADI ve SOYADI : Esra EMERCE TUFAN
ANABİLİMDALI : Farmasötik Toksikoloji A.D.
SINAV TARİHİ : 10.07.2007
TEZ KONUSU : DNA Onarım Enzimi CGG1 Ser326Cys Polimorfizmi
ile Akciğer Kanseri Hastasının Türk Popülasyonunda
Araştırılması ve Oksidatif Hasarın Biyogöstergesi
8-OHdG Ölçümü

KARAR

Yukarıda belirtilen tarihte yapılan Tez Savunma Sınavı sonucunda yukarıda konusu belirtilen tezin

Düzeltilmesine :
Kabulüne : x
Reddine :

OYBİRLİĞİ / OYÇOKLUĞU ile karar verilmiştir.

GEREKÇE

Prof. Dr. Ali Esat Karakay -
JÜRI BAŞKANI

Prof. Dr. Asuman Kaskas -
ÜYE

Prof. Dr. Demire Karahol -
ÜYE

ÜYE

Annem'e ve Babam'a ...

TEŞEKKÜR

Eğitimim süresince bilgi ve tecrübesinden yararlandığım, titiz, disiplinli ve yenilikçi çalışmalarından dolayı yanında çalışmaktan onur duyduğum, hiç bir zaman sabır, özveri, destek ve hoşgörüsünü benden esirgemeyen sevgi ve saygı duyduğum değerli hocam Prof. Dr. Bensu KARAHALİL'e,

Farklı bakış açısı, bilgi ve deneyimleriyle çalışmalarına ışık tutan, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, akademik hayata atılmamda en önemli etken olan değerli hocam Prof. Dr. Ali Esat KARAKAYA'ya,

Değerli bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, ilgi ve desteklerini hissettiğim hocalarım Prof. Dr. Sema BURGAZ'a, Prof. Dr. İsmet ÇOK'a ve Doç. Dr. Neslihan AYGÜN KOCABAŞ'a,

Tez çalışmam boyunca yapıcı eleştirileri ile bana yol gösteren, her zaman yakın destek ve moral veren, acı tatlı pek çok şeyi paylaştığım hem hocam hem arkadaşım sevgili Dr. Ecz. Gonca ÇAKMAK DEMİRCİGİL'e,

İhtiyaç duyduğum her an bana desteklerini, bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen, tezimde büyük emekleri geçmiş, değerli katkı ve yardımlarını gördüğüm sevgili arkadaşlarım Uzm. Ecz. Ela KADIOĞLU'na ve Uzm. Ecz. Ayşe Başak ENGİN'e,

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum ve uyum içinde çalıştığım değerli arkadaşlarım Uzm. Ecz. Emre DURMAZ'a, Uzm. Ecz. Erdem COŞKUN'a ve Uzm. Ecz. Onur Kenan ULUTAŞ'a,

Bana her konuda destek olup sevgileri ve varlıklarıyla güven veren, yetişmemde huzurlu ve sevgi dolu bir ortam sağlayan çok sevdiğim babam Ahmet EMERCE'ye, annem Yasemin EMERCE'ye ve kardeşim Tolga EMERCE'ye,

En içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

İçindekiler	I
Şekiller	IV
Tablolar	V
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Serbest Radikaller	5
2.1.1. Reaktif Oksijen Türleri ve Oksidatif Stres	5
2.1.2. Guanin Bazında Oksidatif Hasarın Mekanizması	7
2.1.3. Sigara ve 8-Hidroksiguanin İlişkisi	8
2.1.4. Okside Guanin Onarımı	9
2.2. Oksidatif Hasarın Biyogöstergesi : 8-OHdG	11
2.3. DNA Onarımı ve Önemi	13
2.4. Akciğer Kanseri	17
2.4.1. Akciğer Kanseri ve Epidemiyolojisi	17
2.4.2. Akciğer Kanseri Etiyolojisi	18
2.4.2.1. Sigara	19
2.4.2.2. Yaş	21
2.4.2.3. Cinsiyet	21
2.4.2.4. Etnik farklılıklar	22
2.4.2.5. Alkol	24
2.4.2.6. Diyet	25
2.4.2.7. Sosyo-ekonomik durum	25
2.4.2.8. Mesleki ve çevresel maruziyetler	26
2.4.2.9. Akciğer Hastalıkları	27
2.4.2.10. Genetik yatkınlık	27
2.5. OGG1 Geni	28
2.5.1. Bakteri ve Mayada OGG1 Proteininin Fonksiyonları	29
2.5.2. OGG1 Onarım Mekanizması	31
2.5.3. OGG1 Geninin Polimorfik Bölgeleri	33
2.5.4. OGG1 Ser326Cys Polimorfizmi Sekans Dizilimi	35
2.5.5. OGG1 Ser326Cys Polimorfizminin Etnik Gruplara Göre Dağılımı	35
2.5.6. OGG1 Ser326Cys Polimorfizmi ve Kanseri İlişkisi	37
2.5.7. OGG1 Ser326Cys Polimorfizmi ve Diğer Hastalıklarla İlişkisi	40
2.5.8. Akciğer Kanseri ve OGG1 Gen Polimorfizmi İlişkisi	40
3. GEREÇ VE YÖNTEM	44
3.1. DNA İzolasyonu	46
3.1.1. DNA İzolasyonunda Kullanılan Kimyasal Maddeler	46
3.1.2. DNA İzolasyonunda Kullanılan Alet ve Cihazlar	46
3.1.3. DNA İzolasyonunda Kullanılan Çözeltiler	47
3.1.4. DNA İzolasyon Yöntemi	47

3.2. DNA Örneklerinde PCR Uygulaması	48
3.2.1. DNA Amplifikasyonu İçin Kullanılan Kimyasal Maddeler	48
3.2.2. DNA Amplifikasyonu İçin Kullanılan Alet ve Cihazlar	49
3.2.3. DNA Amplifikasyonu İçin Kullanılan Çözeltiler	49
3.2.4. PCR Protokolü	49
3.2.5. PCR Amplifikasyon Ürünlerinin Kontrolü	50
3.2.5.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	50
3.2.5.2. Kullanılan Aletler ve Cihazlar	51
3.2.5.3. Kullanılan Çözeltiler	51
3.2.6. Jelin Hazırlanması	51
3.2.7. PCR Ürünlerinin Jele Uygulanması ve Elektroforez	51
3.3. OGG1 Ser326Cys Genotipinin Belirlenmesi (RFLP)	52
3.3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	52
3.3.2. Kullanılan Alet ve Cihazlar	52
3.3.3. PCR Ürününün Enzim İle Kesilmesi	52
3.3.4. Kesim Ürünlerinin Jele Uygulanması	53
3.3.4.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	53
3.3.4.2. Kullanılan Aletler ve Cihazlar	53
3.3.4.3. Kullanılan Çözeltiler	54
3.3.5. Jelin Hazırlanması	54
3.3.6. Kesim Örneklerinin Jele Uygulanması ve Elektroforez	54
3.4. İdrarda 8-OHdG Tayini	55
3.4.1. ELISA Kitinin İçeriği	55
3.4.2. Kullanılan Çözeltiler	55
3.4.3. 8-OHdG Standartlarının Hazırlanması	56
3.4.4. 8-OHdG Ölçümü Yapılacak Örneklerin Hazırlanması	56
3.4.5. Deney Protokolü	56
3.5. İdrarda Kreatinin Analizi	58
3.5.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	58
3.5.2. Kullanılan Aletler ve Cihazlar	59
3.5.3. Kullanılan Çözeltiler	59
3.5.4. Kreatinin Standartlarının Hazırlanması	59
3.5.5. Kreatinin Ölçümü Yapılacak Örneklerin Hazırlanması	59
3.5.6. Deney Protokolü	60
3.6. İstatistiksel Analiz	60
4. BULGULAR	61
4.1. OGG1 Ser326Cys Polimorfizmi	61
4.1.2. Demografik bulgular	61
4.1.3 OGG1 Ser326Cys Genotip Analizleri	63
4.1.4. Akciğer kanseri ve OGG1 polimorfizmine sigaranın etkisi	67
4.1.5. OGG1 Ser326Cys ve Akciğer Kanseri Riski İlişkisi (Ser/Ser genotipine karşı Ser/Cys+Cys/Cys)	68
4.1.6. Akciğer kanseri ve OGG1 polimorfizmine sigaranın etkisi (Ser/Ser genotipine karşı Ser/Cys+Cys/Cys)	70
4.1.7. Sigaranın SCLC ve OGG1 polimorfizmi ilişkisine etkisi	71
4.1.8. Sigaranın NSCLC ve OGG1 polimorfizmi ilişkisine etkisi	73

4.2. İdrardan 8-OHdG Atılımının Değerlendirmesi	75
4.2.1. Demografik Bulgular ve 8-OHdG Atılımına Etkisi	75
4.2.2. Akciğer Kanseri Alt Tiplerinde 8-OHdG Atılımı Karşılaştırması	77
4.2.3. OGG1 Ser326Cys Genotiplerinin 8-OHdG Düzeyleri Üzerine Etkisi	77
5. TARTIŞMA	79
6. SONUÇ	86
7. ÖZET	87
8. SUMMARY	88
9. KAYNAKLAR	89
10. EKLER	106
11. ÖZGEÇMİŞ	108

ŞEKİLLER

Şekil No:	Şekil Adı:	Sayfa No:
1	Oksidatif stres ile ilişkili klinik durumlar	6
2	Hidroksil radikalının guanin bazı ile reaksiyonu	7
3	Guanin ürünlerinin oluşumu	8
4	Guanin oksidasyonu, mutasyonlar ve onarım yolları	11
5	8 - hidroksi - 2' – deoksiguanozin formülü	12
6	DNA'da hasar oluşturan ajanlar, hasar tipleri ve onarım mekanizmaları	14
7	DNA hasarı / DNA onarımı arasındaki dengenin önemi	15
8	DNA hasarına verilen biyolojik cevaplar	17
9	Sigara karsinojenleri ve akciğer kanseri patojenezinin ilişkisi	20
10	Akciğer kanseri cinsiyete göre 2002 insidans oranları	22
11	Akciğer kanserinin Dünya'daki 2002 yılı insidans oranları	23
12	Akciğer kanserinin Dünya'daki 2002 yılı mortalite oranları	23
13	Akciğer kanserinin Dünya'daki 2002 yılı prevalans oranları	23
14	OGG1 geninin 3. kromozomdaki lokalizasyonu	29
15	E. Coli'de Fpg/MutY onarım sistemi	30
16	OGG1 onarım mekanizması	32
17	OGG1 Ser326Cys polimorfizmi sekans dizilimi	35
18	PCR yöntemi ile çoğaltılması istenen 207bp'lik gen sekansı	50
19	Restriksiyon enzimi uygulanan 207 bp'lik gen sekansı	53
20	8-OHdG logaritmik kalibrasyon eğrisi-1	57
21	8-OHdG logaritmik kalibrasyon eğrisi-2	57
22	8-OHdG logaritmik kalibrasyon eğrisi-3	58
23	Kreatinin ölçümü için kalibrasyon denklemi ve eğrisi	60
24	Kontrol ve hasta gruplarında sigara alışkanlıkları	62
25	Akciğer kanseri histolojik alt tip dağılımı	63
26	207 bp'lik PCR ürünleri	63
27	Restriksiyon enzimi ile oluşan kesim ürünleri	64
28	Kontrol ve hasta grubunda 8-OHdG atılım düzeyleri	76

TABLÖLAR

Tablo No:	Tablo Adı:	Sayfa No:
1	OGG1 geninde saptanan başlıca polimorfizmler	34
2	Çeşitli sağlıklı populasyonlardaki OGG1 Ser326Cys % genotip sıklıkları	36
3	Çeşitli populasyonlardaki farklı kanser türleri ile OGG1 Ser326Cys polimorfizmi ilişkisi	38
4	OGG1 Ser326Cys genotipleme yapılan grupların demografik özellikleri	61
5	OGG1 Ser326Cys polimorfizmi genotip frekansları dağılımı ve akciğer kanseri riski ilişkisi	64
6	Kontrol ve hasta grubunda OGG1 Ser326Cys allel frekansları	65
7	OGG1 Ser326Cys polimorfizmi ve akciğer kanser riski ilişkisi	66
8	Akciğer kanseri ve OGG1 polimorfizmine sigaranın etkisi	68
9	OGG1 Ser326Cys genotip dağılımı (Ser/Ser genotipine karşı Ser/Cys+Cys/Cys) ve akciğer kanser riski ilişkisi	69
10	Akciğer kanseri ve OGG1 polimorfizmine sigaranın etkisi (Ser/Ser genotipine karşı Ser/Cys+Cys/Cys)	71
11	Sigaranın SCLC ve OGG1 polimorfizmi ilişkisine etkisi	72
12	Sigaranın SCLC ve OGG1 polimorfizmi ilişkisine etkisi (Ser/Ser genotipine karşı Ser/Cys+Cys/Cys)	73
13	Sigaranın NSCLC ve OGG1 polimorfizmi ilişkisine etkisi	74
14	Sigaranın NSCLC ve OGG1 polimorfizmi ilişkisine etkisi (Ser/Ser genotipine karşı Ser/Cys+Cys/Cys)	75
15	8-OHdG ölçümleri yapılan bireylerin demografik özelliklerine göre 8-OHdG atılım miktarları	77
16	Akciğer kanseri alt tiplerinde 8-OHdG atılımı karşılaştırması	77
17	OGG1 Ser326Cys genotiplerinin 8-OHdG düzeyleri üzerine etkisi	78

1. GİRİŞ

Son zamanlarda birçok hastalığın etiyolojisinde; sadece çevresel veya genetik kaynakların rol oynaması yerine her ikisinin etkileşimi sonucu hastalık oluştuğu kavramı yaygınlaşmaktadır. İnsan Genom Projesi'nin tamamlanmasının ardından DNA sekansı düzeyinde genetik farklılıkların belirlenmesi, gen – çevre etkileşimi araştırmaları için yeni alanlar açmıştır. Bu sebeple yapılan gen – çevre etkileşimi çalışmaları; hastalık gelişimi riskinde çevresel ve genetik faktörlerin riski nasıl etkilediğini tanımlamayı hedeflemektedir. Sonuçta bu çalışmalar ile; hastalık oluşmadan önce bireysel koruyucu tavsiyelerin alınması ve hastalık oluşuktan sonra ise bireysel tedavi yaklaşımlarının uygulanması sağlanmaktadır¹.

Gen-çevre, gen-hastalık etkileşimlerinde en yaygın araştırma alanlarından biri de kanserdir. Kanser; tedavisi, teşhisi ve korunmasında bir çok ilerleme kaydedilmesine karşın insanlık için halen büyük bir sorun teşkil eden, uzun ve çok basamaklı bir sürecin sonucunda ortaya çıkan bir hastalıktır. Kanser oluşumunda genler ve çevre arasında kompleks bir etkileşim söz konusudur². 18. yy.'dan beri çevresel kimyasallara maruziyetin kanser etiyolojisinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Baca temizleyicilerinde kurum kaynaklı skrotum kanserlerinin görülmesi ile çevresel faktörlerin kanser oluşumunda baskın olduğunun fark edilmesiyle birlikte, bireyler aynı tip ve aynı dozda karsinojenlere maruz kalsalar da kanser gelişiminin hepsinde görülmeyişi; kanser oluşumunda; yalnızca ekzojen veya endojen karsinojenlerin değil bunların detoksifikasyonunda, DNA hasarı onarımında, hücre döngüsü ve hücre sinyalinde rol alan genlerle etkileşimleri sonucu olduğunu da göstermektedir. Karsinojen maddelere maruziyet sonucu oluşan kanserlerde ilgili genlerdeki mutasyon veya polimorfizmlerin kümülatif etkisi rol almaktadır³. Bu sebeple, genotip – fenotip çalışmaları spesifik genler veya yollardaki polimorfik varyantların fonksiyonel özelliklerini tanımlamak açısından önemlidir⁴.

Dünyada en yaygın ve en yüksek ölüm oranına sahip kanser tipi akciğer kanseridir⁵. T.C. Sağlık Bakanlığı 1999 istatistiklerine göre Türkiye'de erkeklerde en çok görülen kanser türleri arasında ilk sırayı, kadınlarda ise altıncı sırayı alan akciğer kanserinin⁶, patofizyolojisi oldukça kompleks ve tamamıyla anlaşılmamış durumdadır. Kapsamlı prospektif epidemiyolojik veriler açıkça akciğer kanserinin en önemli nedeni olarak sigara kullanımını göstermektedir. A.B.D.'de her yıl akciğer kanseri ölümlerinin kadınlarda %75-80'inin ve erkeklerde yaklaşık %90'ının sigaraya bağlı olduğu tahmin edilmektedir⁷. Ancak sigara içenlerin %20'sinden azının akciğer kanseri olması duyarlılığın;

karsinojenlerin metabolik aktivasyonu / detoksifikasyonu ve oluşan hasar / onarım arasındaki dengeye bağılı olduğunu göstermektedir⁸.

Çevresel faktörlerden sigara alışkanlığının akciğer kanseri oluşumunda önemli rol oynadığını gösteren çalışmalar vardır. Sigara dumanının DNA'da kimyasal değişikliğe neden olduğu bilinen birçok karsinojen içermesi ve mutasyon oluşumlarına neden olması yanında⁹ sigara dumanından oluşan reaktif oksijen türlerinin (ROT), insan hücre kültüründe DNA'da tek sarmal kırıkları ve baz değişimi oluşumunu indüklediği gösterilmiştir¹⁰. Oksidatif mekanizmaların karsinogenezin başlatıcı, geliştirici ve malign tümöre dönüşüm evrelerinde potansiyel role sahip olması¹¹ konu üzerinde birçok çalışmanın yapılmasına neden olmaktadır. DNA'da yer alan dört baz arasında en kolay okside olan baz guanindir¹². 8-hidroksiguanin (8-OHG) DNA'da ROT'leri tarafından üretilen en önemli lezyonlardan biridir¹³ ve üzerinde en çok çalışılan DNA hasar tipidir¹². Hücresel oksidatif stresin biyogöstergesi olarak kabul edilen 8-OHG¹⁰ DNA replikasyonu sırasında adenin ile yanlış eşleşme yaparak G:C→T:A transversiyonunu indükleyen mutajenik etkiye sahip bir lezyondur¹⁴. Genomun bütünlüğünü korumak amacıyla oluşturulmuş bir savunma sistemi olan DNA onarımındaki yetersizlikler nedeniyle¹⁵ bu lezyonların onarılamaması genomda hasarların birikmesine ve genomik instabiliteye (kararsızlığa) neden olmaktadır. Bireyler arasında DNA onarım kapasitesindeki değişikliklerin DNA onarım genlerindeki polimorfizmlerden kaynaklı olması sebebiyle, bireyler arasında DNA onarım genlerinde genetik polimorfizmlerin frekanslarını ve tiplerini saptamak oldukça önemlidir¹⁶. Eğer kişi akciğer kanseri gelişimi için genel popülasyondan daha yüksek risk taşıdığını bilirse, sigara gibi yüksek risk faktörüne başlamama ya da içiyorsa bırakma kararı alabilir.

8-OHG lezyonlarının temel onarım mekanizması baz çıkarma onarımı yapan 8-hidroksiguanin DNA glikozilaz (OGG1) enzimidir¹⁴. Bu enzim aktivitesinde azalma, DNA hasarının tam olarak giderilememesi ve kanser gelişimi riskinde artış ile sonuçlanabilir. Bu sebeple DNA onarım enzimlerindeki genetik polimorfizmleri saptamak önemlidir¹⁷. Yapılan çalışmalarda OGG1 geninde birçok tek nokta mutasyonu (SNP) belirlenmesine rağmen¹⁸ 7. ekzonda 1245. pozisyonda yer alan C/G polimorfizmi kodon 326'da serinden sisteine amino asit değişimine neden olmakta¹⁹ ve sıklıkla çalışmalar bu değişim üzerine odaklanmaktadır¹⁰. Yapılan aktivite çalışmalarında çelişkili sonuçların bulunması sebebiyle aminoasit değişiminin enzimin katalitik özelliğini etkileyip etkilemediği henüz çok açık değildir²⁰. Yoğun çalışmalara karşın gendeki SNP'ler ile kanser duyarlılığı arasındaki ilişki için de limitli bilgi mevcuttur¹⁸. Buna dayanarak, OGG1 geninde mutasyon olup olmadığını belirlemek amacıyla birçok araştırmacı, insan tümörlerini incelemiştir²¹. Bununla beraber OGG1

geninde yer alan defektlerin; birçok kanser türünde mutasyona uğrayarak G:C→T:A transversiyonlarına neden olduğu bilinen kanser biyogöstergesi p53 geninde olduğu gibi aynı transversiyonlara neden olması¹⁹; OGG1 geninin de p53 gibi tümör supresör etki gösterebileceğini düşündürmektedir¹⁷. Akciğer kanserinde hastaların %50'sinden fazlasında p53 geninde mutasyonların olduğunun görülmesi⁷ ve bir çok tümör supresör genin bulunduğu 3. kromozomda allel kayıplarına sıkça rastlanması²² yine 3. kromozomda yer alan OGG1'in akciğer kanseri gelişiminde önemli bir yer tutabileceğinin işaretlerini vermektedir.

Çeşitli kanser tiplerinde ve akciğer kanserinde yapılan OGG1 Ser326Cys çalışmalarında bir çok sonuç elde edilmesine rağmen, kanser duyarlılığından sorumlu aday genetik göstergeler incelendiğinde populasyonlar arasında çoğunlukla frekanslarda farklılık olduğu iyi bilinmektedir. Bu sebeple, kanser risk değerlendirmelerinde, genetik göstergelerin önemini ortaya çıkarmakta birçok populasyonda temel prevalansları bilmek önemlidir. Ser326Cys polimorfizminin dağılımı birçok etnik grup arasında oldukça farklıdır. Bu farklılık, bireysel riskin tahmini için göstergelerin potansiyel olarak kullanılması yorumlarını ve stratejisini etkileyecektir. Araştırılan populasyonlar arasında oldukça değişken allel frekansların bulunması ışığı altında; artmış kanser riskinin göstergesi olarak Ser326Cys polimorfizminin uygulanabilirliğini saptamak amacıyla daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır²³. Tüm çalışmaların sonuçlarının bir araya getirilmesi ile farklı populasyon ve geniş örnek sayılarının meta-analiz yapılmasına imkan vermesi, gen – hastalık ilişkisinde aday biyogöstergelerin kanser duyarlılığı için güvenilir ve kullanılabilir biyogöstergelere ulaşmasını sağlayacaktır.

Akciğer kanserinde DNA onarım aktivitesinin rolünün anlaşılması moleküler epidemiyoloji çalışmalarında insan populasyonlarında kesin, tekrarlanabilir ve spesifik fenotipleme yöntemlerinin geliştirilmesi ve test edilmesi ihtiyacını doğurmuştur. Akciğer kanserinde oksidatif onarım fenotipinin sigara ile ilişkisinin olup olmadığını tanımlamak önemlidir. Çünkü sigara dumanındaki birçok kimyasal, antioksidan kapasiteyi azaltan ve oksidatif DNA baz modifikasyonları gibi değişimleri indükleyen karsinojenleri içermektedir²⁴. DNA'da veya hücresel havuzda hasarlı nükleotid ürünlerinin idrardan atılımını belirlemek, ilgili karsinojenlere maruziyetin önemli bir biyogöstergesi ve kanser riskini tahmin etmenin bir yolu olabilir. Nükleotid havuzunda veya DNA'da guaninin oksidasyonu idrarda 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) atılımına yol açmaktadır. Çok sayıdaki oksidatif DNA hasar ürünleri arasında ölçümünün göreceli olarak daha kolay olması ve DNA replikasyonu sırasında G:T transversiyonuna neden olması sonucu mutajenik özelliğinden dolayı en çok çalışılan bileşik 8-OHdG'dir²⁵.

Günümüze kadar farklı populasyonlarda yapılan çalışmalarda OGG1 polimorfizminin akciğer kanseri ile ilişkisi tartışmalı sonuçlar ortaya çıkarmıştır. Bu çalışmamızda akciğer kanserinin diğer populasyonlardaki verileri göz önünde bulundurularak OGG1 Ser326Cys polimorfizmi ile ilişkisi saptanmaya çalışılmıştır. Özet olarak Türk populasyonunda ilk kez yapılan bu çalışma aşağıdaki hedeflere yönelik planlanmıştır:

- Akciğer kanserli hastalarda ve kontrol grubunda OGG1 Ser326Cys polimorfizminin genotip frekansları belirlenerek akciğer kanseri ve OGG1 polimorfizmi ilişkisinin istatistiksel olarak belirlenmesi
- Sigara kullanımının akciğer kanseri ve OGG1 polimorfizmi ilişkisine etkisinin saptanması
- Akciğer kanseri etiyolojisinde rol oynayan faktörlerin değerlendirilmesi
- Bireylerdeki oksidatif hasarı belirlemek amacıyla oksidatif hasarın biyogöstergesi olan 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) miktarının idrardan ölçümü

2. GENEL BİLGİLER

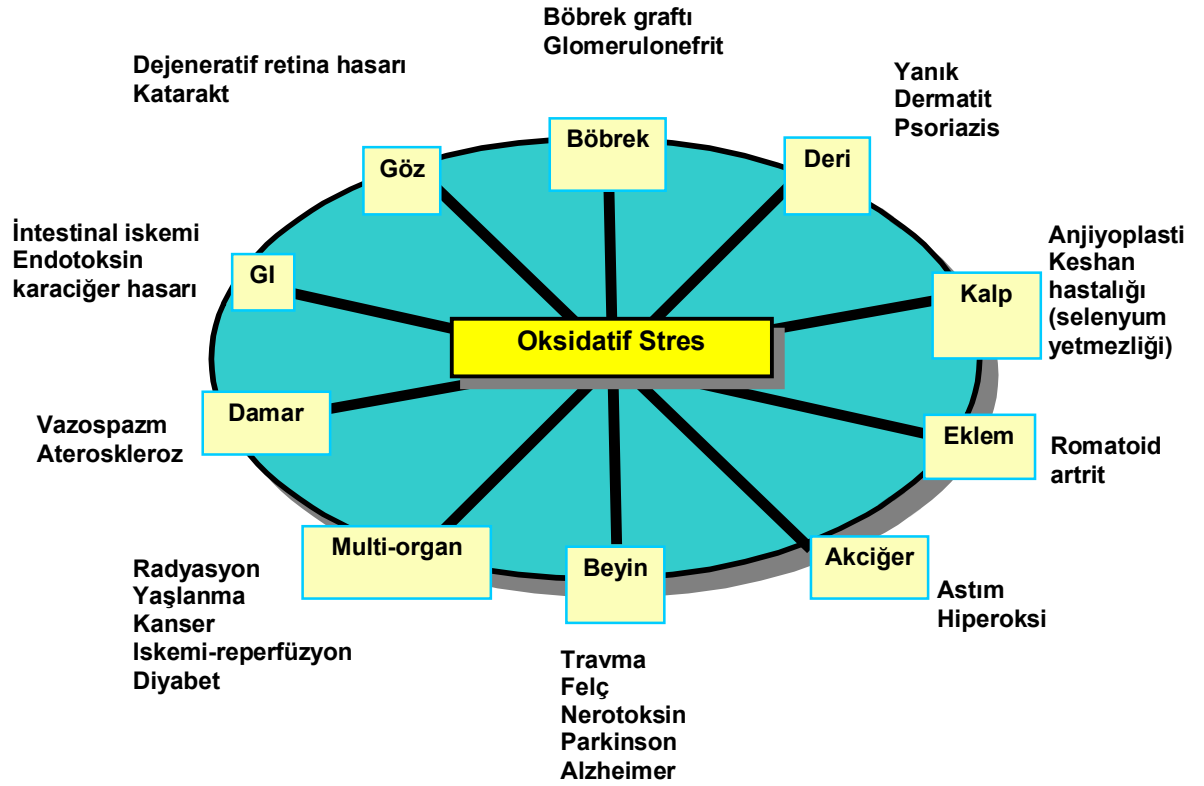
2.1. Serbest Radikaller

Serbest radikaller dış orbitallerinde ortaklanmamış elektron içeren kısa ömürlü, kararsız ve oldukça etkin moleküller olarak tanımlanmaktadır^{26,27}. Radikaller genom instabilitesi, yaşlanma, dejeneratif hastalıklar ve kanser gibi pek çok oluşumda rol almaktadır²⁴.

2.1.1. Reaktif Oksijen Türleri ve Oksidatif Stres

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Yaşayan hücrelerde hem endojen hem de ekzojen süreçlerde devamlı reaktif oksijen türleri (ROT) oluşur¹³.

Hücreler başta mitokondri elektron taşıyıcı sistem olmak üzere ksenobiyotik metabolizması, fagositik aktivasyon, inflamasyon, radyasyon, geçiş metallerinin katalizlediği reaksiyonlar, çeşitli sentez ve degradasyon (yıkım) reaksiyonları ve diğer faktörlerden ROT'lerine maruz kalmaktadır²⁸. Bunlara ek olarak romatoid artrit gibi bazı hastalıklarda inflamatuvar cevapta makrofajlar tarafından reaktif oksijenlerin programlı salınımı da olası oksidatif DNA hasar nedenlerindendir²⁹. Oksidatif DNA hasarının yaşlanmada, Alzheimer hastalığında, diabette, aterosklerozda, romatoid artrit ve sistemik lupus eritematozus gibi otoimmün inflamatuvar hastalıklarda ve kanserde arttığını gösteren birçok araştırma bulunmaktadır³⁰.

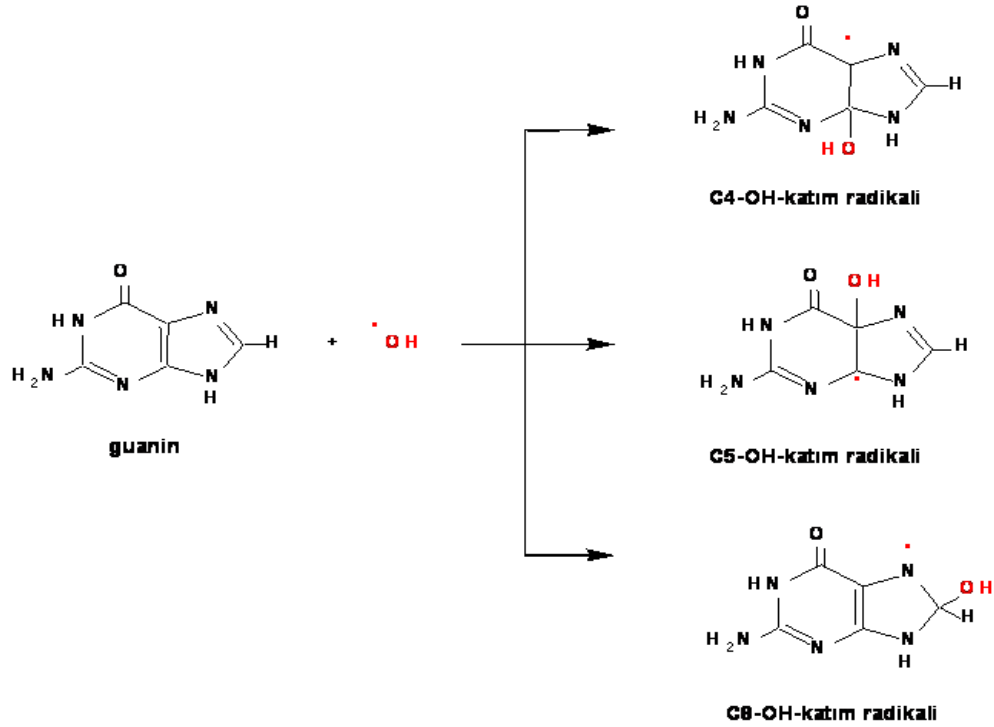


Şekil 1: Oksidatif stres ile ilişkili klinik durumlar³¹

Prooksidan/antioksidan dengenin prooksidanlar lehine kayması sonucunda gelişen oksidatif stres, çeşitli mekanizmalar ile biyomoleküllere hasar vermektedir. Stabil bir molekül olan DNA da; lipidler, karbohidratlar ve proteinler gibi spontan kimyasal oksidatif hasara uğramaktadır. DNA'nın günde 10^3 kez oksidatif hasara maruz kaldığı öne sürülmüştür³⁰. Oksidatif mekanizmalar; karsinogenezin başlatıcı, geliştirici ve malign tümöre dönüşüm evrelerinde potansiyel role sahiptirler¹¹. Süperoksit anyon radikali (O_2^-), hidroksil radikali ($OH\bullet$), nitrikoksit radikali ($NO\bullet$), veya hidroperoksil ($HOO\bullet$) gibi ROT'lar hücrede metal katalizli dönüşümden sonra veya doğrudan DNA'da hasar oluşturur³². Bu tip DNA hasarı oksidatif DNA hasarı olarak tanımlanır ve mutajenez, karsinogenez ve yaşlanma gibi biyolojik süreçlerde etki gösterir. Yapılan çeşitli araştırmalar, O_2^- ve hidrojen peroksitin (H_2O_2) doğrudan DNA ile etkileşerek baz oksidasyonuna veya DNA sarmal kırıklarına yol açmadığı ancak geçiş metal iyonları varlığında Fenton reaksiyonu ile oluşan ve daha aktif bir tür olan hidroksil radikalinin DNA hasarı oluşturduğunu göstermişlerdir³³. OH radikali çok reaktif olmasından dolayı hemen hemen her moleküle saldırarak hasar oluşturur²⁶. DNA'da baz ve şeker hasarı, DNA-protein çapraz bağlanması gibi bir çok değişime neden olmaktadır³⁴.

2.1.2. Guanin Bazında Oksidatif Hasarın Mekanizması

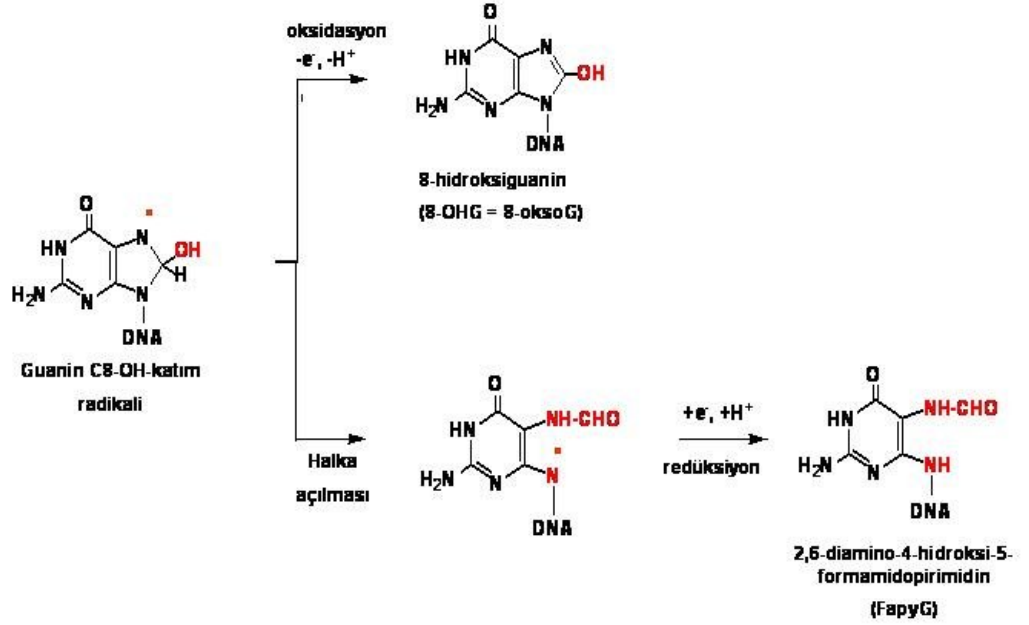
Son yıllarda yapılan araştırmalarda oksidatif DNA hasar göstergesi olarak sıklıkla baz hasarlarının analizi yapılmıştır³⁰. DNA'nın dört farklı bazında serbest radikallerin reaksiyonu sonucunda 20 veya daha fazla ana ürün oluşmaktadır³⁴. OH• radikallerinin reaksiyonları sonucu pürin ve pirimidin bazlarında değişimler meydana gelmektedir. Cu⁺² iyonları DNA'da G-C'den zengin bölgelerde yüksek oranda bulunduğu için oksidatif hasara en fazla maruz kalan baz guanindir³⁰. Guanin bazının 4, 5 veya 8. pozisyonlarında yer alan C atomlarına OH• radikali katılarak çeşitli ürünler oluşmaktadır¹¹.



Şekil 2 : Hidroksil radikalının guanin bazı ile reaksiyonu³⁵

DNA'da yaklaşık olarak 15 adet guanin ürünü tanımlanmıştır. Bunların içinde en fazla oluşan 7,8-dihidro-8-hidroksiguanin (8-OHG) ve FapyG'dir³⁶. 8-OHG DNA'da ROT'lar tarafından üretilen en önemli lezyonlardan biridir¹³ ve üzerinde en çok çalışılan DNA hasar tipidir¹². Hücrel oksidatif stresin biyogöstergesi olarak kabul edilen 8-OHG¹⁰, DNA zincirinin uzamasını engellememekte ancak DNA replikasyonu sırasında adenin ile yanlış eşleşme yaparak GC→TA transversiyonunu indüklemektedir¹⁴. Her memeli hücresinde günde yaklaşık 180 guanin okside olarak 8-OHG'e dönüşmektedir³⁷. Oksidatif hasarın indüklediği

mutasyonlar, onkogenlerin aktivasyonuna veya tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonuna neden olarak hücre büyüme kontrolünü değiştirebilirler³⁸.



Şekil 3 : Guanin ürünlerinin oluşumu³⁵

Oksidasyonla hasarlanmış bir guanin olan 8-OHG'in hücrel oksidatif metabolizma, iyonize radyasyon veya kimyasal karsinojenlere maruziyet sonucunda DNA'da çok miktarda üretildiği³⁹ ve DNA'da artmış 8-OHG miktarının kanser riskini artırdığı belirlenmiştir. 8-OHG oluşumunun, insan akciğer kanseri karsinogenezi ile bağlantılı olduğunu gösteren bir çok örnek vardır²³.

2.1.3. Sigara ve 8-Hidroksiguanin İlişkisi

Sigarada mutajen ve karsinojen aktivite gösteren çok sayıda bileşiğin tanımlanmasına ek olarak, hem katran hem de sigara dumanının gaz fazı iyi bilinen ROT kaynakları olduğundan sigara dumanının kanser oluşmasında önemli bir rolü olduğu bilinmektedir¹⁰. Bir raporda sigaradan alınan her solukta 5×10^4 radikal oluştuğu gösterilmiştir⁴⁰. İn vitro olarak sigaranın sulu duman solusyonunda O_2^- ve H_2O_2 teşhis edilmiştir. Sigara dumanından oluşan ROT'ların, insan hücre kültüründe DNA'da tek sarmal kırıkları ve baz değişimi oluşumunu indüklediği gösterilmiştir¹⁰.

Sigarada bulunan oldukça karsinojenik bir bileşik olan benzo[a]pirenin, hayvan dokularında 8-OHG oluşumuna neden olduğu gösterilmiştir. Buna bağlı olarak sigara içenlerin akciğer DNA'sında artmış 8-OHG seviyesi gözlenmesi ve sigara sayısı ile 8-OHG seviyesi arasındaki korelasyonun incelenmesi sonucu sigara dumanı karsinogenezi ve 8-OHG oluşumu arasındaki bağlantı gösterilmiştir. Buna ek olarak, hem periferal lökosit DNA'larında hem de oral mukoza çekirdeklerinde yapılan incelemelerde sigara içenlerin 8-OHG seviyelerinin içmeyenlerle karşılaştırıldığında daha yüksek olduğu belirlenmiştir¹⁰. Ayrıca sigarayı bırakanlarda da hiç sigara içmeyenlere göre 8-OHG seviyelerinde artış görülmüştür⁴¹. Bunun yanında sigara kullanmayanların idrarlarıyla karşılaştırıldığında sigara içenlerin idrarında %35-50 daha fazla 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHG bileşiğinin 2'-deoksinükleozid türevi; 8-OHdG) olduğu ortaya çıkmıştır^{10,42}. Akciğer dokularında oksidatif stres ve sigaranın etkisini değerlendirmek amacıyla yapılan bir çalışmada 8-OHdG seviyeleri ölçülmüş ve sigara içenlerin 8-OHdG seviyesi sigara içmeyenlere göre 1,43 kat fazla bulunmuştur. Günlük içilen sigara miktarı ile 8-OHdG seviyesi arasında da pozitif korelasyon bulunmuştur⁴³. Akciğer kanserli hastalarda, tümörlü olmayan akciğer dokusu DNA'sında 8-OHG miktarının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunun bulunması da karsinogeneze neden olduğuna bir işarettir²³.

Sigara içenlerin 8-OHG ve 8-OHdG seviyelerinin daha yüksek olması sebebiyle²³ sigara kullanımının akciğer DNA'sında oksidatif hasarı indüklediği söylenebilmektedir⁴³. Bütün bu veriler, 8-OHG oluşumunun kanserde önemli bir yer tuttuğunu göstermektedir.

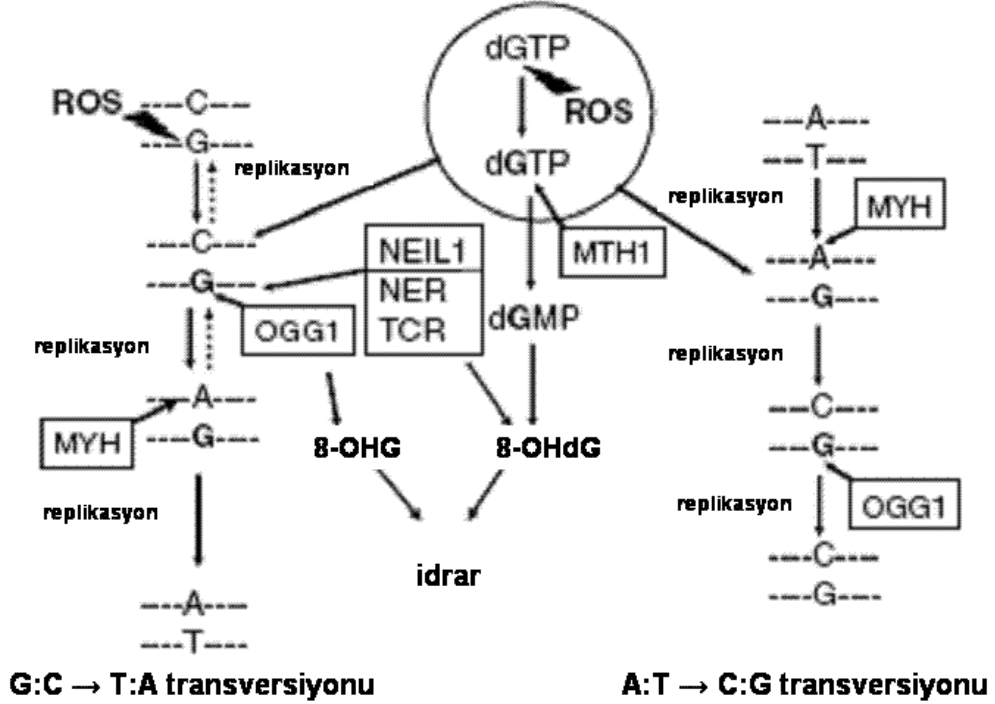
2.1.4. Okside Guanin Onarımı

Nükleotid havuzunda yer alan serbest guanin nükleotidinin, OH• ile reaksiyona girmesinin DNA'daki guaninden daha kolay olması, 8-OHdG oluşumu için alternatif bir kaynak oluşturmaktadır. Serbest nükleotidin oksidasyonu veya DNA'da guanin bazının C8 konumundan OH radikali ile hasarlanmasıyla oluşan okside guanin eğer onarılamazsa DNA'da G:C → T:A transversiyonuna neden olurken nükleotid havuzundan gelen hasarlı bazın replikasyona girmesiyle A:T → C:G transversiyonu meydana gelmektedir⁴⁴. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutatyon peroksidazlar gibi enzimler antioksidan mekanizması olarak savunmada yer alırken meydana gelen hasarlar içinse DNA onarımı görev almaktadır²⁹.

DNA'da oksidatif lezyonların belirli tiplerinde nükleotid çıkarma onarımı ve yanlış eşleşme onarım yolları görülse de okside bazın onarımında baskın olarak DNA glikozilazların başlattığı baz çıkarma onarım yolağı (Base excision repair; BER) görev almaktadır⁴⁵. OGG1 ve MYH genleri, DNA'da 8-OHG lezyonu için baz çıkarma onarım proteinini kodlamaktadır. 8-OHG'in temel onarım enzimi olan OGG1; sitozin ile eşleşmiş 8-OHG'i kesme yeteneğine sahipken, MYH proteini A:8-OHG yanlış eşleşmesinde adenini kesmektedir¹⁶. Glikozidik bağın kesilmesi nedeniyle glikozilaz etkinin ürünü olarak 8-OHdG ortaya çıkmamakta, oluşumundan diğer DNA onarım yollarının sorumlu olduğu düşünülmektedir⁴⁶. 8-OH-dGTPaz (MutT homolog = hMTH) enzimi nükleotid havuzundaki oksitlenmiş guaninini (8-OH-dGTP) tanıyarak defosforilasyonla 8-OH-dGMP'ye dönüşümünü sağlar. Böylece hasarlı nükleotidin DNA'ya yanlış bağlanmasını önler. Bu olay idrarda 8-OHdG kaynaklarından biridir^{44,46,47}. Nükleotid çıkarma onarım mekanizmasının alt tipi olan transkripsiyona kenetlenmiş onarım mekanizması (TCR = transcription coupled repair) memeli hücrelerinde transkripsiyonel olarak aktif genlerin onarımından sorumludur ve OGG1'dan bağımsız olarak DNA'daki 8-OHG'i, alternatif yolak olarak onarabilir^{48,49}. 8-OHG'e özgü olup olmadığına ilişkin çelişkili çalışmaların olmasına karşın⁵⁰ memelilerde E.Coli'deki Nei enzimine homolog olan NEIL1 enziminin de 8-OHG lezyonlarında onarım özelliği olduğu gözlenmiştir^{48,51}. 8-OHG için ana onarım yolağı olarak BER kısa yolağı gösterilse de gereken durumlarda uzun yolak BER, daha sonra nükleotid çıkarma onarımından yararlanır¹¹. In vitro deneyler DNA'dan 8-OHG kesiminde insan alkilpürin DNA glikozilazın (Aag) da görev aldığını göstermektedir. Ancak memeli hücrelerinde; 8-OHG için temel DNA glikozilaz olmadığı bilinmektedir³². Ayrıca çok nadir görülse de, 8-OHG OGG1'dan başka RAD14 ve MSH2/MSH6 enzimlerini içeren kesme onarım yolları ile de onarılabilir⁵².

DNA'da oksidasyon

Nükleotid havuzunda oksidasyon

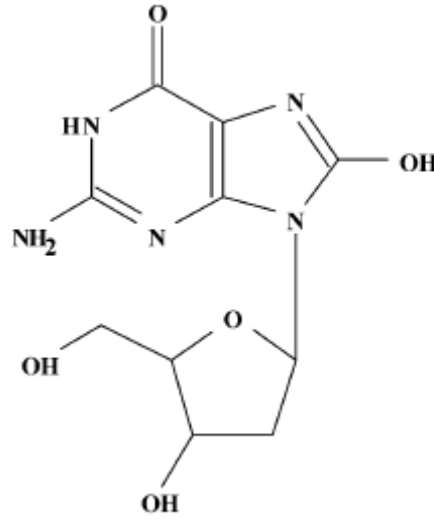


Şekil 4 : Guanin oksidasyonu, mutasyonlar ve onarım yolları ²⁸

2.2. Oksidatif Hasarın Biyogöstergesi : 8-OHdG

İdrar, serum gibi biyolojik sıvılarda oksidatif stresin biyogöstergesi olarak hem 8-OHdG hem de serbest baz 8-OHG'in ölçümü, klinik uygulamalar ve epidemiyolojik çalışmalar için uygun ve invazif olmayan bir örneklemedir⁴⁴. Oksidatif DNA lezyonlarının onarım ürünleri suda çözünebilir ve tekrar metabolizma reaksiyonlarına uğramaksızın idrara geçen ürünlerdir^{53,54}. Sıvı kromatografisi-kütle spektrometrisi (LC-MS/MS)⁵⁵, tandem kütle spektrometrisi⁵³, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi - elektrokimyasal tayin (HPLC-EC), kapiller elektroforez - elektrokimyasal tayin (CE-EC), gaz kromatografisi - kütle spektrometrisi (GC-MS), yüksek basınçlı sıvı kromatografisi - tandem kütle spektrometrisi (HPLC-MS/MS), modifiye comet⁵⁶ ve enzim bağlı immün assay (ELISA) yöntemleriyle idrarda en çok çalışılan oksidatif hasar ürünü 8-OHdG'dir²⁸. İdrarda 8-OHdG seviyesi, DNA hasarı oranına ve DNA onarım etkinliğine bağlıdır⁵⁷.

Oksidatif hasarlı lezyonlar DNA'dan uzaklaştırılarak kan dolaşımına ve oradan da idrara geçerler⁴⁶. DNA'da veya hücresel havuzda hasarlı nükleotid ürünlerinin idrardan atılımını belirlemek, ilgili karsinojenlere maruziyetin önemli bir biyogöstergesi ve kanser riskini tahmin etmenin bir yoludur. Nükleotid havuzunda veya DNA'da guaninin oksidasyonu idrarda 8-OHdG atılımına yol açmaktadır. Çok sayıdaki oksidatif DNA hasar ürünleri arasında ölçümünün göreceli olarak daha kolay olması ve DNA replikasyonu sırasında G:T transversiyonuna neden olması sonucu mutajenik özelliğinden dolayı en çok çalışılan bileşik 8-OHdG'dir²⁵.



Şekil 5 : 8 - hidroksi - 2' – deoksiguanozin⁵⁸

Sigara içenlerde 8-OHdG ve 8-OHG'in idrar yoluyla atılımı artmaktadır. Bunun yanında atılımı artıran bir çok faktör vardır. Dizel egzozu, poliaromatik hidrokarbon (PAH) ve benzen⁵⁹ gibi mesleki kaynaklı hava kirliliğine yüksek maruziyet 8-OHdG atılımında artışla ilişkilendirilirken mesleki olmayan çevresel hava kirliliğine maruziyet 8-OHdG atılımıyla ilişkilendirilmemiştir. Fazla yoğunlukta egzersizin (maraton koşmak)²⁸ ve denizden oldukça yüksek seviyelerde bulunmanın 8-OHdG atılımında artışa neden olduğu bilinmektedir. Radyasyon veya kemoterapi şeklinde uygulanan kanser tedavilerinin de 8-OHdG atılımını artırdığına ilişkin çalışmalar vardır²⁵.

Son zamanlarda idrarda ölçülen oksidatif DNA lezyonlarının diyetten mi, hücre yapım-yıkımından mı yoksa DNA onarımından mı geldiğine ilişkin sorulara yanıt aranmaktadır. Spesifik hücrelerdeki hasarı ölçmek yerine 8-OHG ve 8-OHdG'nin idrardan atılımını ölçmenin, tüm vücudun oksidatif stres yükünü değerlendirmeye yol açabileceğine dair

alışmalar olmasına karşın henüz ortak bir karara bağlanamamıştır. Ölen hücrelerin DNA'sında sonradan gelen oksidasyonun ve degradasyonun görülebileceğine dair çalışmaların yanı sıra⁴⁶ hücre ölümünden bağımsız olduğunu gösteren de bir çok çalışma mevcuttur⁶⁰. Kemoterapi ve radyoterapi alan kanserli hastalarda idrarlarında artmış ürik asit (hücre yapım-yıkımının biyokimyasal göstergesi) seviyelerine ve tümör kütlesindeki azalmaya rağmen idrarlarında 8-OHdG seviyesinin artmaması, hücre ölümünden bağımsız olduğunu göstermektedir⁵⁸. Diyet ve antioksidanların potansiyel etkilerinin araştırıldığı bir çok çalışmada ise 8-OHdG atılımı üzerine etkilerinin olmadığı veya sınırlı etki gösterdiği tartıřılmaktadır²⁵. Yapılan çalışmalarda normal diyetle beslenen sıçanlarda 8-OHG seviyesinin nükleik asit içermeyen diyetle beslenenlerden yaklaşık 10 kat daha yüksek olduğu gösterilirken insanlarda yapılan çalışmalarda idrarda 8-OHdG miktarının diyetle değişmediği ortaya ıkmıřtır⁵⁸. Baz lezyonlarının diyetten etkilenirken deoksinükleotidlerde bu etkinin olmaması nedeniyle 8-OHdG ölçümünün 8-OHG ölçümüne göre üstün olduğu gösterilmiřtir⁴⁶.

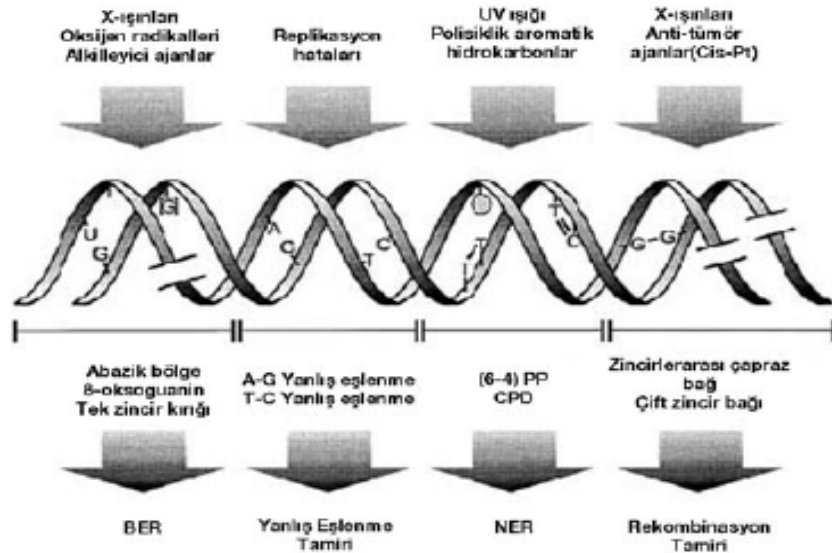
İdrarda 8-OHdG ölçümünde en güvenilir metodlardan biri olan HPLC-ECD'nin yüksek teknik güç gerektirmesi, analiz zamanının uzun ve pahalı bir yöntem olması nedeniyle prosedürün klinik laboratuvarlarda kullanımı oldukça zor ve komplekstir^{61,55}. Bu sebeple alternatif yöntemler ortaya çıkmıştır. ELISA yöntemi HPLC-ECD yöntemine göre daha az zaman alan, hassas bir yöntemdir⁴⁴. ELISA ölçümlerinin HPLC-ECD yönteminden elde edilen sonuçlara göre daha yüksek çıkmasına rağmen ELISA ve HPLC-ECD yöntemlerinden çıkan sonuçlar arasında iyi bir korelasyon vardır⁶¹. GC-MS yöntemi ise türevlendirme sırasında oluşabilecek ekstra oksidasyondan dolayı problemlere sahiptir⁶².

2.3. DNA Onarımı ve Önemi

Deoksiribonükleik asit (DNA) tüm canlı organizmaların biyolojik gelişimi ve fonksiyonlarını yerine getirmesinde kullanılacak gerekli genetik bilgiyi taşıyan bir nükleik asittir. İnsan Genom Projesi'nin 2003 yılında tamamlanmasının ardından yaklaşık 20,000-25,000 gen ve 3 milyar baz çiftinin sekansı tanımlanmıştır. Genoma bakıldığında DNA'nın sadece %1 – 2'si protein kodlayan genleri içermekte ve genomun yarısından fazlası ise gen içermeyen tekrarlı sekanslardan oluşmaktadır². Çeşitli tahminlerden tek nükleotid mutasyonu (SNP) sıklığının her 1000 nükleotidde bir civarında olduğu bilinmektedir. Burada önemli olan soru bu değişikliklerin yaşamımızda nasıl rol oynadığını bilmektir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda DNA onarım genleri ve kimyasalların

metabolizmasında görev alan genlerdeki SNP polimorfizmlerine odaklanılmıştır⁶³.

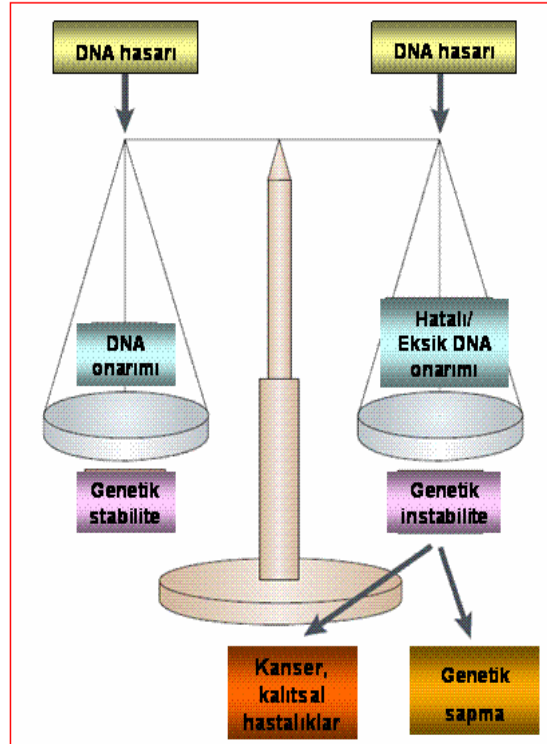
Canlı organizmalar, genetik materyalin bütünlüğünü korumak için çeşitli DNA onarım mekanizmalarına sahiptirler⁴⁹. DNA onarım enzimleri, karsinojenler ve sitotoksik bileşiklere maruziyetle oluşan hasarlı nükleotid kalıntılarını düzeltmek amacıyla kromozomları devamlı izler⁶⁴. Genomik DNA'nın bütünlüğü, farklı DNA hasarlarına neden olan ultraviyole, X-ışınları, kimyasal bileşikler gibi çevresel ajanlar ile sürekli tehdit altındadır. Hücresel metabolizmanın yan ürünü olarak üretilen serbest radikaller gibi endojen ajanlar da DNA hasarına neden olmaktadır. Hücre tüm bu DNA hasarlarına farklı metabolik yollar ile cevap verir⁴⁹. Eğer DNA onarımı olmasaydı, DNA hasarlayıcı ajanların oldukça çeşitli olması nedeniyle meydana gelen genomdaki instabilite, hücreler ve organizmalar için üstesinden gelinemeyecek bir durum oluşturabilirdi⁶⁴. Bu sebeple organizmanın, DNA hasarının karsinojenik etkilerine karşı verdiği hücresel cevap olan DNA onarımı, DNA lezyonlarının giderilmesi ve mutasyonların önlenmesinde rol olarak genetik bütünlüğün korunmasını sağlar⁹. DNA onarımı ile DNA replikasyonu, transkripsiyonu, hücre döngüsünün kontrolü, ve apoptozis gibi mekanizmaları bağlayan olaylar zinciri genom stabilitesini korumaktadır. Bunlardan birindeki bozukluk mutasyonlara ve sonucunda kansere neden olabilmektedir⁶⁵.



Şekil 6 : DNA'da hasar oluşturan ajanlar, hasar tipleri ve onarım mekanizmaları⁴⁹

DNA onarım genlerinin izolasyonu ve tanımlanması için yapılan çalışmalar DNA hasarı ve bunu kapsayan sendromlar ve kanser oluşumu için hücre mekanizmalarının etkilerini anlamaya yardımcı olmaktadır. Hücre içinde nükleik asitleri düzenleyen farklı enzimatik mekanizmalar arasında güçlü bağlantılar olduğu bilinmektedir. Genom instabilitesinin tümör oluşturabileceği fikri uzun zamandır bilinmektedir. Bu sebeple bazı genlerin tanımlanması hem hücresel ve gen metabolizması ile ilgili bilgilerin elde edilmesinde hem de kanserlerin önlenmesinde katkıda bulunacaktır⁶⁵.

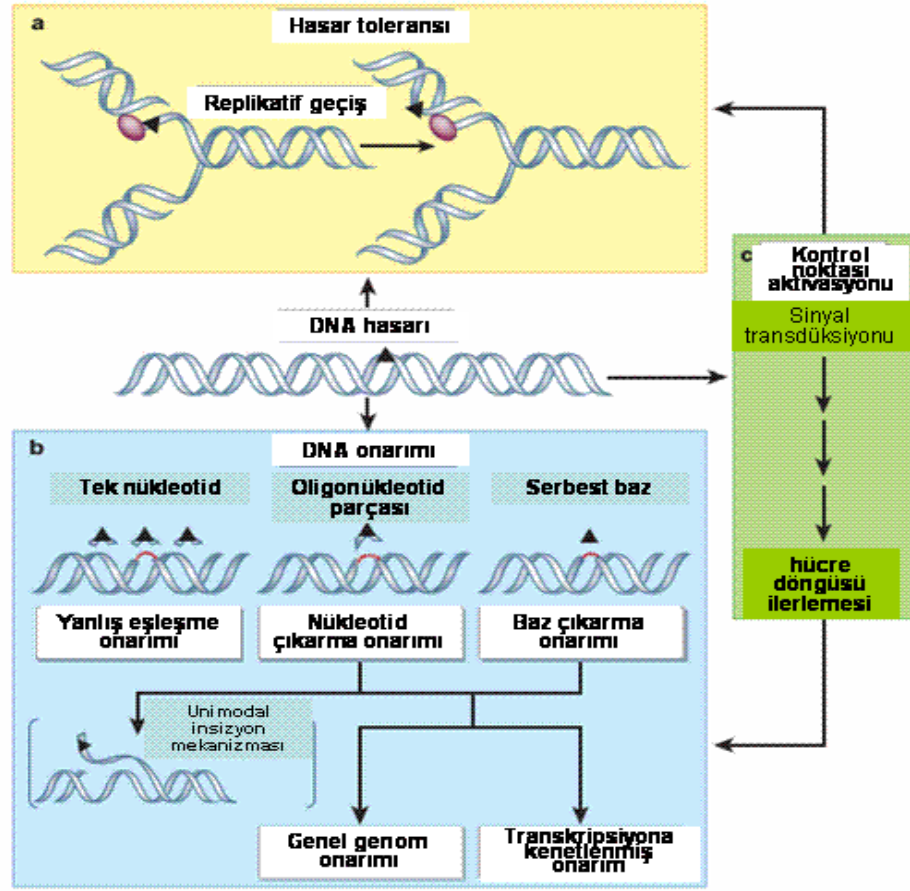
Aerobik organizmaların, mutasyonlardan korunabilmeleri ve yaşamlarını devam ettirebilmeleri için DNA onarım enzimlerinin doğru fonksiyon yapmaları gereklidir. Düşük düzeylerde oksidatif DNA hasarı minimal hata riski ile etkin bir şekilde onarılabilmektedir. Ancak DNA onarım enzimleri ve DNA polimerazın oksidatif stres altında hasarlanmaları doğru replikasyon ve transkripsiyon olasılığını azaltmaktadır. Onarım tamamlanıncaya kadar, hücreler bölünmelerini genellikle durdurarak kendilerini korumaktadırlar. DNA'daki oksidatif hasar yaşam ile bağdaşmayan yüksek düzeylere ulaştığında apoptozis gerçekleşmektedir³⁰.



Şekil 7 : DNA hasarı / DNA onarımı arasındaki dengenin önemi³¹

DNA onarım genlerindeki polimorfizmler protein fonksiyonlarında ve bireylerin hasarlı DNA'yı onarma kapasitelerinde değişmelere yol açabilmektedir. Onarım kapasitesindeki yetersizlikler genetik instabilite ve karsinogeneze neden olabilir. Karsinogenezin önlenmesi kadar hücrelerin genel ve özel fonksiyonlarında da genomik bütünlüğün sağlanması önemli olduğu için; DNA onarımı yapan genler, kanser duyarlılık genleri olmaya aday gösterilmektedir⁶⁶. DNA onarım genlerindeki bireysel defektlerle kansere yüksek duyarlılık, nükleotid çıkarma onarım (NER) yolağındaki defektlerle; xeroderma pigmentosum hastalarında deri kanserine yüksek yatkınlık ve yanlış eşleşme onarımı (MMR) genlerindeki defektlerle; kalıtsal non-polipozis kolorektal kanser arasındaki ilişki gibi birçok kalıtsal hastalık örneğiyle DNA onarım yolaklarının önemi gösterilmiştir⁹. Günümüzde yaklaşık 150 adet DNA onarım geni tanımlanmıştır⁶⁷.

Canlı organizmalar DNA'larını korumak için çeşitli DNA onarım mekanizmalarına sahiptir. Memeli hücrelerinde farklı DNA hasarları farklı DNA onarım yolları ile onarılmaktadır⁴⁹. DNA'da oluşan hasara verilen cevapta üç olasılık vardır. İlki; "hasar toleransı" olarak adlandırılan ve hasarlı bölgenin onarılmadan önce replikasyon mekanizması tarafından tanınarak lezyonun üzerinden atlanmasıyla replikasyona devam edilmesini sağlayan yoldur. Bu yolda lezyon DNA'dan çıkarılmadığı için hasar toleransı; onarım yolaklarının içine dahil edilmemektedir. İkinci yol; hasar tipine göre işlev gören onarım yolaklarının görev almasıdır. Üçüncü yol ise; hücrenin kompleks sinyal yolak ağına sahip olması nedeniyle hücre döngüsünün düzenlenmesi ve kontrol noktalarının (checkpoint) aktivasyonu sağlanarak hasarlı DNA'nın onarımı veya programlı hücre ölümüne gidilerek cevabın sağlanmasıdır⁶⁸. Başlıca DNA onarım yolakları baz çıkarma onarımı, nükleotid çıkarma onarımı, yanlış eşleşme onarımı, çift zincir kırıkları onarımı ve direkt onarımdır.



Şekil 8 : DNA hasarına verilen biyolojik cevaplar⁶⁸ (▲ : DNA hasarı)

2.4. Akciğer Kanseri

2.4.1. Akciğer Kanseri ve Epidemiyolojisi

Akciğer kanseri; akciğer dokularında meydana gelen kanser tipidir⁶⁹. Küçük hücreli akciğer kanseri (SCLC) ve küçük hücreli olmayan akciğer kanseri (NSCLC) olarak 2 ana histolojik gruba ayrılmaktadır²². Tümör hücrelerinin ışık mikroskobu ile yapılan incelemelerine dayanan bu sınıflandırma, özellikle uygun tedavi biçiminin seçimini yönlendirme açısından önemlidir. SCLC; hastaların ~%20'sini oluşturmaktadır²² ancak daha hızlı gelişmekte ve diğer organlara yayılmaları daha fazla olmaktadır⁶⁹. Gelişmeleri ve yayılmaları daha yavaştır. Akciğer kanseri tedavisinde genel olarak cerrahi müdahale, kemoterapi, radyoterapi ve fotodinamik terapi (PDT) uygulanmaktadır⁶⁹.

2002 istatistiklerine göre dünyada en yaygın kanser türü olan akciğer kanseri yeni kanser vakalarının %12,4'ünü (1,35 milyon) oluşturmaktadır. Kanserden ölümlere bakıldığında da %17,6 (1,18 milyon) ölüm oranıyla en çok görülen kanser tipi olduğu belirlenmiştir. Vakaların hemen hemen yarısı (%49,9) gelişmekte olan ülkelerde görülmektedir. Kadınlarda erkeklere göre insidans daha düşüktür (kadınlarda, 12,1/100000; erkeklerde 35,5/100000).

Akciğer kanseri oldukça ölümcül bir hastalıktır. Amerika Birleşik Devletleri'nde (A.B.D.) Ulusal Kanser Enstitüsü'ne (NCI) bağlı Kanser Gözetim Çalışmaları Grubu'nun düzenlediği program ([Surveillance Epidemiology and End Results](#); SEER) ile ölçülen 5 yıl hayatta kalma oranının %15 olduğu, Avrupa'da ortalama %10, gelişmekte olan ülkelerde ise %8,9'dan daha fazla olmadığı saptanmıştır. 2000 yılında akciğer kanserinin erkeklerde %85'i, kadınlarda %47'si sigara kullanımının sonucunda oluşmuştur. Tüm dünyada akciğer kanseri vakalarının sayısında 1985 yılından bu yana %51 artış (erkeklerde +%44, kadınlarda +%76) olduğu bulunmuştur⁵. A.B.D.'de her yıl en iyi tedavi yaklaşımları uygulanmasına rağmen tahmini 178,100 yeni akciğer kanseri teşhisi koyulmuş hastadan 160,400'ü ölmektedir²². Diğer kanser ölümleri azalırken, akciğer kanserine bağlı ölümlerde 3 kat artış meydana gelmektedir⁷⁰.

T.C. Sağlık Bakanlığı 1999 istatistiklerine göre Türkiye'de 16,023'ü erkek, 9,919'u kadın olmak üzere 25,942 kanser vakası vardır. Erkeklerde en çok görülen kanser türleri arasında ilk sırayı vakaların %29,38'ini (4,707) oluşturan akciğer kanseri almaktadır. Akciğer kanserinin erkeklerdeki insidansı 14,19/100 000'dur. Kadınlarda ise, %4,07 (404) ile kanserler arasında altıncı sırada yer alan akciğer kanserinin insidansı 1,24/100000'dir⁶.

2.4.2. Akciğer Kanseri Etiyolojisi

Aktif sigara kullanımı, çevresel sigara dumanı, çeşitli mesleki maruziyetler ve çevredeki hava kirliliği gibi bir çok faktör akciğer kanseri oluşmasında önemli rol oynamaktadır²⁵. Yaşam tarzı kanser riskini değiştirebilen bir faktördür³. Geleneksel olarak çalışmalar; sigara kullanımı ve meslek gibi çevresel maruziyetlere odaklanarak, akciğer kanseri etiyolojisini açıklamayı hedeflemektedir. Ancak akciğer kanseri gelişiminde bireysel duyarlılık kadar karsinogenlerin aktivasyonu veya inaktivasyonundaki genetik kapasite de etkilidir⁷¹. Akciğer kanseri

gelişiminin patofizyolojisi oldukça kompleks ve tamamıyla anlaşılmamış durumdadır. Ancak akciğer kanseri çevresel etkenlerin kanser gelişimi üzerindeki etkilerini vurgulama açısından özel bir önem taşımaktadır.

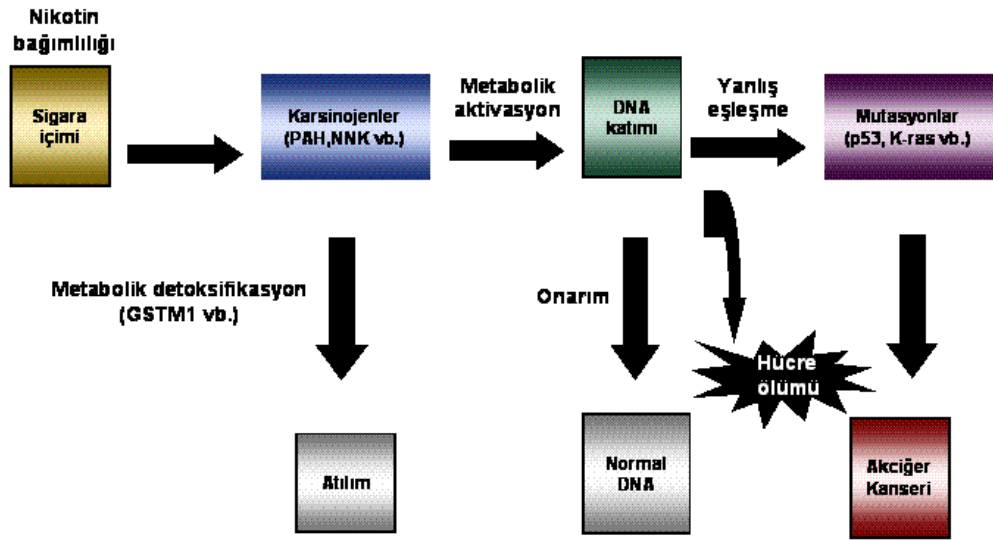
Kanser etiyolojisindeki risk faktörleri:

2.4.2.1. Sigara

Sigara kullanımı birçok epitel kaynaklı kanser için (akciğer, oral, farenks, larenks, özofagus, pankreas, serviks, böbrek ve mesane) baskın bir risk faktörüdür⁷². Tüm dünyada akciğer kanserinden her yıl bir milyondan fazla kişi ölmektedir. Kapsamlı prospektif epidemiyolojik veriler açıkça akciğer kanserinin en önemli nedeni olarak sigara kullanımını göstermektedir. A.B.D.'de her yıl akciğer kanseri ölümlerinin kadınlarda %75-80'inin ve erkeklerde yaklaşık %90'ının sigaraya bağlı olduğu tahmin edilmektedir. Sigarayı bıraktıktan sonra akciğer kanseri riski, ilk beş yıl olmasa da azalmakta ancak hiç sigara kullanmayanların seviyesine hiçbir zaman düşmemektedir⁷. Sigara içenlerin akciğer kanserine yakalanma riskinin (RR) hiç sigara içmeyenlerle karşılaştırıldığında 20 kat daha fazla olduğu görülmektedir⁷³. Sigaranın neden olduğu akciğer kanserinin mekanizmalarını anlamak; riski azaltmaya yardımcı yeni stratejiler bulmaya, oldukça duyarlı bireyleri tanımlamaya ve erken teşhis için teknikler geliştirmeye öncülük edecektir⁷.

Sigara dumanında 55 karsinojen madde Uluslar Arası Kanser Araştırma Birliği (International Agency For Research on Cancer; IARC) tarafından "laboratuvar hayvanlarında ya da insanda karsinogenezde yeterli kanıtı sahip" grupta (Grup I) değerlendirilmiştir. Bunlar ana grup adlarıyla; PAH, aza-arenler, N-nitrozaminler, aromatik aminler, heterosiklik aromatik aminler, aldehitler, çeşitli organik bileşikler ve inorganik bileşiklerdir. Sigara; PAH ve 4-(metilnitrozamino)-1-(3-piridil)-1-bütanon (NNK)'un yanı sıra diğer akciğer karsinojenleri, tümör başlatıcıları ve kokarsinojenleri içeren karsinojenlerin karışımından oluşmaktadır. Sigara dumanı zayıf asidik bileşenler nedeniyle kanser başlatıcısıdır. Sigara dumanında kateşol gibi kokarsinojenlerin büyük miktarları bulunmaktadır. Sigarada bulunan diğer kokarsinojenler; metilkateşol, pirogallol, dekan, piren, benzopiren ve florantendir. NNK bileşiği akciğerde toksisite gösteren, tümör oluşumuna neden olan bir bileşiktir. Duyarlı ve dirençli farelerde uygulama yolundan bağımsız olarak özellikle adenokarsinomalara neden olmaktadır⁷. Sigara dumanında oluşan reaktif oksijen türleri (ROT) oksidatif hasarı indükleyerek hasarlara neden olmaktadır. Oksidatif DNA hasarları arasında en bilineni 8-OHG'dir. DNA'da 8-OHG oluşumu mutajenezis ve karsinogenezisde etkilidir⁴¹.

Hasarlı DNA'ya sahip hücreler apoptozis ile bertaraf edilir. Eğer kalıcı mutasyon onkogenlerin veya tümör baskılayıcı genlerin kritik bölgelerinde meydana gelirse tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonuna veya onkogenlerin aktivasyonuna neden olabilir. Bunun gibi birçok olay hasarlı hücrelerde normal büyüme kontrolünün kaybedilmesiyle akciğer kanserinin oluşmasına neden olur.⁷



Şekil 9 : Sigara karsinojenleri ve akciğer kanseri patojenezinin ilişkisi⁷⁴

A.B.D.'de yeni teşhis akciğer kanserlilerin %50'sini, sigarayı 5 veya daha fazla yıl önce bırakan insanlar oluşturmaktadır. Bu veri solunum epitellerindeki hasarların kalıcı olduğunu göstermektedir²². Yıllar içerisinde filtreli sigara tüketiminin yaygınlaşmasıyla büyük partiküllerin santral hava yollarında depolanmasının azalması sonucu skuamöz ve küçük hücreli akciğer karsinomunun azaldığı, bunun aksine küçük partiküllerin akciğer periferine kadar ulaşarak küçük hava yollarında birikmesiyle adenokarsinomun artmasına yol açtığı iddia edilmektedir. Ayrıca nikotin ve katran düzeyi düşük sigaraların kullanılması, daha derin inhalasyona neden olmaktadır⁷⁰. Türkiye'de yapılan araştırmalarda ise skuamöz hücreli karsinomanın daha çok sigara içenlerde, adenokarsinomanın ise hiç sigara içmemiş kişilerde görüldüğü gözlenmiştir⁷³.

Sigara içmeye göre akciğer kanseri riski daha düşük olmasına rağmen çevresel sigara dumanına maruziyet de nedenler arasında kabul edilmektedir⁷. Çevresel sigara dumanı (ETS); sigara içen bireyin dışarıya verdiği soluktan veya sigaranın yanan ucundan çıkan duman karışımıdır. Ana bileşen “sidestream smoke” (SS) denilen sigara ucundan havaya yayılan duman, diğer bileşen ise sigara içenin soluduğu “mainstream smoke” (MS) fraksiyonudur^{75,76}. MS ve ETS; oluşmaları ve hava ile dilüe olma dereceleri nedeniyle fiziksel, kimyasal ve toksikolojik özellikleri bakımından oldukça farklıdır. Toksikolojik veriler doğrultusunda gerçek yaşam koşulları altında ETS maruziyeti sonrası potansiyel genotoksik bileşen internal dozunun çok düşük olduğu gösterilmiştir. Epidemiyolojik çalışmalar ise, ETS maruziyetinden kaynaklı akciğer kanseri riskinin yaklaşık %20 arttığını gözlemlemiştir. 1998’te yapılan 12 merkezli IARC çalışmasında ETS maruziyeti ile akciğer kanseri riskinin (olasılık oranı; OR) 0,72-2,29 arasında değiştiği rapor edilmiştir. Meta-analiz değerlendirmelerinde çocukluk döneminde ETS maruziyetinin akciğer kanseri riski artışı ile ilişkili olmadığı gözlenmiştir. Pasif içicilikten kaynaklı akciğer kanseri riski varsa bile günümüzdeki toksikolojik ve epidemiyolojik tekniklerin bunu ölçebilmesi oldukça düşüktür⁷⁶.

2.4.2.2. Yaş

Genel olarak akciğer kanseri teşhisi koyma yaşı 50 ve 80 arasında değişmektedir. Çin popülasyonunda, genç (<40) hastalar yaşlı hastalarla karşılaştırıldığında kadın cinsiyetinin ($p<0,001$) ve adenokarsinoma hücre tipinin ($p<0,001$) daha yaygın görülmesi söz konusudur⁷⁷. Yaş arttıkça her iki cinsiyette de akciğer kanseri riskinin arttığı ve 70-79 yaşlarında en üst düzeye ulaştığı görülmüştür. Erkeklerde yaş ilerledikçe skuamöz hücreli karsinomanın arttığı, adenokarsinoma ve küçük hücreli karsinomun 60-79 yaşlarında doruğa ulaştığı, kadınlarda ise her üç tip akciğer kanser tipinin daha çok 60-79 yaşlarında görüldüğü dikkat çekmiştir⁷⁰.

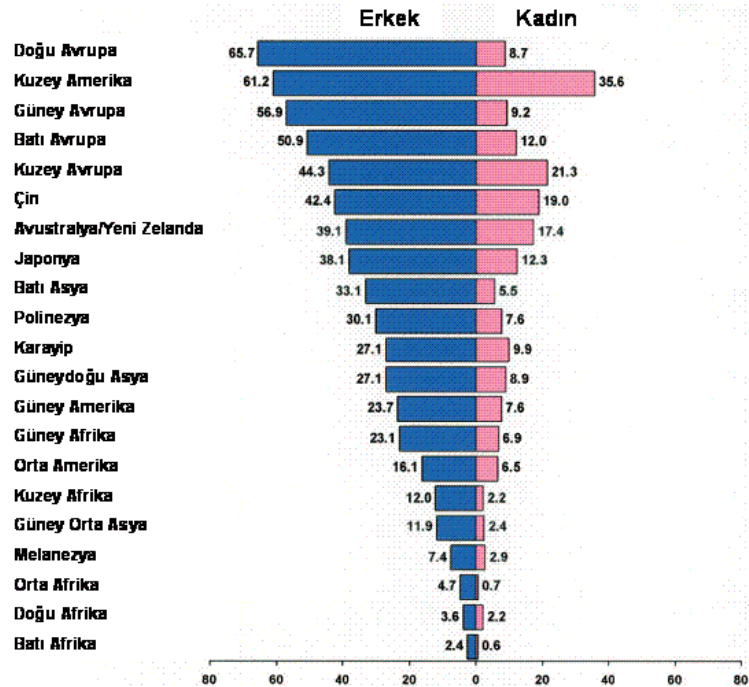
2.4.2.3. Cinsiyet

Yapılan çalışmalarda sigara içen kadınların erkeklere göre yaklaşık üç kat daha fazla akciğer kanserine yakalandığı gösterilmiştir. Adenokarsinoma tanısı konan kadın hastaların %33,3’ünün sigara içtiği görülmüştür. Sigara içmeyen kadın hastalarda ise pasif sigara içiminin rol oynayabileceği belirtilmektedir. Erkeklerle paylaşılan risk faktörlerine ek olarak, bazı risk faktörleri kadınlara özgü olabilir. Kadınlar arasında ekzojen ve endojen östrojenin akciğer kanserlerinde, özellikle

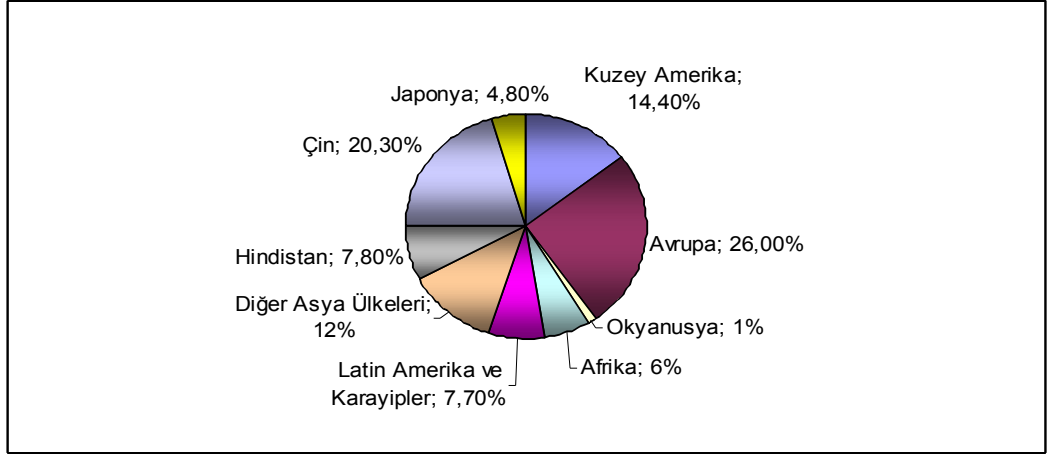
adenokarsinoma gelişiminde önemli rol oynadığı gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda erken yaşta menapoza giren kadınlarda adenokarsinoma riskinin azaldığı, östrojen tedavisi ile adenokarsinoma riskinin arttığı belirlenmiştir. Ayrıca östrojen tedavisi, sigara ve adenokarsinoma gelişimi arasında pozitif bir bağlantı bulunmuştur. Bu durum östrojenin, karsinogenezin geliştirici (promotion) fazıyla ilgili bir faktör olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca östrojen yerine koyma tedavisinin de adenokarsinoma gelişme riskini anlamlı derecede artırdığı gösterilmiştir⁷⁰.

2.4.2.4. Etnik farklılıklar

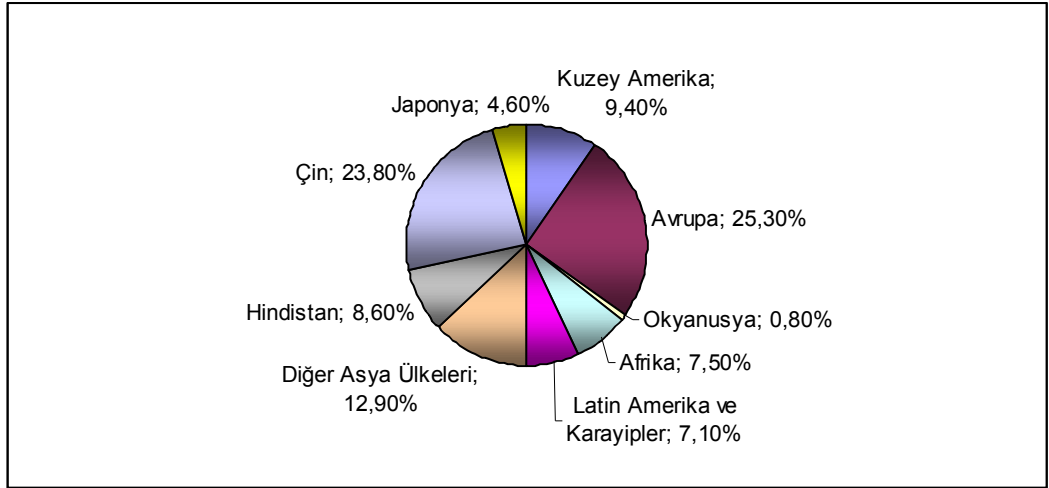
Afrikanlı Amerikalılar ile beyaz kadınlar arasında akciğer kanser insidansı benzerken, erkeklerde Afrikanlı Amerikalı grupta kanser oluşum insidansı yaklaşık %50 daha fazladır. Mortalite oranlarına bakıldığında ise, Hispanikler, Yerli Amerikalılar ve Asya/Pasifik Adalarda yaşayanların, Afrikanlı Amerikalılar ve Hispanik ırktan olmayanlardan önemli derecede düşük olduğu görülmektedir⁷⁸. Tüm dünyada erkekler arasında en yüksek insidans oranı Kuzey Amerika ve Avrupa'da (özellikle Doğu Avrupa) görülmektedir. Bunun dışında daha az olmasına rağmen Avustralya/Yeni Zelanda ve Doğu Asya (Çin ve Japonya)'da da yüksek oranlar saptanmaktadır⁵.



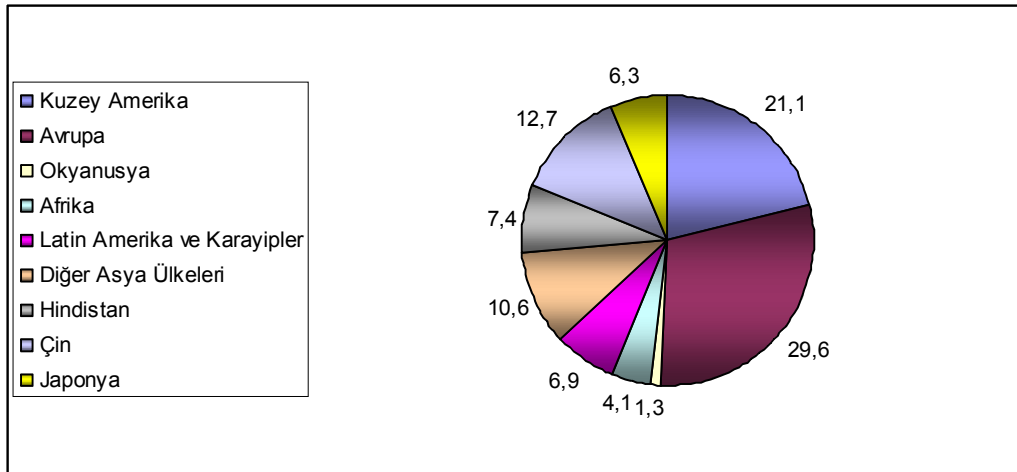
Şekil 10 : Akciğer kanseri cinsiyete göre 2002 insidans oranları –veriler her bir cinsiyet için 100,000 olarak verilmiştir. (yaş standardize edilmiştir)⁵



Şekil 11 : Akciğer kanserinin Dünya'daki 2002 yılı insidans oranları⁵
10,862,000 vaka



Şekil 12 : Akciğer kanserinin Dünya'daki 2002 yılı mortalite oranları⁵
6,724,000 ölüm



Şekil 13 : Akciğer kanserinin Dünya'daki 2002 yılı prevalans oranları⁵
24,570,000 kişi

2.4.2.5. Alkol

Alkol tüketimi sigaradan sonra en önemli kanser nedenlerinden biri olarak bilinmektedir. Alkole bağlı kanserlerde genetik duyarlılığın önemli bir rol oynadığı ve alkolün karsinojenik etkisinin olası mekanizmalarını ortaya çıkaran bilgilerde son dönemlerde artışların yaşandığı görülmektedir. Alkoliklerde; asetaldehitin meydana getirdiği DNA hasarı, östrojen konsantrasyonunda artış, alkolün diğer karsinojenler için çözücü olması, ROT ve nitrojen türlerinin üretimi, folat metabolizmasındaki değişiklikler, etanolün neden olduğu DNA hasarı, beslenmede yetersizlikler (özellikle A vit.) ve immün sistemde zayıflamanın kanser oluşmasında olası mekanizmalar olduğu tanımlanmış ve nedenin tam olarak aydınlatılması amacıyla çalışmalara devam edilmektedir. Araştırmalar alkol metabolizmasında, folat metabolizmasında ve DNA onarımında görev alan genlerdeki değişiklikler üzerinde odaklanmaktadır. DNA onarım genlerindeki sekans değişikliği ile alkol tüketimi arasındaki ilişkiyi gösteren çalışmalar vardır. Güçlü bir bağlantı rapor edilmemekle birlikte sekans değişiklikleri ile alkol kullanan ve kullanmayanlar arasında kanser riski açısından küçük ve genellikle anlamlı olmayan farklılıklar bulunmaktadır⁷⁹.

Alkole bağlı meydana gelen karsinojenik etkide oksidatif hasarın rolü ve 8-OHdG indüksiyonu konuları çok açık değildir. Alkol tüketimi, yeterli aldehit dehidrojenaz-2 enzimi olmayan bireylerde DNA lenfositlerinde 8-OHdG oluşumuyla bağlantılıdır. Ayrıca DNA hasarını ölçen bir yöntem olan comet yöntemi ile DNA hasarındaki artış da değerlendirilerek ilişki kurulmuştur. Bunun tersi olarak, insan lenfosit 8-OHdG indüksiyonu ve alkol tüketimi arasında ilişki olmadığını gösteren başka çalışmalar da mevcuttur¹⁰.

Alkol tüketimi ile ağız boşluğu, farenks, larenks, özofagus, karaciğer, kolon, rektum ve kadınlarda meme kanseri arasındaki nedensel ilişki kurulmakla beraber pankreas ve akciğer kanserleri için alkolün etkisi şüphelidir. Alkol tüketimi ile akciğer kanseri arasında ilişki olduğu varsayılmakla birlikte 8 vaka-kontrol ve 9 kohort çalışmasından elde edilen bilgiler bu durum için yeterli değildir. Ayrıca Korte ve arkadaşlarının yaptığı alkol tüketimi ile akciğer kanser riski meta analiz çalışmasında da ciddi bir kanıt elde edilmemektedir⁷⁹. OGG1 Ser326Ser genotipine sahip NSCLC hastaları arasında da yüksek alkol tüketimi (günde bir bardaktan fazla) yaygın olduğu ancak bu farklılığın anlamlı olmadığı bulunmuştur ($p=0,06$)⁸⁰.

2.4.2.6. Diyet

Birçok epidemiyolojik çalışmada, kanser ve diğer dejeneratif hastalıkların oluşması ile sebze-meyve tüketimi arasında ters ilişkinin olduğu belirlenmiştir. Antioksidan vitaminler (A,C,E) serbest radikalleri temizleyerek DNA gibi biyomolekülleri oksidatif hasardan korumaktadır⁸¹. Akciğer kanseri ile sebze meyve tüketimi arasındaki ilişkiyi ortaya koyacak bir çok çalışma olmasına karşın, bunların bir kısmında tüketimin kanser riskini düşürdüğü, bir kısmında zayıf bir ilişki olduğu, bir kısmında ise koruyucu etkinin olmadığı bulunmuştur. Bu sonuçlar bir araya getirildiğinde net olarak bir cevap çıkmasa da koruyucu bir etkinin olabileceği ile ilgili ipuçları vermektedir⁷⁸.

Akciğer kanserli hastalarda yapılan OGG1 Ser326Cys polimorfizm çalışmasında diyetle alınan antioksidanların en önemli kaynağı olan sebze tüketimi incelenmiş ve Ser/Ser veya Ser/Cys genotipine sahip bireyler arasında sebze tüketimine bağlı olarak riskin yarıya indiğini (OR=0.5, %95 CI=0.3-0.8) ancak homozigot hOGG1 varyant bireyler arasında akciğer kanserine karşı sebzenin neden olduğu bir koruma olmadığı bulunmuştur. Ancak p değeri (p=0.24) istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır¹⁴. Başka bir çalışmada ise; sebze tüketimine bağlı olarak polimorfizmin etkisine bakıldığında, Cys/Cys taşıyıcılarında sebze tüketimindeki her %50 artışta akciğer kanserinin %54 azaldığı ancak Ser/Ser veya Ser/Cys taşıyıcılarında düşüş gözlenmediği sonucuna varılmıştır⁸².

2.4.2.7. Sosyo-ekonomik durum

Akciğer kanserini de içeren kronik hastalıkların riskinin daha düşük sosyal sınıftaki bireylerde sigara ve pasif içicilikten bağımsız olarak 2-3 kat daha yüksek olduğu bilinmektedir⁷⁶. İsveç'te yapılan çalışmada sigara içen ve içmeyen bireyler arasında sosyoekonomik statünün akciğer kanserini anlamlı olarak arttırdığı bulunmuştur. Sigara içenler arasında düşük sosyoekonomik grupta skuamöz hücreli karsinoma görülme olasılığının her iki cinsiyette de yüksek olduğu bulunmuştur (erkeklerde RR=1,80 %95 CI=1,16-2,81; kadınlarda RR=7,10 %95 CI=1,63-30,86)⁸³.

2.4.2.8. Mesleki ve çevresel maruziyetler

Bir çok mesleki maruziyetin akciğer kanseri için risk faktörü olduğu tanımlanmış veya şüpheli bulunmuştur⁸⁴. A.B.D.'de mesleki karsinogenlere maruziyet sonucunda yılda yaklaşık 9000-10000 erkek ve 900-1900 kadında akciğer kanseri gelişmektedir⁸⁵.

Hava kirliliği ile akciğer kanseri arasındaki ilişkiyi kurmak zor olmakla birlikte, özellikle kentlerde yaşayan insanlarda hava kirliliğinin yoğun olduğu alanlarda akciğer kanseri insidanslarında %30-50 artış olduğu görülmüştür⁸⁴.

Yakıtlar ve dumanları (30 yıldan fazla maruziyetlerde), motor ve dizel egzozu, metal dumanı maruziyetlerinde akciğer kanseri riskinde artış bulunmuştur (sırasıyla OR=1,99; 2,52; 1,42; 1,39; 1,28). IARC; kaynakçılarda da akciğer kanseri riskinde artış olabileceğini rapor etmiştir⁸⁴. Bunun dışında; silika⁸⁶, krom, arsenik⁸⁷, vinil klorür⁸⁸, kadmiyum⁸⁹, krom, nikel, klorometil eter⁷⁸ ve partikül maddelere maruziyetin⁹⁰ de etkili olduğu belirlenmiştir. Gelişmiş ülkelerde bu tehlikelerin büyük kısmı kontrol altına alınmıştır.

Asbest maruziyeti de akciğer kanseri oluşma riskini artıran bir faktördür (OR=1,67 %95 CI=1,48-1,87)⁸⁴. Tekstil işçileri⁷⁸, uçak üretiminde çalışanlar, elektrikle uğraşanlar, gemi işçileri ve otomobil tamircileri, inşaat yapım işiyle uğraşanlar, rafineri ve demiryolu işçileri gibi meslek çalışanlarında asbeste maruziyet söz konusudur. A.B.D.'de yılda 2000-3200 asbeste bağlı kanser ölümü görülmektedir. Asbest maruziyeti kaynaklı akciğer kanseri sigara içmeyenlerde görüldüğü gibi sigara içenlerde riskin sinerjistik olarak arttığı bilinmektedir⁹¹.

Radon maruziyeti (yüksek enerji transferine sahip radyasyon) akciğer kanseri oluşumunda önemli bir yer tutmaktadır. EPA ve Ulusal Araştırma Konseyi A.B.D.'nde her yıl 15000 – 20000 radon nedenli akciğer kanseri ölümü olduğunu belirtmiştir. Özellikle madencilerde görülen bu mesleki maruziyete, ev içi havasından da maruz kalmak mümkündür. Ancak uranyum madenlerinde radon konsantrasyonu ev içi ortalama radon konsantrasyonundan 50 – 100 kat daha fazladır. Radon maruziyetinde küçük hücreli akciğer kanseri görülme oranı fazladır. Düşük enerji transferine sahip radyasyona (atom bombası) tek seferde, yüksek dozda maruz kalan bireylerde de akciğer kanseri riskinde önemli artış olduğu bilinmektedir⁷⁸.

Bunlara ek olarak, HPV (Human Papillomavirus) ile enfekte kişilerin pulmoner adenokarsinoma oluşumu için potansiyel risk faktörü olduğu düşünülmektedir. Son dönemlerde özellikle kadınlar arasında artan adenokarsinoma gelişimi bu virüse bağlanmaktadır⁹².

2.4.2.9. Akciğer Hastalıkları

Yapılan bir çok çalışmada kronik bronşit, amfizem, astım, pnömoni, tüberküloz, obstrüktif akciğer hastalığı ve pulmoner fonksiyon bozukluğu rahatsızlıklarının akciğer kanseri oluşma riskini değiştirdiği bulunmuştur. 1028 akciğer kanserli hastada kontrol grubuna göre kronik bronşit veya amfizem öyküsünün daha fazla olduğu gösterilmiştir (HR= 1,29 %95 CI=1,09-1,53)⁹³.

2.4.2.10. Genetik yatkınlık

Akciğer kanserli hastaların %80-%90'ının sigara kullanması akciğer kanserinin major nedeninin sigara olduğunu yansıtmaktadır. Ancak sigara içenlerin (yılda 20 paketten fazla) yaklaşık %10'unda akciğer kanserinin geliştiği görülmektedir. Bu durum akciğer kanseri oluşumunda; yalnızca sigaranın karsinojenik etkisinin değil, akciğer kanserine genetik predispozisyondaki farklılıkların sonucundan da kaynaklandığını göstermektedir. Genetik risk faktörlerinin tanımlanması akciğer kanserini önlemede yardımcı olabilir⁹.

Kritik düzenleyici yollardaki genetik değişimler karsinogeneze yatkınlığa neden olabilir. Ksenobiyotik metabolizması düzenlemeleri, genom stabilitesinin kontrolü, DNA onarım mekanizmaları, hücre döngüsü kontrol noktaları, apoptozis, mikroçevresel faktörlerin kontrolü, matriks metalloproteinazlar, hipermetilasyon başlatıcılar, inflamasyon ve büyüme faktörleri olaylarındaki değişimler karsinogeneze neden olabilir⁷². Akciğer kanserinin kliniğine bakıldığında birçok (~10-20) gende mutasyonlar ve ekspresyon anormalliklerini içeren genetik değişikliklerin olduğu görülmektedir. Kanser gelişiminden önce preneoplastik solunum epitellerindeki lezyonlarda bu genetik değişimlerin bazılarının saptanabilmesi ile yüksek riskli bireylerde erken müdahale ve kanser gelişiminin kimyasallarla önlenmesi (chemoprevention) ile hayatta kalma oranlarında artış görülebilir²².

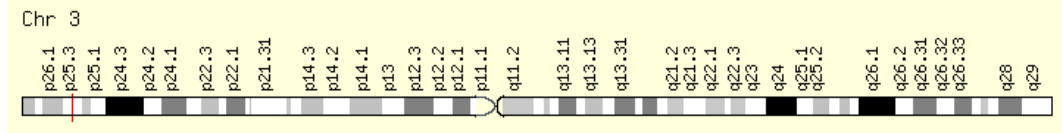
Metabolik aktivasyon ve detoksifikasyon arasındaki dengenin bireyler arasında farklılık göstermesi kanser riskini etkileyen bir faktördür. Metabolik aktivasyon ile DNA'ya genellikle de guanin veya adenine kovalent bağlanan karsinojen metabolitleri DNA katımının oluşmasına neden olmaktadır⁷. Karsinojenlere cevapta, karsinojen metabolizmasında görev alan genlerin polimorfizmlerini tanımlamaya yönelmek bireyler arasındaki değişkenliklerin anlaşılması için önemli bir kaynak oluşturmaktadır¹⁵. Akciğer kanseri etiyolojisinde önemli bir yer tutan sigara, organizmada enzimatik mekanizmalar aracılığıyla metabolize olmaktadır. Karsinojen metabolizasyonunda yer alan enzimleri kodlayan birçok gende polimorfizm mevcuttur ve bu durum enzimatik aktivitede bireysel farklılıklarla sonuçlanır. Sigara metabolizmasıyla ilgili genlerden CYP1A1, CYP1A2, CYP2A6, CYP2D6, CYP2E1, mEH (mikrozomal epoksit hidrolaz), GSTM1, GSTM3, GSTP1, GSTT1, NAT1, NAT2⁷¹, CYP1B1, GSTA1, NQO1 (NAD(P)H kinon oksidoredüktaz)⁹⁴, NQO2, CYP2C9, CYP2C19⁹⁵, CYP2A13, MPO (miyeloperoksidaz), manganez süperoksit dismutaz, SULT1A1 (sülfotransferaz)⁷², UGT1A7 (UDP-glukuronosil transferaz)⁹⁶ polimorfizmlerinin akciğer kanseri ile ilişkisinin olup olmadığı üzerine bir çok çalışma yapılmıştır.

DNA onarım kapasitesinin ve bunun kanser duyarlılığı üzerine etkilerinin epidemiyolojisini aydınlatmak amacıyla yapılan çalışmalar önemli bir alan oluşturmaktadır¹⁵. Akciğer kanseri hastalarında sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında DNA onarım kapasitesinin daha düşük olduğu bulunmuştur. Moleküler epidemiyoloji çalışmaları DNA onarım genotipindeki değişimlerin akciğer kanseri duyarlılığını değiştirebileceğini göstermektedir⁹⁷. Akciğer kanseri ile ilişkili olabileceği düşünülerek çalışılan DNA onarım genleri, XRCC1 (kodon 194, 280, 399), XRCC3⁶³, XPA, XPG (ERCC5)⁷², ERCC1, MGMT/AGT, XRCC2, XRCC9, NBS1, ATR, LIG3, EXO1, MPG, PCNA, POLB, POLI, XPF (ERCC4)⁹⁷, XPD (ERCC2) (kodon 312, 751), APE1⁹⁸, MTH1 (kodon 83)⁹⁹ ve OGG1'dir.

2.5. OGG1 Geni

Kromozom 3p25'te lokalize olan insan OGG1 genomik DNA'sı ~16.7 kb uzunluğundadır ve 8 ekzondan oluşmaktadır¹⁸. OGG1 geninin 345 amino asitten oluşan α -hOGG1 (MA=39kDa) ve 424 aminoasitten oluşan β -hOGG1 (MA=47kDa) olmak üzere iki tipi vardır³⁹. α -hOGG1 7 ekzona sahipken, β -hOGG1'in ilk 6 ekzonu α form ile aynı olmakla birlikte 8 ekzondan oluşmaktadır. 8-OHG onarım aktivitesinde, immünohistokimyasal deneyler ile β -hOGG1 proteininin memeli mitokondrisinde, α -hOGG1 proteininin ise çekirdekte sorumlu olabileceği

bulunmuştur²¹. hOGG1 geni 12 alternatif ekleme (splice) izoform olarak eksprese edilmesine rağmen sadece 1α formu çekirdekte translokasyon sinyali vermekte¹⁰⁰ ve 8-OHG için temel onarım proteini özelliği göstermektedir¹⁰¹. OGG1 'ın α formu yOGG1 (yeast; maya OGG1 = yOGG1) ile protein düzeyinde %34 benzerlik göstermektedir¹⁰².



Şekil 14 : OGG1 geninin 3. kromozomdaki lokalizasyonu¹⁰³

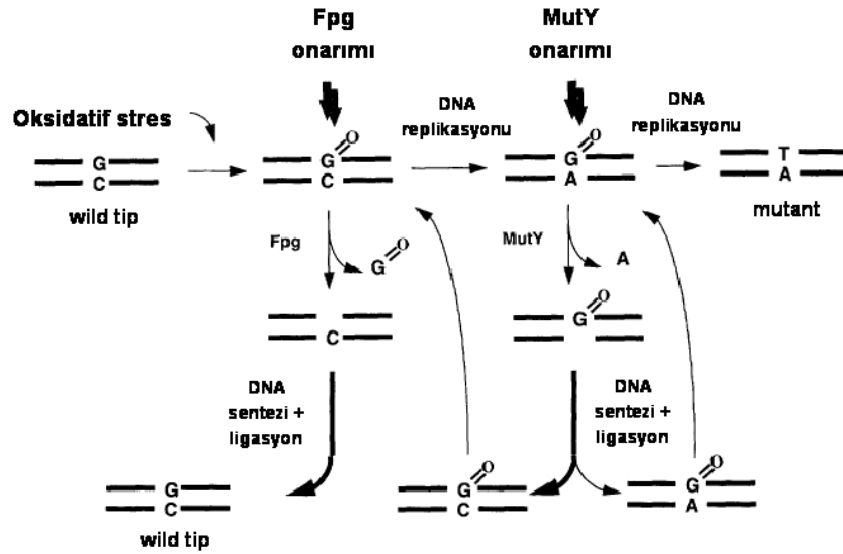
Hemen hemen her dokuda bulunan OGG1 ekspresyonunun dokudan dokuya değişiklik gösterdiği bulunmuştur. İnsan dokularında Northern blot analizleri ile en çok ekspresyonun olduğu dokular olarak timus, testis, böbrek, bağırsak, beyin ve beyincik bulunmuştur²¹. Ayrıca prostat dokularında¹⁰⁰, ovaryum ve akciğerleri içeren insan dokularında da hOGG1 ekspresyonunun oldukça yüksek seviyelerde olduğu gösterilmiştir¹⁰. Fötal ve yetişkin dokularında OGG1 habercilerinin (messenger) ölçümü ile bu genin gelişmenin başından sonuna kadar eksprese edildiği gösterilmiştir²¹.

İlk olarak 1997 yılında, mayadaki OGG1 geninin insandaki homologu tanımlanmış ve aynı yOGG1 gibi DNA'da 8-OHG ve Fapy lezyonları üzerine DNA glikozilaz etkisinin olduğu bulunmuştur^{102,104,105,106,107,108,109}. hOGG1 (human OGG1; insan OGG1 = hOGG1) veya hMMH (human MutM Homolog = hMMH = insan MMH)) olarak da adlandırılan gen, Fpg enziminin fonksiyonel homoloğudur⁴⁸.

2.5.1. Bakteri ve Mayada OGG1 Proteininin Fonksiyonları

Escherichia coli; 8-OHG kaynaklı mutajenezi önlemek amacıyla iki DNA glikozilaza sahiptir. Bunlardan birincisi; hasarlı DNA 'da 8-OHG'i kesen formamidopirimidin-DNA glikozilaz (Fpg=MutM) proteini²¹, ikincisi ise 8-OHG:A yanlış eşleşmesinde adenini uzaklaştıran MutY proteindir¹¹⁰. *E.coli*'de Fpg (Mut M) proteini replikasyondan önce tüm lezyonları onaramadığı için MutY proteinine ihtiyaç vardır¹¹¹. Bu iki genin herhangi birinin inaktivasyonu ile spontan mutator fenotip oluşur²¹. Dahası *E.coli*'nin hem Fpg hem de MutY geninin mutant olması sinerjistik olarak şiddetli GC:TA mutator fenotipi ile sonuçlanır¹⁰⁴. Guaninin oksidasyonu hücrel nükleotid havuzunda da görülmektedir. DNA sentezinin mutajenik

substratı olan dGTP'nin oksitlenmiş formu 8-oxo-dGTP; kalıp DNA'da adenin veya sitozinin karşısına eşleştiğinde A:T→C:G ve G:C→T:A transversiyonları ile sonuçlanır. Bununla birlikte, *E.coli*'deki MutT proteini 8-oxo-dGTP'nin 8-oxo-dGMP'ye hidrolizini sağlayarak 8-OHG'inin DNA'ya bağlanmasını önler¹¹⁰. Bu üç genin kodladığı enzimler fonksiyonel işbirliği yaparak bakteride 8-OHG kaynaklı mutasyonları önlemede önemli rol oynarlar¹¹².



Şekil 15 : *E. Coli*'de Fpg/MutY onarım sistemi³²

Saccharomyces cerevisiae'de ise 1996 yılında bakteriyel Fpg proteininin fonksiyonel analogu olan yOGG1 proteininin, hasarlı DNA'dan 8-OHG'in uzaklaştırılmasını katalizlemek amacıyla DNA glikozilaz/APliyaz aktivite gösterdiği belirlenmiştir^{107,113,114}. OGG1 proteininin mayalarda 8-OHG'i Fapy lezyonundan 12 kat daha hızlı uzaklaştırdığı bulunmuştur¹¹³. Mayada OGG1, sitozin karşısındaki 8-OHG lezyonunu keserken, diğer bazların karşısındaki lezyonlarda çok az veya hiç aktivite göstermemektedir¹⁰⁸. Buna karşın lezyonun pürinlerle yaptığı eşleşmelerde aktivite gösteren farklı bir enzim (OGG2) gözlenmiştir¹¹⁵. *S.cerevisiae*'nin OGG1 mutant ırklarında birikmiş GC:TA transversiyonları ve mutator fenotip ortaya çıkmıştır²¹.

Tüm bu sonuçlar, prokaryotlarda ve basit ökaryot *S. cerevisiae*'de Fpg ve OGG1 proteinlerince yapılan 8-OHG'in baz çıkarma onarımının (BER) ROS'ların mutajenik etkilerinden genomu koruduğunu göstermektedir²¹. Basit organizmalardan yola çıkarak yüksek organizmalarda da benzer enzim aktivitesi bulunmuş ve kromozomal

DNA'dan 8-OHG'in hızlı bir şekilde eliminasyonunun sağlandığı gözlenmiştir¹¹⁰.

2.5.2. OGG1 Onarım Mekanizması

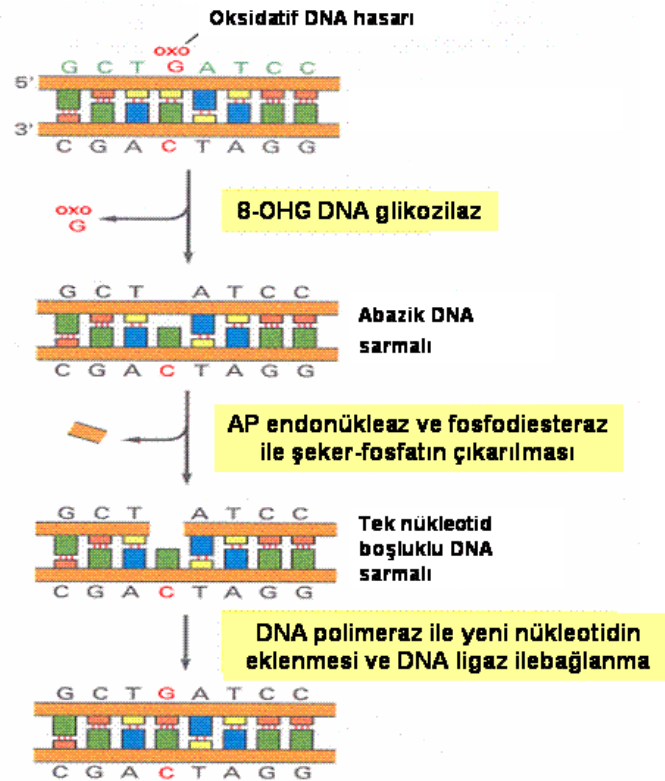
DNA baz çıkarma onarım enzimi olan OGG1, 8-OHG lezyonlarının onarımında anahtar rol oynamakta¹⁴ ve karsinogenezi önlemede önemli bir fonksiyona sahiptir¹⁸. BER ile genel olarak okside veya redükte bazlar, parçalı veya "nonbulky" katım ürünleri ve metilleyici ajanlar ile üretilen küçük lezyonlar onarılır⁶⁶. Urasil, hidroksimetil urasil, metilsitozin, hipoksantin, G-T yanlış eşleşmeleri, 3-metiladenin, 7-metilguanin, 3-metilguanin, formamidopirimidin, 8-OHG, 5,6-hidrat timin ve pirimidin dimerleri gibi çeşitli lezyon tiplerinden DNA'yı korumakla görevlidir¹¹⁶.

Memeli hücrelerindeki BER ile ilgili biyokimyasal çalışmalar iki farklı yolak bulunduğunu ortaya çıkarmıştır²¹ ve onarılan parçaların uzunluğuna göre sınıflandırılmıştır. Kısa yolak tek bir nükleotidin onarılmasını sağlarken uzun yolak 2-10 nükleotidlik lezyonları onarmaktadır⁴. Baz çıkarma DNA onarım yolağında anahtar enzim DNA glikozilazlardır. Timin glikol DNA glikozilaz, 8-OH-guanin/Fapy DNA glikozilaz, 3-metil adenin / 3-metil guanin / 7-metil guanin / hipoksantin DNA glikozilaz, hidroksimetil urasil DNA glikozilaz, formil urasil DNA glikozilaz, urasil glikozilaz şu ana kadar insan ve bakterilerde tanımlanmış bazı DNA glikozilaz örneklerindendir¹¹⁷. Bunlar arasında esas olan dört DNA glikozilaz; 8-OHG'i uzaklaştıran hidroksiguanin DNA glikozilaz (OGG1), DNA'dan urasili uzaklaştıran urasil DNA glikozilaz (UDG), timin glikol ve 5-hidroksisitozin gibi oksitlenmiş pirimidinleri çıkaran endonükleaz III'ün insandaki homologu NTH1 ve alkilenmiş bazları çıkaran 3-metil adenin DNA glikozilazdır¹¹⁸. Baz çıkarma onarımında görev alan genler arasında POLB, EXO1⁹⁷, UNG, SMUG1, MBD4, TDG, OGG1, MUTYH (MYH), NTHL1 (NTH1), MPG (metilpürin glikozilaz), NEIL1, NEIL2, APEX1, APEX2, LIG3, XRCC1, PNKP, PARP1 (ADPRT) ve PARP2 (ADPRTL2) vardır¹¹⁹. Bu yolakta görev alan, polimorfizm varlığı saptanan genlerden bazıları; XRCC1, OGG1, POLB, APEX1, MUTYH¹²⁰, ADPRT, LIG3, NEIL1, TDG, MBD4'tür.

Onarım baza spesifik DNA glikozilazın hasarlı bazı tanıyıp N-glikozilik bağı hidrolize ederek abazik (apürinik/apirimidinik; AP) boşluk oluşturmasıyla başlar^{66,121}. Bunu takiben apürinik/apirimidinik endonükleaz (APE) şeker-fosfat zincirini keser¹ ve DNA sarmal kırığının 5' ucunda şekeri ortaya çıkarır¹²¹. DNA polimeraz β (Pol β) diğer sarmalı kalıp olarak

DNA sentezi ile⁶⁶ AP boşluğunun 3' sonuna bir nükleotid ekleyerek boşluğu doldurur ve DNA ligaz III bu süreci tamamlar¹²¹. Diğer taraftan uzun yolak onarımı, farklı polimerazlar (Pol ζ veya Pol ϵ), prolifer edici hücre nükleer antijeni (PCNA), flap endonuclease 1 (FEN1), replikasyon faktörü (RF-C) ve Ligaz I kullanılarak farklı bileşenlerle tamamlanır^{1,21}.

BER enzimleri iki ana alt gruba ayrılır. Bunlardan biri sadece glikozidik bağın hidrolizini katalizleyen monofonksiyonel glikozilazlar, diğeri ise ek olarak abazik alan oluşumu için liyaz aktivitesinin de bulunduğu bifonksiyonel glikozilazlardır¹⁰⁵. En yaygın oksidatif DNA hasarı olan 8-OHG onarımının primer yolağı kısa yoldur. Ancak kısa yolak komponentleri olmadığında veya doygunluğa ulaştığında yerini uzun yolak doldurmaktadır⁴. OGG1 hem okside guanin (8-OHG) ile deoksiriboz yapısı arasındaki N-glikozil bağlarını keserek¹ 8-OHG'in uzaklaştırılmasını hem de β eliminasyon reaksiyonu ile fosfodiester bağını keserek abazik bölge oluşmasını katalizleyen DNA glikozilaz / AP liyaz aktivitesine sahip bifonksiyonel bir enzimdir¹⁰⁷. Ancak OGG1'in AP liyaz aktivitesi glikozilaz aktivitesinden daha zayıftır¹²².



Şekil 16 : OGG1 onarım mekanizması¹²³

8-OHG uzaklaştırılmasının etkinliği lezyonun karşısında sitozin bazı olan substratlar için en yüksek ve iki kat daha hızlı olmaktadır. 8-OHG karşısında timin bazının olması glikozilaz aktivitesini anlamlı olarak düşürürken, guanin bazı veya oldukça stabil bir baz çifti oluşturan adenin bazına karşılık 8-OHG olduğunda oldukça düşük aktivite gzlenir^{21,104,124}. Bununla birlikte adenin ve guanin bazlarının karşısındaki 8-OHG lezyonunu uzaklaştıran protein olarak OGG2'nin (MA=36kDa) varlığı saptanmıştır (G>A>>C/T)¹²⁵. Ancak aktivitesi OGG1 proteininden çok düşük olduğu için mevcut çalışmaların sayısı azdır¹⁰¹.

Memeli OGG1 enziminin serbest hali ile DNA'ya bağlanmış şekli konformasyonel olarak birbirinden farklıdır. Enzimin aktif bölgesi olarak Lys249 belirlenmiş ve 8-OHG:C baz çiftinin tanınması için bu bölgeden hem 8-OHG'e hem de sitozine hidrojen bağlılarıyla bağlanması gereklidir³⁶.

2.5.3. OGG1 Geninin Polimorfik Bölgeleri

Yapılan alışmalarda OGG1 geninde birçok SNP (Single Nucleotide Polymorphism = Tek Nükleotid Polimorfizmi) belirlenmesine raėmen¹⁸ analiz edilmiş polimorfizmlerin bir kısmı, kodlamayan bazlara karşılık gelmekte veya tahmin edilen proteinlerin enzimatik aktivitelerinde varyasyon gstermemektedir²¹. Bununla birlikte ekzon 7'de 1245. pozisyonda yer alan C/G polimorfizmi, kodon 326'da serinden sisteine amino asit substitsyonuna neden olmakta¹⁹ ve sıklıkla çalışmalar bu değişim üzerine odaklanmaktadır¹⁰. (Tablo 1)

Japon popülasyonunda hOGG1 genindeki varyant allelleri tanımlamak amacıyla yapılan çalışmada ekzon 1 pozisyon 18'de G→T ve 23'de A→T geçişi olduğu belirlenmiştir. 18. bazdaki değişimle akciğerde adenokarsinoma riskinin 3 kat arttığı bulunmuştur (OR=3,152 %95 CI:1,3-7,8)¹²⁹. Ancak bu iki polimorfizmin Avrupa beyaz ırkında görülmemesi veya nadiren rastlanılması¹³⁰ ile birlikte fonksiyonunun önemi de bilinmemektedir¹⁴.

Tablo 1 : OGG1 geninde saptanan başlıca polimorfizmler

Kodon	Ekzon	Baz değişimi	Aminoasit değişimi	Referans
246 (mRNA pozisyonu)	5' kodlamayan bölge	A/G	-	19
251 (mRNA pozisyonu)	5' kodlamayan bölge	G/T	-	19
12	1	G/A	Gly/Glu	38
46	1	G/A	Arg/Gln	19
85	2	G/T	Ala/Ser	39
98	2	G/A	Lys/Lys	19
131	3	G/A	Arg/Gln	39
154	3	G/A	Arg/His	126
169	3	G/A	Arg/Gln	38
220	4	C/T	-	38
232	4	T/A	Ser/Thr	39
304	6	C/T	Arg/Trp	127
308	6	G/A	Gly/Glu	128
323	7	G/A	-	38
326	7	C/G	Ser/Cys	19
336	7	G/A	Arg/His	127

Bazı çalışmalarda Ser326Cys polimorfizminde katalitik aktivitede fark olmadığı bulunmasına rağmen¹⁰, in vitro *E. coli* komplementasyon aktivite yönteminde, wild tip olan Ser326 allelinin kodladığı hOGG1 proteininin DNA onarım aktivitesinin Cys326 varyantından çok daha yüksek olduğu ortaya çıkmıştır¹⁹. Onarım kapasitesinin 7 kat daha az olduğu bu durum, DNA'da 8-OHG oluşumu için bireysel duyarlılığı artırabileceğini göstermektedir²³. Buna karşın insanda Ser326 ve Cys326 proteinlerinin aktivitelerini saptamak amacıyla yapılan bir in vitro çalışma¹³¹ ve insan lenfositlerinde yapılan bir in vivo çalışmada OGG1 DNA onarım aktivitesinin polimorfizme bağlı olmadığı bulunmuştur¹⁷. Bunun aksine hücre kültüründe yapılan çalışmalarda ise hOGG1 Cys326 proteininin aktivitesinin Ser326 proteininden daha düşük olduğu gözlenmiştir¹³². Aktivite çalışmalarında çelişkili sonuçların bulunması sebebiyle aminoasit substitüsyonunun enzimin katalitik özelliğini etkileyip etkilemediği henüz çok açık değildir²⁰.

E. coli'de Ser326 ve Cys326 proteinlerinin yanı sıra OGG1 Gln46 varyantının aktivitesine de bakılmış ve hem Ser326 hem de Cys326 proteinlerinden onarım aktivitesinin daha düşük olduğu bulunmuştur¹⁹. Daha sonra insan OGG1 proteini üzerinde yapılan aktivite çalışmasında ise *E. coli* sonuçlarını destekler şekilde, Ser326, Cys326 ve Gln46 allellerinin kimyasal veya spontan olarak oluşan oksidatif mutajenezi onardığı ancak Gln46 allelinin mutasyonları önlemede diğer allellerden daha az etkili olduğu bulunmuştur¹³³. İncelenen Glu308 ve Gly308 proteinleri arasında ise enzimatik aktivitede fark bulunamamıştır¹²⁸.

Ser326Cys polimorfizminin her zaman intron 4'deki bir baz değişikliğiyle bağlantılı olduğu bilinmektedir²¹. Ayrıca Ser326Cys polimorfizminin kromozom 3p'de yer alan kanserle ilişkili genlerin fonksiyonel polimorfizmleri ile bağlantı eşitsizliği (linkage disequilibrium) yapıyor olması muhtemeldir⁸⁰.

2.5.4. OGG1 Ser326Cys Polimorfizmi Sekans Dizilimi

```
8401 gctggccaca tgctgccctt cttccacaag ggctcattct gtgtctgtca aaggtggctg
8461 actgcatctg cctgatggcc ctagacaagc cccaggetgt gcccgtagat gtccatatgt
8521 ggcacattgc ccaacgtgac tacagctggc accctaccac gtcccaggcg aagggaccga
8581 gccccagac caacaaggaa ctgggtgagg aaagtgggct gcaggggctg gcagtgggct
8641 gggatggtag aaacttctct ctctcttagt cacctctccc tcagacccta cttctgttga
8701 tgggtcacag aaggggtcag ataacttagt ctcactactt ctgatttagg aaacttttct
8761 cggagcctgt gggaacctta tgctggctgg gcccaagcgg tgagtgtacc taggtgtcct
8821 ccctagggtt cctctcctcc agcccagacc cagtggactc ttccaccacc gccccagggtg
8881 gccctaaagg actctccagc caccctgtc ccaaccccag tggattctca ttgccttcgg
8941 ccctgttccc caaggactct tccacctccc aacctgtca ctagtctcac cagccctgac
9001 cccagtgtac cctctcccc acacagactc caccctccta cagggtctgt tcagtgccga
9061 cctgcgcaa tcccgccatg ctccaggagc accagcaaag cgcagaaagg gttccaaagg
9121 gccggaaggc tagatggggc accctggaca aagaaattcc ccaagcacct tcccctccat
9181 tcccacttc tctctcccca tcccacccca gtctcatgtt ggggaggggc ctccctgtga
9241 ctacctcaaa ggccaggcac ccccaaatca agcagtcagt ttgcacaaca agatgggggtg
9301 ggggatattg agggagacag cgctaaggat ggttttatct tccctttatt acaagaagga
9361 acaataaaat agaaacattt gtatggaaaa tgcagtgagg agtggtaggg aagcaggtga
9421 ggaggggaca gggcagagaa actcccggtt caggggagga aggggagcag gctgccccca
9481 agccctccca cgcagaggat cctcgag
```

Şekil 17 : OGG1 Ser326Cys polimorfizmi sekans dizilimi ¹³⁴

2.5.5. OGG1 Ser326Cys Polimorfizminin Etnik Gruplara Göre Dağılımı

Yapılan çalışmalarda özellikle Çin, Japon, Kore ve Tayvan popülasyonlarının genotip sıklığının oldukça yüksek olduğu görülmektedir. Homozigot Cys genotipine; Çin popülasyonunun %33'ü, Japon popülasyonunun %23,7'si, Kore'nin %28,2'si ve Taiwan'ın ise %38, 2'si sahipken Avrupa Beyaz Irk'ında Cys/Cys genotipi %5, %6 ve %8,5 sıklıkta görülmektedir. Diğer tüm popülasyonların %genotip sıklıkları tablo 2'de gösterilmiştir. Bu sonuçlardan yola çıkarak; Cys326 allelinin Asya popülasyonunda Kuzey Avrupa Irkına göre daha yaygın olduğu söylenebilir¹³⁵.

Türk popülasyonunda Ser326Cys polimorfizmini değerlendirmek amacıyla sağlıklı bireylerde yapılan çalışmada genotip frekansı homozigot Ser için %50, heterozigot varyant için %41, homozigot Cys için %9 bulunmuştur¹³⁶. Yapılan çalışmalardan görüldüğü gibi Türk

populasyonunun genotip frekansları Avrupa Beyaz Irkı'nın frekanslarına benzerken Asya populasyonunun frekansı oldukça yüksek seviyelerdedir.

Tablo 2 : Çeşitli sağlıklı populasyonlardaki OGG1 Ser326Cys % genotip sıklıkları

Populasyon	n	Ser/Ser (%)	Ser/Cys (%)	Cys/Cys (%)	Referans
Çin	98	12	53	33	23
Avustralya	138	39,9	56,5	3,6	23
Macaristan	149	63,7	33,6	2,7	23
Japon	94	27,7	57,4	14,9	23
Malezya	55	74,5	21,8	3,7	23
Avrupa Beyaz Irk	105	57,1	41,0	1,9	129
Çin	201	33,8	52,8	13,4	137
Avrupa Beyaz Irk	34	56	38	6	17
Çin	198	15,2	60,6	24,2	52
Hawaii	96	30,2	50	19,8	14
Avrupa beyaz ırk	159	61,6	33,3	5	14
Japon	150	33,3	49,3	17,3	14
Amerika	331	75	23	1,8	10
Japon	152	32,9	43,4	23,7	138
Japon	241	28,3	49,2	22,5	139
Amerika	252	74	25	1	100
Japon	184	33,7	48,4	17,9	140
Kore	284	17,3	54,6	28,2	140
Kore	247	21,1	53	25,9	13
Taiwan	283	16,3	45,6	38,2	141
Danimarka	434	56,4	39	4,6	142
Avrupa Beyaz ırk	358	73	25	2	143
Danimarka	269	59,1	33,8	7,1	144
Danimarka	319	52,3	39,2	8,5	20
Japon	271	27,3	52	20,7	145
Japon	320	29,4	45,6	25	146
Doğu Avrupa	2163	63,3	33,1	3,6	1
Türk	206	50	41	9	136
Danimarka	796	60,2	35,7	4,1	82
Japon	394	31	48	21	147
Amerika	1102	59,7	35,2	5	148

2.5.6. OGG1 Ser326Cys Polimorfizmi ve Kansere İlişkisi

Osterod ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada OGG1 geni olmayan farelerde yaşa bağlı olarak dokuya spesifik oksidatif DNA baz hasarlarının akümüasyonu tespit edilmiştir¹⁴⁹. OGG1 mutant farelerin DNA'larında 8-OHG miktarının ve G:C→T:A mutasyonlarının daha fazla olduğu ve akciğer adenokarsinomasına yatkınlığın arttığı belirlenmiştir¹⁵⁰. Sakumi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise, OGG1 geni taşımayan farelerde spontan akciğer kanseri insidansında artış görülmüştür¹.

Memelilerde OGG1 enziminin biyolojik önemi bir çok çalışmayla kanıtlanmıştır. Bunların arasında; populasyonlarda OGG1 polimorfizmi ile akciğer ve prostat kanseri gelişme riski arasında ilişkinin olması, farelerde OGG1 ve MYH1'in (**MutY Homologu**) birlikte fonksiyon göstermemesi sonucu özellikle akciğer, over tümörleri ve lenfomada %66'lık bir riskin olması, periferik kan lenfositlerinde düşük OGG1 aktivitesinin insanlarda akciğer kanseri gelişiminde artmış risk ile bağlantısı bunlar arasında sayılabilir³⁷.

Birçok kanserde sıkça mutasyona uğrayan p53 tümör supresör geninde sekans değişikliklerinin analizleri ile birçok kanser tipinde G:C'den T:A'e transversiyon olduğuna dair güçlü bir eğilimin olduğu gösterilmektedir. Benzer olarak bu tip mutasyonlar 8-OHG'i DNA'larından elimine edemeyen bakteriyel ve maya sistemlerinde de görülmektedir. Dolayısıyla OGG1 aktivitesi yetersiz olan memeli hücreleri için de bu tip mutasyonlar beklenebilir bir durumdur²¹. Bu sebeple OGG1 geninin tümör supresör etki gösterebileceği düşünülmektedir¹⁹. Buna dayanarak, OGG1 geninde mutasyon olup olmadığını belirlemek amacıyla birçok araştırmacı, farklı insan tümörlerini incelemiştir²¹. (Tablo 3)

Tablo 3 : Çeşitli populasyonlardaki farklı kanser türleri ile OGG1 Ser326Cys polimorfizmi ilişkisi

Kanser türü	Populasyon	Kontrol (n)	Vaka (n)	OR (%95 CI) Ser/Cys Cys/Cys	Referans
Meme	Avrupa Beyaz Irk	1366	1470	1,0 (0,8-1,2) 1,0 (0,7-1,4)	151
Meme	Amerika	1102	1058	1,04 (0,87-1,24) 0,99 (0,66-1,47)	148
Meme	Asya	500	475	1,0 (0,75-1,45) 1,3 (0,92-1,93)	140
Meme	Danimarka	434	425	0,84 (0,64-1,10) 0,98 (0,52-1,86)	142
Prostat	Avrupa Beyaz Irk	479	439	1,08 (0,73-1,58) 0,71 (0,30-1,69)	152
Prostat	Amerika	252	84	1,7 (1,01-3,0) 7,6 (1,8-31,3)	100
Mide	Japon	271	142	1,22 (0,74-1,99) 1,51 (0,83-2,73)	145
Mide	Çin	198	101	0,76 (0,40-1,45) 0,63 (0,29-1,35)	52
Kolon	Kore	247	125	1,09 (0,60-2,00) 1,18 (0,60-2,35)	13
Mesane	Türk	100	99	2,41 (1,36-4,25) (S/S+S/C-C/C)	153
Bazal hücreli karsinoma (deri)	Danimarka	319	319	0,98 (0,70-1,37) 1,09 (0,59-2,03)	20
Orolarinks	Amerika	331	169	1,7 (1,1-2,6) 3,6 (1,2-10)	10
Özofagus	Çin	201	196	1,9 (1,3-2,6) (S/S+S/C-C/C)	137
Serviks	Japon	320	131	1,08 (0,64-1,80) 1,13 (0,62-2,03)	146

Avrupa Beyaz Irkı'nda 167 orolarenks (ağız-larenks) kanseri hastası ve 331 kontrolün yanak epitel hücrelerinden izole edilmiş DNA ile yapılan OGG1 genotipleme ile orolarinks kanseri için anlamlı artmış risk, hem OGG1 Ser326Cys (OR=1,6, %95 CI=1,04-2,6) hem de OGG1 Cys326Cys (OR=4,1, %95 CI=1,3-13) genotipinde bulunmuştur. Hiç sigara kullanmamışlarda orolarinks kanseri riskinde anlamlı bir farklılık olmamasına karşın, sigara içen homozigot polimorfik bireylerde (hayatı boyunca >100 sigara; OR=4,8, %95 CI=1,3-18) artmış risk söz konusudur. Benzer şekilde, hiç alkol kullanmamış bireylerde bir ilişki gözlenmemesine karşın, alkol kullananlarda OGG1 Cys326Cys genotipinde (>1 kadeh/hafta; OR=6,9, %95 CI=1,6-29) anlamlı artmış risk belirlenmiştir. Bu sonuçlar Ser326Cys polimorfizminin sigara ve alkole bağlı orolarinks kanser riskinde önemli rol oynayabileceğini göstermektedir¹⁰.

Çin populasyonunda mide kanseri riskinin OGG1 Ser326Cys polimorfizmi ile ilişkisinin olup olmadığına bakılmış ancak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Ancak polimorfizmin mide kanserinde çevresel faktörlerin etkisini değiştirebileceği bulunmuştur⁵².

Kalıtsal nonpolipozis kolorektal kanser hastalarında, karsinogeneze genetik defektlerin etkisinin çevresel risk faktörleri tarafından düzenlendiğini göstermek amacıyla Ser326Cys polimorfizmi ve OGG1 enzim aktivitesi arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. Yapılan çalışmada hasta ve kontrol grubu arasında allel sıklığında anlamlı bir farklılık olmamasına karşın hastalarda homozigot Cys326 alleli (OR=1,18, %95 CI=0,60-2,35) kontrolden daha fazla bulunmuştur. Sigara, alkol, et tüketimi, gibi çevresel risk faktörleriyle yapılan incelemelere bakıldığında istatistiksel farklılık, yalnızca haftada iki kereden fazla et yiyenlerde görülmüştür. Bu durum için OR değeri Ser/Ser ve Ser/Cys taşıyıcılarında artmazken Cys/Cys için OR=4,31 (%95 CI=1,64-11,48)'dir. Ser326Cys polimorfizmi ile sigara içimi arasındaki ilişkiye bakıldığında kolon kanseri için Ser/Ser ve Ser/Cys genotipinde OR'da artış gözlenmezken Cys/Cys genotipinde risk artmıştır.(OR=2,75, %95 CI=1,07-7,53)¹³.

Choi ve arkadaşları OGG1 gen polimorfizmi ile meme kanseri riski ilişkisini belirlemek amacıyla, Asyalı (Kore ve Japon populasyonunda) kadınlarda Ser326Cys polimorfizmini değerlendirmiş ve meme kanseri ile Ser326Cys genotipi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkinin bulunmadığı belirlemişlerdir¹⁴⁰. Avrupa Beyaz Irkı'nda yapılan iki ve Amerika'da yapılan bir çalışmada da vaka sayısının oldukça fazla olmasına rağmen meme kanseri riski ile Ser326Cys polimorfizmi arasında bir bağlantı bulunamamıştır^{142,151}.

Özofagusda skuamöz hücreli karsinomada riskin Ser326Cys polimorfizmi ile arttığı belirlenmişken (Cys/Cys OR= 1,9, %95 CI=1,3-2,6)¹³⁷, bazal hücre karsinomasında OGG1 Ser326Cys polimorfizminin ilk kez araştırıldığı çalışmada, polimorfizm ile ilişkisi bulunamamıştır (Ser/Cys OR= 0,98 (0,70-1,37), Cys/Cys OR= 1,09 (0,59-2,03)²⁰.

Japon populasyonunda XRCC1 399 ve OGG1 Ser326Cys genotiplerinin serviks kanserli hastalarda değerlendirilmesi sonucu XRCC1 ile serviks adenokarsinoma arasında artmış risk bulunurken OGG1 ile serviks kanseri arasında bir ilişki bulunmamıştır¹⁴⁶.

Xu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada prostat kanseri ve hOGG1 sekans varyantları arasındaki ilişki incelenmiş ve Ser326Cys polimorfizmine ek olarak 17 SNP değerlendirilmiştir. Bu SNP'lerden Ser326Cys ve 11657A/G için kontrol grubu ile vakalarda genotip dağılımı yönünden anlamlı sonuçlar elde edilmiştir¹⁸. Başka bir çalışmada hOGG1 Cys326 alleleline sahip bireylerde prostat kanserine yatkınlığın anlamlı olarak arttığı ($OR_{adj}= 2,1$, %95 CI = 1,2-3,8) gösterilmesine karşın¹⁰⁰ Cys326 varyantının risk faktörü oluşturmadığını gösteren sonuçlar da mevcuttur¹⁵².

Japonya'da baş boyun kanserli hastalarda Ser326Cys polimorfizminin kanser gelişme riskini artırıp artırmadığını araştırmak amacıyla yapılan çalışmada kanser tipi, alkol ve diğer risk faktörleriyle polimorfizm arasında herhangi bir ilişki bulunmazken yılda 40 paketten fazla sigara içen baş boyun kanserlilerde Cys/Cys genotipine sahip bireylerde kanser riskinde artış bulunmuştur ($OR=8,10$, %95 CI=1,06-61,73)¹³⁵.

Türk popülasyonunda mesane kanserli hastalarda Cys326 allel sıklığının daha fazla olduğu ve yaklaşık 2,5 kat mesane kanserine yakalanma riskinin arttığı bulunmuştur¹⁵³.

2.5.7. OGG1 Ser326Cys Polimorfizmi ve Diğer Hastalıklarla İlişkisi

Yaş ortalaması 78,8 olan 119 bireyde diş kaybı ile genetik yatkınlık arasındaki ilişki incelenmiş ve değerlendirilen yedi farklı gen polimorfizmlerinden yalnızca OGG1 Ser326Cys polimorfizminde istatistiksel olarak anlamlılık bulunmuştur ($p=0,0086$)¹⁵⁴. Son zamanlarda OGG1 genindeki defektlerin Alzheimer hastalığının patojenezinde önemli rol oynayabileceğine dair bulgular ortaya atılmaktadır¹⁵⁵. Ayrıca Parkinson, nörodejeneratif hastalıklar¹⁵⁶, iskemi-reperfüzyon¹⁵⁷ ve inflamasyon regülasyonunda¹⁵⁸ da rol aldığı bulunmuştur.

2.5.8. Akciğer Kanseri ve OGG1 Gen Polimorfizmi İlişkisi

İlk olarak Kohno ve arkadaşları hOGG1 Ser326Cys polimorfizmini tanımlamış ve aynı çalışmada Japonlardan oluşan küçük bir grupta akciğer kanserli hastalarla ($n=45$) kontrol grubunun ($n=42$) frekanslarını karşılaştırmıştır. Ancak allel frekansları arasında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır¹⁹.

OGG1 polimorfizmi ile ilgili yapılan ilk vaka-kontrol çalışması olma özelliğine sahip Sugimura ve arkadaşlarının Japon popülasyonunda yaptığı Ser326Cys polimorfizmi çalışmasında 241 akciğer kanserli hasta ve 197 kontrol kullanılmış, OGG1 genotipi ile akciğer kanseri riski arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Ancak skuamöz hücreli karsinoma ve adenokarsinoma olmayan hücre tipine sahip kanserlilerde yaş ve sigara öyküsünün etkisini kaldırdıktan sonra istatistiksel olarak anlamlı artmış risk bulunmuştur. (sırasıyla; OR=3,01, %95 CI = 1,33-6,83, P=0,008; OR=2,18, %95 CI = 1,05-4,54, P=0,037)²³. Japon popülasyonunda yapılan başka bir çalışmada da akciğer adenokarsinoma riskinde OGG1 Ser326Cys polimorfizminin rol oynamadığı gösterilmiştir¹³⁸. Akciğer adenokarsinoma riskinin OGG1 polimorfizmiyle ilişkisinin araştırıldığı bir diğer çalışmada ise Japon popülasyonunda 1097 kanserli hasta incelenmiş ve riskte anlamlı olarak yaklaşık 1,5 kat artışın görüldüğü saptanmıştır¹⁴⁷.

Avrupa beyaz ırkında çoğunluğunu sigara içenlerin oluşturduğu akciğer kanserli (n=105) ve sağlıklı bireylerde (n=105) OGG1'in altı farklı polimorfizm türünde araştırma yapılmış, bunlardan en yaygın olanı Ser326Cys bulunmuş ancak hasta ve kontrol arasında Ser326Cys polimorfizminin riski arttırdığını gösterecek anlamlı bir fark bulunamamıştır. (Cys/Cys OR=2,2 %95 CI=0,41-11,79)¹³⁰ Avrupa Beyaz Irkı'nda 116 akciğer kanserli hasta ve 1094 sağlıklı bireyin OGG1 Ser326Cys polimorfizmlerine bakılan çalışmada da kanser riski ile Ser326Cys polimorfizmi arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (Ser326Cys OR=1,13 %95 CI=0,71-1,80; Cys326Cys OR=0,47 %95 CI=0,13-1,74).¹⁵⁹ Buna karşın Avrupa beyaz ırkında yapılan diğer bir polimorfizm çalışmasında hem Ser/Cys (OR=1,9; %95 CI=1,2-2,9) hem de Cys/Cys (OR=3,8; %95 CI=1,4-10,6) genotipi ile akciğer kanseri riski arasında anlamlı bir artış bulunmuştur. Ayrıca sigaranın doza bağlı etkisi ile OGG1 genotipi arasında da istatistiksel olarak anlamlılık vardır¹⁴³.

OGG1 Ser326Cys polimorfizmi ile akciğer kanseri riski arasındaki ilişkiyi incelemek amacıyla yapılan çalışmada Danimarka popülasyonunda 265 kanserli ve 272 sağlıklı bireyin genotipleme sonuçlarında herhangi bir ilişki bulunmamıştır. (OGG1 Cys/Cys OR=0,65, %95 CI= 0,30-1,41)¹⁴⁴ Amerika'da 118 kanserli ve 109 sağlıklı bireyde yapılan çalışmada ise heterozigot varyant genotipe sahip bireylerde kanser riskinin anlamlı olarak yaklaşık iki kat arttığı bulunmuştur¹⁶⁰.

Altı farklı Doğu Avrupa ülkesinden 2155 akciğer kanserli ve 2163 kontrolde yapılan çalışmada Cys/Cys genotipinin akciğer kanseri riskinde önemli bir faktör olmadığı bulunmuştur. (OR=1,34; %95 CI= 0,95–

1,88). Bununla beraber adenokarsinomada risk artışı göze çarpmaktadır (OR=1,66 %95 CI=1,04-2,66)¹. Norveç popoulasyonunda 343 hastanın incelenmesiyle Cys/Cys genotipinde akciğer riskinin arttığı gözlenmiştir (OR=1,64 %95 CI=1,06-2,52)⁹⁷. Sorensen ve arkadaşlarının Danimarka popoulasyonunda yaptığı çalışmada OGG1 polimorfizmi ile akciğer kanser riski arasında herhangi bir ilişki olmadığı gösterilmiştir. Ayrıca sigara kullanımı ile polimorfizm arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir bağlantı bulunamamıştır⁸².

Japon popoulasyonunda akciğer adenokarsinoma riskinin OGG1 Ser326Cys polimorfizmi ile ilişkisinin olmadığını bulan Ito ve arkadaşları sigara kullanımı ile genotipler arasındaki ilişkinin de farklı olmadığını göstermiştir¹³⁹.

Marchand ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise 298 farklı etnik gruplara sahip (Kuzey Avrupa ırkı, Japon, Hawai yerlileri) akciğer kanserli hasta ve 405 kontrol grubu arasında Ser326Cys polimorfizmi çalışılmıştır. Homozigot Cys/Cys genotipinin kanserli hastalarda kontrol grubuna göre daha yaygın olduğu (p=0,008) ve Ser/Ser genotipiyle karşılaştırıldığında riskte 2 kat artış (OR=2,1, %95 CI=1,2-3,7) bulunmuştur¹⁴.

OGG1 Ser326Cys polimorfizminde yapılan meta analizde 7 çalışmanın sonuçları bir araya getirilerek 3371 kontrol ve 3253 hasta kullanılarak OGG1 Cys/Cys genotipinin akciğer kanser riskinde zayıf bir artışa neden olduğu bulunmuştur. (OR=1,24 %95 CI=1,01-1,53)¹⁶¹. 2006 yılında 11 çalışmanın sonuçları ile yapılan meta-analizde ise 4130 akciğer kanserli hasta ve 5470 sağlıklı birey incelenmiş ve OGG1 polimorfizmi ile akciğer kanser riski arasında anlamlı bir ilişkinin olmadığı bulunmuştur. Populasyonları Avrupa Beyaz Irkı ve Asya olarak incelediklerinde de riskte anlamlı bir farklılık bulamamışlardır¹⁶².

Son yapılan çalışmada ise, 110 akciğer kanserli hasta ve 110 sağlıklı bireyin OGG1 Ser326Cys polimorfizmlerinin incelenmesi sonucu, OGG1 Ser326Cys genotipi taşıyan bireylerin akciğer kanseri gelişme riskinde iki kat azalma olduğu görülmüştür (Ser326Cys OR=0,51 %95 CI=0,27-0,95; p=0,033)¹⁶³.

NSCLC akciğer kanserli hastalarda OGG1 aktivitesinin kontrol grubundaki bireylerden anlamlı derecede düşük olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte kanserli hastalarda sigara içen ve içmeyen

grup arasında OGG1 aktivitesinde anlamlı bir fark olmadığı gösterilmiştir⁹. OGG1'in Cys326 genotipi için ilişkilendirilen risk, akciğer kanseri için bile sınırlıdır. Bu durum aktivitedeki sınırlı etki ve birçok alternatif yolak varlığından dolayı olabilir²⁸.

3. GEREÇ VE YÖNTEM:

OGG1 Ser326Cys genetik polimorfizmi ile akciğer kanseri oluşumu arasındaki ilişkinin araştırılması amacıyla “Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurul” ve “Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurul” izinleri ile Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi Medikal Onkoloji Kliniği’nde ve Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Göğüs Cerrahisi Kliniği’nde akciğer kanseri teşhisi konulmuş yaş ortalaması 56,99 olan 165 hastadan kan örnekleri alınmıştır. Kontrol grubunda ise hasta grubu ile uyumlu olacak şekilde, hOGG1 polimorfizmini araştırmak amacıyla yaş ortalaması 53,19 olan 250 sağlıklı bireyden alınan kan örnekleri kullanılmıştır.

Kemoterapi ve radyoterapi almamış 72 kanserli hastadan ve 61 sağlıklı bireyden kan örneklerinin yanı sıra oksidatif hasarın biyogöstergesi olan 8-OHdG düzeylerini tayin etmek için idrar örnekleri de toplanmıştır. İdrar örnekleri analiz edilinceye kadar -20⁰C’de saklanmıştır.

Hastalara ve kontrol grubuna kanser oluşumunda rol oynadığı düşünülen diğer faktörlerin değerlendirildiği bir anket formu uygulanmıştır.

ANKET FORMU

1-Adı Soyadı:

2-Yaş:

3- Cinsiyet:

4- Medeni Hali:

5- Doğum Yeri:

6- Ağırlık:

7- Boy:

8- Meslek/çalışma süresi:

9- Yaşadığınız şehir ve süresi:

10-Eğitim düzeyiniz?

11- Düzenli alınan ilaçlar ve süreleri (Vitamin dahil):

12-Kadın ise; Menarş yaşı:

Menapozal durum:

Premenapoz () son menstrüasyon periyodunun kaç gün önce olduğu:

Postmenapoz () son menstrüasyon periyodunun kaç yıl önce olduğu:

Menapoz yaşı:

İlk doğumunu yaptığı yaş: Son doğumunu yaptığı yaş: Çocuk sayısı:

13- Sigara içme alışkanlığı:

Hiç içmedim () Eskiden içerdim ()

Sigaraya başlama ve bırakma yaşı= ve

Ne kadar süre önce sigarayı bıraktınız?

Ne kadar süredir sigara içiyorsunuz?

Miktarı (Günde kaç adet) :

14-İçtiğiniz sigaranın türü: Filtreli () Filtresiz () Sarma ()

15-Sigara içilen ortamlarda sıkça bulunuyor musunuz? Evet () Hayır ()

16-Alkol alıyor musunuz? Hayır () Evet () Kaç yıldır kullanıyorsunuz?:

Cinsi: Rakı () Şarap() Bira ()

Nadiren () Haftada bir() Haftada 2-3() Haftada 4-5() Her gün ()

17- Kahve içme alışkanlığınız var mı? Var () Yok ()

Günde 1 bardak () Günde 2 bardak () 3 ve daha fazla ()

18-Çay içme alışkanlığınız var mı? Var () Yok ()

Günde 1 bardak () Günde 2 bardak () 3 ve daha fazla ()

19- Beslenme alışkanlığınız nedir?

Et ağırlıklı () Sebze-meyve ağırlıklı ()

Kuru bakliyat ağırlıklı () Balık ve diğer deniz ürünleri ağırlıklı ()

Karışık beslenme () Kızartma ağırlıklı yağlı diyet ()

20-Aile bireylerinde genetik bir hastalık var mı? Hayır () Evet () Nedir= Sizde

21-Ailenizde, Kanserden ölen? Türü:

22- Son 2 yılda herhangi bir viral enfeksiyon geçirdiniz mi? (Sarılık,kızamık,kızamıkçık, suçiçeği, kabakulak, menenjit) EVET () HAYIR () Nedir?:

23- Son bir yılda herhangi bir aşı oldunuz mu? EVET () HAYIR () Nedir?:

24- Hiç röntgen çektirdiniz mi? EVET () HAYIR () Ne zaman?:

Nedir?: Göğüs Röntgeni () Diş () Diğer () Belirtiniz

25- Tiroid ile ilgili bir rahatsızlığınız var mı? EVET () HAYIR ()

Hipotiroidizm () Hipertiroidizm ()

26-Patolojik ve histolojik tanı:

İlk Teşhis:

Tedavi almış: Cerrahi () Radyoterapi () Kemoterapi ()

Kemoterapi almışsa;

İlaç adları:

Kaç kür aldığı:

En son aldığı tarih:

3.1. DNA İzolasyonu

Çalışmamızda deney grubu ve kontrol grubunu oluşturan bireylerin periferik kan örnekleri steril EDTA'lı tüplere alınarak sodyum perklorat / kloroform ekstraksiyon yöntemi ile DNA'ları izole edilmiştir. (İngiltere - Scotlab protokolü) Genel olarak bir lizis işleminden sonra proteinlerin denatürasyonu ve nükleik asitlerin etanol ile çöktürülmesi esasına dayanır.

3.1.1. DNA İzolasyonunda Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Trizma Baz (Sigma Kat. No: T-1503)
- Sukroz (Sigma Kat. No: S-1513)
- Triton (Sigma Kat. No: X-100)
- Magnezyum Klorür (Sigma Kat. No: M-9272)
- Etilendiamin Tetra Asetik Asit (EDTA) (Sigma Kat. No:ED2SS)
- Sodyum Klorür (Merck)
- Sodyumperklorat (Sigma Kat. No: S-1513)
- Sodyum dodesil sülfat Sülfat (SDS) (Sigma Kat. No: L-4509)
- Kloroform (Merck)
- Hidroklorik asit (Merck)
- Mutlak Etanol (Merck)
- Sodyum hipoklorit

3.1.2. DNA İzolasyonunda Kullanılan Alet ve Cihazlar

- EDTA'lı steril kan tüpü (Vacuette-Greiner)
- 50ml'lik kromozom tüpü (Falkon) (Corning)
- 15ml'lik kromozom tüpü (Corning)
- Steril plastik pastör pipeti
- Ağızlı vidalı ependorf tüpü (Axygen)
- Steril bioloop
- DNA saklama kutusu
- Pipet ucu
- Mikropipetler (100-1000µl, 1000-5000µl)
- Otoklav bantı
- Soğutmalı Santrifüj (Nüve NF 800R)
- Etüv
- Su distilasyon cihazı (Nüve NS 108)
- Karıştırıcı (MK 418)
- pH ölçer (Sartorius)
- Hassas terazi (Schimadzu AW 320)

- Otoklav (Nüve)
- Alt-üst karıştırıcı (Falc 205)
- Buzdolabı

3.1.3. DNA İzolasyonunda Kullanılan Çözeltiler

Liziz Tamponu (Lysis Buffer, Reajan A): (10mM Tris HCl (pH=8), 320 mM Sukroz, 5mM MgCl₂, %1 Triton); 12.1g Trizma Baz tartılarak 100ml distile suda çözülür. HCl ile pH'sı 8'e ayarlanır. 109.5g sukroz, 1.0g magnezyum klorür tartılır. 1M Tris HCl (pH=8) çözeltisinden 10ml eklenerek 1000 ml'ye distile su ile tamamlanır. Otoklavda steril edilir. Çıkarıldıktan sonra sıcakken 10 ml TritonX-100 eklenerek +4⁰C'de saklanır.

Reajan B: 48.5g Trizma Baz, 22.3 g EDTA, 8.8g NaCl tartılarak 1000 ml'ye distile su ile tamamlanır. HCl ile pH'sı 8'e ayarlanarak otoklavlanır. Çıkarıldıktan sonra sıcakken 10g SDS eklenerek oda sıcaklığında saklanır.

5M Sodyum perklorat çözeltisi: 70.2 g sodyum perklorat tartılır. 100 ml'ye distile su ile tamamlanarak otoklav ile steril edilir. Oda sıcaklığında saklanır.

3.1.4. DNA İzolasyon Yöntemi

(Sodyum perklorat-kloroform ekstraksiyon yöntemi)

1. 5-10 ml kan örnekleri EDTA'lı tüplere alınır. Kan örnekleri izolasyon yapılincaya kadar -20° C'de saklanır.
2. Her birey için bir kromozom tüpü (50ml'lik) kullanılır. Her tüpe soğuk Lysis buffer (Reajan A) çözeltisinden 35ml ilave edilir.
3. Kan örnekleri falkonlara boşaltılır. Tüpler alt üst edilerek karıştırılır.
4. 10 dakika 3000 rpm'de santrifüj edilir.
5. Bu arada kromozom tüplerine (15ml'lik) 5M Sodyum perklorat çözeltisinden 0.5ml koyulur.
6. Santrifüjden çıkartılan falkonların süpernatantları çamaşır suyu dolu behere boşaltılır.
7. Pelletlerin üzerine Reajan B'den pastör pipet yardımıyla 2ml ilave edilir.
8. Falkondaki Reajan B'li pellet sodyum perklorat içeren kromozom tüplerinin üzerine aktarılır.
9. 15 dakika alt üst edilir.
10. 65° C'de 30 dakika etüvde inkube edilir.
11. Etüvden alınan tüplere soğuk kloroformdan 2ml ilave edilir.
12. 10 dakika alt üst edilir.

13. 10 dakika 1400 rpm'de santrifüj edilir.
14. Üst fazın hepsi pastör pipeti ile yeni kromozom tüplerine aktarılır.
15. Yeni tüpe aktarılan süpernatantların üzerine 5ml soğuk etanol ilave edilir.
16. EtOH'lü tüpleri iyice alt üst ederek, DNA sarmalının oluşumu gözlenir.
17. Bioloop ile oluşan DNA sarmalı alınır. Kuruması için 5 - 10 dk bekletilir.
18. Kuruyan DNA'lar ependorfların içine aktarılarak DNA'nın büyüklüğüne göre 200/300µL steril distile su ilave edilir.
19. 60°C' de 1 gece etüvde inkübe edilir.
20. Çözünen DNA'lar +4°C'de saklanır.

3.2. DNA Örneklerinde PCR Uygulaması

Her bireyin hOGG1 allellerini tanımlamada polimeraz zincir reaksiyonu – restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (Polimerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism = PCR-RFLP) yöntemleri kullanılmıştır. Bir DNA bölümü, yapı ve işlevinin tanımlanması ya da patojenik bir mutasyonun gösterilmesi amacıyla inceleneği zaman başlangıç materyali yeterli olmaz¹⁶⁴. Bu nedenle polimorfizmin araştırılacağı gen bölgesinin belirli bir kısmı, mutasyonlu bölgeyi de içine alacak şekilde PCR tekniği ile çoğaltılır. PCR yöntemi ilk kez 1985 yılında Mullis tarafından tanımlanmış ve günümüze kadar birçok defa geliştirilerek kullanılmıştır¹⁶⁵. DNA örnekleri; analizi yapılacak olan genin belirli bölgesinin çoğaltılmasını sağlayan in vitro DNA sentezi yöntemi olan şartları ayarlanmış PCR'a uygulanır. Yöntemin esası; yüksek ısı uygulamasıyla çift sarmallı DNA'nın denatüre olması (denatürasyon), spesifik oligonükleotid primerlerin komplementeri oldukları zincire bağlanmaları (annealing) ve ısıya dayanıklı DNA polimeraz enzimi olan Taq DNA polimeraz ile uzamalarından oluşan DNA replikasyon mekanizmasına dayanmaktadır. Karahalil ve Aygün'ün çalışması modifiye edilerek uygulanmıştır¹³⁶.

3.2.1. DNA Amplifikasyonu İçin Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Reverse Primer: 5'-TGAATTCGGAAGGTGCTTGGGGAAT-3' (lontek)
- Forward Primer: 5'-ACTGTCACTAGTCTCACCAG-3' (lontek)
- 100mM dATP (Fermentas, dNTP Set)
- 100mM dGTP (Fermentas, dNTP Set)

- 100mM dTTP (Fermentas, dNTP Set)
- 100mM dCTP (Fermentas, dNTP Set)
- 5U/μl Taq DNA polimeraz (Fermentas)
- 10X Taq Buffer (NH₄)₂SO₄ (Fermentas)
- 25mM MgCl₂ (Fermentas)
- Steril su (AppliChem)

3.2.2. DNA Amplifikasyonu İçin Kullanılan Alet ve Cihazlar

- PCR aleti (Thermal Cyclers - Techne)
- Mikrosantrifüj (Spectrafuge 24D – Labnet)
- Ependorf tüpü (0,5 ml'lik)
- Ependorf tüpü (1,5ml'lik)
- Mikropipetler
- Mavi, sarı ve beyaz mikropipet uçları

3.2.3. DNA Amplifikasyonu İçin Kullanılan Çözeltiler

10mM dNTP çözeltisi: 100mM'lık dATP, dGTP, dTTP ve dCTP nükleotid stok çözeltilerinden 20'şer μl alınarak, üzerlerine 120 μl steril su ilave edilir. Karıştırılıp -20⁰C'de saklanır.

18 pmol/μl R ve F Primer çözeltisi: 122.3 pmol/μl konsantrasyonunda stok R ve 105 pmol/μl konsantrasyonunda stok F primerleri steril su ile 18 pmol/μl konsantrasyona dilüe edilerek -20⁰C'de saklanır.

3.2.4. PCR Protokolü

DNA izolasyonu ile elde edilen DNA'lar hOGG1 geninin analizi yapılacak bölgesinin çoğaltılması için polimeraz zincir reaksiyonuna tabi tutulur. (Şekil 18) Bu amaçla her bir örnek için; 0,2mM dNTP, 1,5mM MgCl₂, 0,3pmol R primeri, 0,3pmol F primeri, 1X Mg içermeyen Taq buffer,

22,4µl steril su, 1U Taq DNA polimeraz ve 1µl DNA örneği eklenerek 30µl hacimlik karışım elde edilir. Bu karışım PCR cihazına (thermal cycler) koyularak tanımlanmış DNA sekansının in vitro ortamda sayısının geometrik olarak artması sağlanır.

Amplifikasyon şartları; ilk basamak denatürasyon için 94°C'de 2 dakika, 33 döngü devam edecek denatürasyon için 94°C'de 15 saniye, bağlanma (annealing) için 60°C'de 30 saniye ve uzama (extention) için 72°C'de 35 saniyedir. Bir siklus olan son uzama aşaması ise 72°C'de 10 dakika olarak uygulanır.

8941 ccctgttccc caaggactct tccacctccc aac[actgtca ctagtctcac cagccctgac](#)

9001 cccagtgtac cctcctcccc acacagactc caccctccta caggtgctgt ttagtgccga

9061 cctgcgcca tccgcatg ctcaggagcc accagcaaag cgcagaaagg gttccaaagg

9121 gccggaaggc tagatggggc accctggaca aagaa[attcc ccaagcacct tcccctcat](#)

Şekil 18 : PCR yöntemi ile çoğaltılması istenen 207bp'lik gen sekansı

3.2.5. PCR Amplifikasyon Ürünlerinin Kontrolü

Sulu bir çözelti içinde, küçük elektrik yüklü parçacıkların, uygulanan bir elektrik alanının etkisi ile göç etmesi sürecine elektroforez denir. DNA'nın negatif yüklü olması katottan anota doğru ilerlemesine neden olur. Aynı jele büyüklüğü bilinen bir belirtecin konulmasıyla elektroforez sonunda oluşan bantların konumları karşılaştırılarak bilinmeyen DNA'nın büyüklüğüne ulaşılabilir¹⁶⁶. Jel olarak genellikle agaroz jel kullanılmaktadır.

3.2.5.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Agaroz (Prona Basic Agarose)
- Etidium Bromide (Sigma)
- Trizma Baz (Sigma Kat. No: T-1503)
- Etilendiamin Tetra Asetik Asit (EDTA) (Sigma Kat. No: ED2SS)
- Borik asit (Sigma Kat. No: B-0252)
- 100bp'lik DNA ladder (GeneRuler - Fermentas)
- Boya çözeltisi (6X) (loading dye solution) (GeneRuler - Fermentas)

3.2.5.2. Kullanılan Aletler ve Cihazlar

- Elektroforez güç kaynağı (Therma EC 250)
- Elektroforez tankı (Maxicell Primo)
- Jel kalıbı
- Jel tarakları
- Mikrotiter kabı
- Jel maskeleme bandı (Sigma Kat. No:T-6656)
- UV-transilluminatör
- Hassas Terazı (Schimadzu AW 320)
- Mikropipetler
- Mikropipet uçları
- Mikrodalga fırın

3.2.5.3. Kullanılan Çözeltiler

TBE Tamponu (10X): Trizma bazdan 108g, borik asitten 55g, EDTA'dan 9,3g tartılarak 1 litreye distile su ile tamamlanır. Çözeltinin pH'sı 8,3'e ayarlanarak otoklavda steril edilir ve oda sıcaklığında saklanır.

TBE Tamponu (1X): 100ml (10X) TBE tampon çözeltisi üzerine 900ml steril distile su eklenerek oda sıcaklığında saklanır.

%2'lik agaroz çözeltisi: 1g agaroz tartılarak üzerine 50 ml (1X) TBE tamponu ilave edilir. Mikrodalgada kaynatılarak çözünmesi sağlanır.

DNA ladder (belirteç) çözeltisi: 10µl 0,5µg/ml DNA ladder, 10µl (6X) yükleme boya çözeltisi (loading dye solution) ve 40µl steril distile su karıştırılarak buzdolabında saklanır.

3.2.6. Jelin Hazırlanması

%2'lik agaroz çözeltisi soğumadan önce üzerine 7µl EtBr eklenerek karıştırılır. Bu karışım tarakları yerleştirilmiş jel kalıplarına hava kabarcığı kalmayacak şekilde dökülerek donması beklenir.

3.2.7. PCR Ürünlerinin Jele Uygulanması ve Elektroforez

PCR işlemi bitiminde, polimorfizmin yer aldığı istenilen dizinin amplifikasyonunun doğru olarak gerçekleştiğini kontrol etmek amacıyla pcr ürünleri jele tatbik edilir. Jel (1X) TBE tamponu içeren elektroforez tankına alınır. Mikrotiterin godelerine her bir örnek için 1,5µl (6X) boya çözeltisi ve 7µl pcr ürünü eklenerek pipetaj yapıp jelin boşluklarına uygulanır. Ayrıca

bir boşluğa da oluşan ürünün uzunluğunu ölçmek amacıyla DNA ladder yüklenir. Elektroforez tankı 110V akıma 20 dakika süre ile bağlanır. İşlem sonunda, çoğaltılan 207bp'lik bantlar marker ile karşılaştırılarak UV-transilluminatörde kontrol edilir.

3.3. OGG1 Ser326Cys Genotipinin Belirlenmesi (RFLP)

RFLP yönteminde; spesifik primerler kullanılarak amplifiye edilen genomik DNA'nın belirli bir bölgesi, araştırılacak mutasyona özgü olan restriksiyon endonükleaz enzimi ile muamele edilerek kesilir¹⁶⁷. Gen bölgesindeki bir nokta mutasyonu restriksiyon enzimi için tanıma bölgesi yaratarak amplifiye DNA'nın o noktadan kesilmesine neden olur. Kesim ürünleri, DNA parçasının büyüklüğüne göre belirli bir konsantrasyondaki agaroz ya da poliakrilamid jelde elektroforez işlemine tabii tutulur.

3.3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- SatI (Fnu4HI) Restriksiyon Enzimi 10U/μl (Fermentas)
 - (10X) Tampon G Çözeltilisi
- 5'...G C ↓ N G C...3'
3'...C G N ↑ C G...5'

3.3.2. Kullanılan Alet ve Cihazlar

- 0,5 ml'lik ependorf
- Mikropipetler
- Mikropipet uçları
- Etüv

3.3.3. PCR Ürününün Enzim İle Kesilmesi

hOGG1 PCR ürünlerinde 1245. bazdaki C→G transversiyonu SatI enzimi için restriksiyon bölgesi oluşturur, böylece RFLP yöntemi ile Ser326Cys değişimi belirlenebilir. Bu amaçla, ependorfa her bir örnek için 13,7μl steril su, 5μl pcr ürünü, 1μl tampon G çözeltisi ve 0,3μl SatI enzimi eklenerek 37°C'de etüvde 16 saat inkübasyona bırakılır.

8941 ccctgttccc caaggactct tccacctccc aacactgtca ctagtctcac cagccctgac

9001 cccagtgtac cctcctcccc acacagactc caccctccta caggtgctgt ttagtgccga

gc Ngc (N=c enzimin tanıma bölgesi 'gccgc')100bp/107bp

9061 cctgcgcaa **tc**c/cgccatg ctcaggagcc accagcaaag cgcagaaagg gttccaaagg

9121 gccggaaggc tagatggggc accctggaca aagaaattcc ccaagcacct tccccctcat

Şekil 19 : Restriksiyon enzimi uygulanan 207 bp'lik gen sekansı
Kırmızı ile işaretlenmiş sitozin bazı C/G tek nokta polimorfizmine sahip ise, enzim için tanıma bölgesi oluşmuş olur ve kesilir.

3.3.4. Kesim Ürünlerinin Jele Uygulanması

3.3.4.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Agaroz (Prona gamma micropor agarose)
- Etidium Bromide (Sigma)
- Trizma Baz (Sigma Kat. No: T-1503)
- Etilendiamin Tetra Asetik Asit (EDTA) (Sigma Kat. No: ED2SS)
- Borik asit (Sigma Kat. No: B-0252)
- 100bp'lik DNA ladder (Fermentas)
- Boya çözeltisi (6X) (loading dye solution) (GeneRuler - Fermentas)

3.3.4.2. Kullanılan Aletler ve Cihazlar

- Elektroforez güç kaynağı (Therma EC 250)
- Elektroforez tankı (Maxicell Primo)
- Jel kalıbı
- Jel tarakları
- Mikrotiter kabı
- Jel maskeleme bandı (Sigma Kat. No:T-6656)
- UV-transilluminatör
- Hassas Terazı (Schimadzu AW 320)
- Mikropipetler
- Mikropipet uçları
- Mikrodalga fırın

3.3.4.3. Kullanılan Çözeltiler

TBE Tamponu (10X): Trizma bazdan 108g, borik asitten 55g, EDTA'dan 9,3g tartılarak 1 litreye distile su ile tamamlanır. Çözeltinin pH'sı 8,3'e ayarlanarak otoklavda steril edilir ve oda sıcaklığında saklanır.

TBE Tamponu (1X): 100ml (10X) TBE tampon çözeltisi üzerine 900ml steril distile su eklenerek oda sıcaklığında saklanır.

%3'lük agaroz çözeltisi: 1,5 g agaroz tartılarak üzerine 50 ml (1X) TBE tamponu ilave edilir. Mikrodalgada kaynatılarak çözünmesi sağlanır.

DNA ladder (belirteç) çözeltisi: 10µl 0,5µg/ml DNA ladder, 10µl (6X) yükleme boya çözeltisi (loading dye solution) ve 40µl steril distile su karıştırılarak buzdolabında saklanır.

3.3.5. Jelin Hazırlanması

%3'lük agaroz çözeltisi soğumadan önce üzerine 7µl EtBr eklenerek karıştırılır. Bu karışım tarakları yerleştirilmiş jel kalıplarına hava kabarcığı kalmayacak şekilde dökülerek donması beklenir.

3.3.6. Kesim Örneklerinin Jele Uygulanması ve Elektroforez

Kesim işlemi bitiminde, tek nokta mutasyonunun yer aldığı baz restriksiyon enziminin tanıma bölgesine uyduğu için kesilecek ve normal DNA'dan farklı uzunlukta DNA parçası oluşturacaktır. Bireyin Ser/Ser, Ser/Cys ve Cys/Cys genotiplerinden hangisine sahip olduğunu belirlemek amacıyla kesim ürünleri jele tatbik edilir. Jel (1X) TBE tamponu içeren elektroforez tankına alınır. Mikrotiterin godelerine her bir örnek için 2 µl (6X) boya çözeltisi ve 7µl kesim ürünü eklenerek pipetaj yapıp jelin boşluklarına uygulanır. Ayrıca bir boşluğa da oluşan ürünün uzunluğunu ölçmek amacıyla DNA ladder yüklenir. Elektroforez tankı 110V akıma 20 dakika süre ile bağlanır. İşlem sonunda, bantlar UV-transilluminatörde belirteç ile karşılaştırılarak kontrol edilir. Restriksiyon enzimi ile kesilen DNA parçası; Ser/Ser genotipinde 207 bp uzunluğunda tek banta, Ser/Cys genotipinde 207, 107 ve 100 bp uzunluğunda üç banta, Cys/Cys genotipinde ise 107 ve 100 bp uzunluğunda iki banta sahiptir. Ancak %3'lük agaroz jel ile 107 ve 100 bp'lik bantların birbirinden ayrılması mümkün olmadığından; işlem sonunda UV-transilluminatörde Ser/Ser için 207 bp'lik tek bant, Ser/Cys için 207 ve 107 bp'de iki bant, Cys/Cys için ise sadece 107 bp'de tek bantın görülmesiyle değerlendirme sorunsuzca yapılmaktadır.

3.4. İdrarda 8-OHdG Tayini

İdrarda 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin kantitasyonu yapmak amacıyla ELISA yöntemi kullanılmıştır. (StressXpress DNA Damage ELISA Kit, EKS-350, Stressgen) ELISA yöntemi son yıllarda pahalı ekipmanlara ihtiyaç duyulmaksızın (ELISA reader hariç) kısa sürede, ucuz ve az miktarda örnek ile çalışılabilen bir yöntem olması sebebiyle diğer yöntemlerden üstünlük sağlamıştır¹⁶⁸. Ancak kit ile 8-OHdG'nin yanı sıra 8-hidroksiguanozin (oksidatif RNA hasarının ürünü) ve 8-hidroksiguanin (OH radikali tarafından oluşan oksidatif DNA hasarının ürünü) maddelerinin de saptanması özgünlüğünü azaltmaktadır. ELISA kitinde; 8-OHdG monoklonal antijeninin (Anti-8-OHdG) örnek, standart veya önceden plakanın kuyucuklarına bağlanmamış 8-OHdG'lere yarışmalı olarak bağlanma özelliğinden yararlanılmaktadır. Standart veya örnekteki 8-OHdG'e bağlanan antijenlerin yıkanması ile sadece sabit 8-OHdG'ler kuyucukta kalır ve bunlar ikinci bir antijen (Anti-Mouse IgG:HRP Conjugate) varlığında belirlenir. Tekrar yıkama işlemi sonunda bağlanmamış ikincil antijenler de uzaklaştırılarak ve ortama katılan kromojen substrat ile renk oluşumu gözlenir ve daha sonra spektrofotometrik tayin yapılır.

3.4.1. ELISA Kitinin İçeriği

- 8-OHdG Immunoassay Plate
- 8-OHdG Standard
- Sample Diluent
- 20X Wash Buffer
- Anti-8-OHdG
- Antibody Diluent
- Anti-Mouse IgG:HRP (Horseradish peroxidase) Conjugate
- HRP Conjugate Diluent
- TMB (tetramethylbenzidine) Substrate
- Stop Solution 2

3.4.2. Kullanılan Çözeltiler

(1X) Yıkama Çözeltisi: (20X) Yıkama çözeltisinden 50ml alınarak 1000ml'ye distile su ile dilüe edilir.

Anti-8-OHdG Çözeltisi: 20µl "Anti-8-OHdG" çözeltisi "Anti-8-OHdG dilüent"i ile 5ml'ye tamamlanır.

Anti-mouse IgG:HRP Konjugat Çözeltisi: 22µl “Anti-mouse IgG:HRP Conjugate” çözeltisi “HRP Conjugate Diluent” ile 11ml’ye tamamlanır.

3.4.3. 8-OHdG Standartlarının Hazırlanması

Kalibrasyon eğrisi elde etmek amacıyla “8-OHdG standart” stok çözeltisi (10µg/ml) kullanılarak , 0,94-60 ng/ml aralığında 7 farklı konsantrasyonda (0,94; 1,875; 3,75; 7,5; 15; 30 ve 60 ng/ml) çözelti “sample diluent” çözeltisi yardımıyla hazırlanır. Ayrıca bir ependorfa da sadece sample diluent koyarak konsantrasyonu 0 ng/ml olan kör de hazırlanır.

3.4.4. 8-OHdG Ölçümü Yapılacak Örneklerin Hazırlanması

Örnekler santrifüjlenerek süpernatant kısmı kullanılır. İdrar 1:20 (v/v) oranında “sample diluent” çözeltisi ile seyreltilerek hazırlanır.

3.4.5. Deney Protokolü

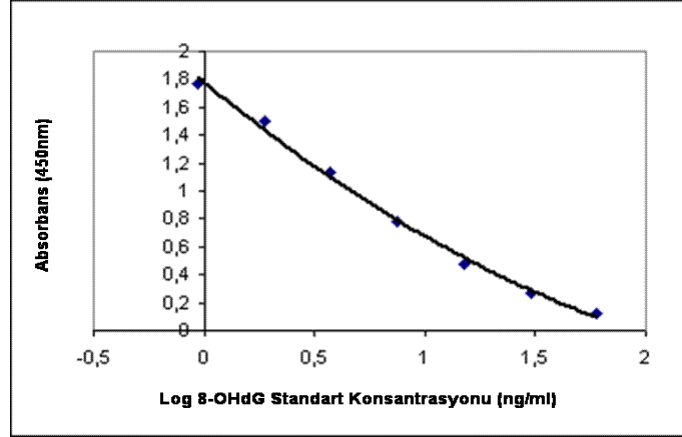
Önceden 8-OHdG : BSA (Bovin Serum Albumin) konjugatı ile kaplanmış olan kuyucuklara standartlar, kör ve 8-OHdG miktar tayini yapılacak idrar örneklerinden 50µl eklenir. Kör hariç diğerlerinin üzerine 50µl Anti-8-OHdG (8-OHdG için spesifik monoklonal antikor) eklenerek oda ısısında 1 saat inkübe edilir. Plakalar (1X) yıkama çözeltisi ile 6 kez yıkandıktan sonra Anti-Mouse IgG:HRP Conjugate çözeltisinden 100µl, yine kör hariç her bir kuyucuğa eklenerek oda ısısında 1 saat inkübe edilmeye bırakılır. Plakalar tekrar yıkama çözeltisi ile 6 kez yıkandıktan sonra 100µl tetrametilbenzidin (TMB) substratı eklenerek karanlıkta 15 dakika bekletilir. Daha sonra 100µl asit stop solüsyonu ile reaksiyon sona erdirilerek, ELISA okuyucuda 450nm dalga boyunda absorbanı ölçülür. Standartlar yardımıyla elde edilen kalibrasyon eğrisinden ortaya çıkan denklem aracılığı ile örnek absorbanları kullanılarak konsantrasyonlar hesaplanmaktadır.

Oksidatif hasarın biyogöstergesi olan idrarda 8-OHdG atılım düzeylerinin ölçülmesi amacıyla üç adet ELISA kiti kullanılmış ve çalışmada standartlardan elde edilen kalibrasyon eğrileri ve denklemleri aşağıda belirtilmiştir.

1.ELISA kiti:

$$y = 0,2 x^2 - 1,3x + 1,78$$

$$r^2 = 0,9952$$

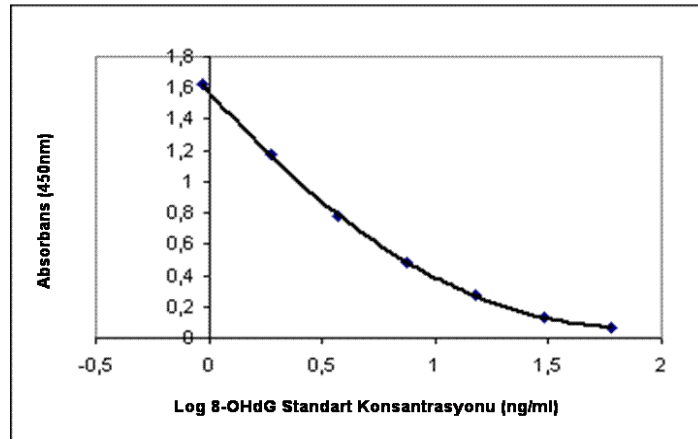


Şekil 20 : 8-OHdG logaritmik kalibrasyon eğrisi-1

2. ELISA kiti:

$$y = 0,44x^2 - 1,63 x + 1,58$$

$$r^2 = 0,9999$$

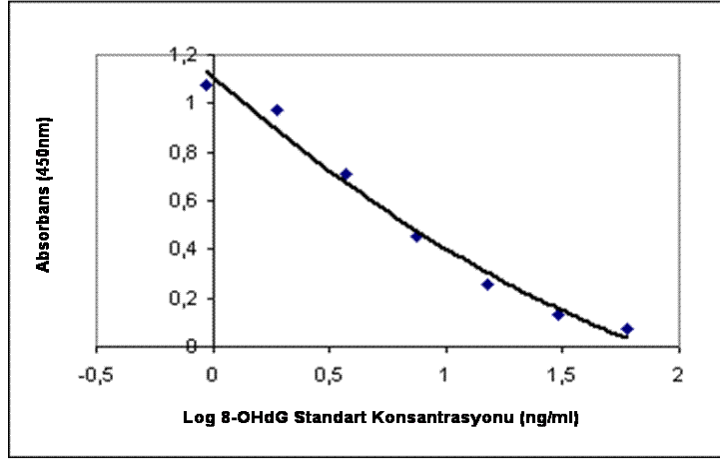


Şekil 21 : 8-OHdG logaritmik kalibrasyon eğrisi-2

3. ELISA Kiti:

$$y = 0,13 x^2 - 0,84 x + 1,11$$

$$r^2 = 0,9838$$



Şekil 22 : 8-OHdG logaritmik kalibrasyon eğrisi-3

3.5. İdrarda Kreatinin Analizi

8OHdG tayininde bireylerden numune olarak 24 saatlik idrar toplamanın zor bir işlem olması sebebiyle spot idrar örneği kullanılmıştır. İdrardan 8OHdG atılımı, bireylerin örneklerinde idrar dilüsyonlarının farklı olması gibi birçok faktörden etkilenirken 24 saatlik kreatinin atılımının her hasta için hemen hemen sabit olması nedeniyle spot idrardaki 8OHdG atılımının kreatinin ile oranlanarak değerlendirilmesi gerekmektedir¹⁶⁹. Kreatinin; kaslarda enerji kaynağı olarak görev alan kreatin fosfatın yıkım ürünü olup idrarla atılan bir bileşiktir¹⁷⁰. Bu çalışmada idrar kreatinin düzeyleri spektrofotometrik yöntemle ölçülmüştür. Yöntem; alkali ortamda kreatinin pikrik asit ile renk reaksiyonu vermesi ve bunun spektrofotometri ile 520 nm'de ölçülmesi esasına dayanmaktadır.

3.5.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Kreatinin (Sigma Kat. No: c4255)
- Sodyum Hidroksit (Merck Kat. No: 6498)
- Pikrik asit (Merck Kat. No:623)
- Hidroklorik asit (Merck)

3.5.2. Kullanılan Aletler ve Cihazlar

- Cam deney tüpü
- Ependorf
- Otomatik pipet (10-100 μ l, 100-1000 μ l, 1000-5000 μ l)
- Pipet ucu
- Karıştırıcı (MK 418)
- Hassas terazi (Schimadzu AW 320)
- Santrifüj (Spectrafuge 24D – Labnet)
- Vorteks
- Spektrofotometre

3.5.3. Kullanılan Çözeltiler

Pikrik asit çözeltisi: 5,875g pikrik asit distile su ile 500ml'ye tamamlanır. Ultrasonik banyoda çözülür.

%10 NaOH: 10g NaOH distile su ile 100ml'ye tamamlanır.

0,1N HCl: 2,13ml HCl distile su ile 250ml'ye tamamlanır.

Stok kreatinin çözeltisi: (1mg/ml) 25mg kreatinin 0,1N HCl ile 25ml'ye tamamlanır.

Seyreltik kreatinin çözeltisi: (1mg/100ml) 1ml stok kreatinin çözeltisi 0,1N HCl ile 100ml'ye tamamlanır.

3.5.4. Kreatinin Standartlarının Hazırlanması

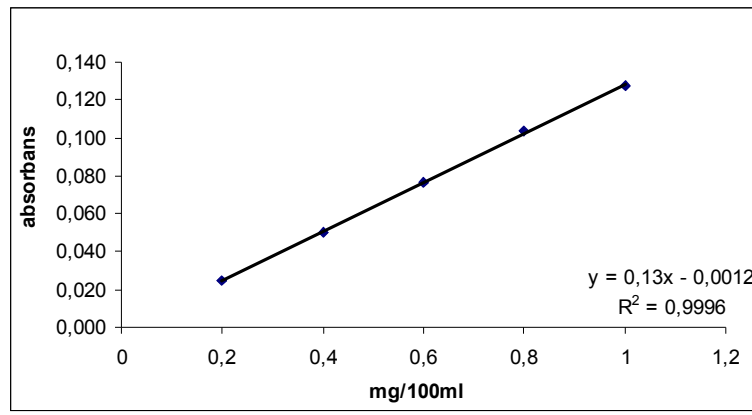
Kalibrasyon eğrisi elde etmek amacıyla seyreltik kreatinin çözeltisi (1mg/100ml) kullanılarak 0,2–1 mg/100ml aralığında 5 farklı konsantrasyonda (0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0 mg/100ml) 5ml çözelti distile su ile hazırlanır. Ayrıca bir tüpe de sadece su koyarak konsantrasyonu 0 mg/100ml olan kör hazırlanır.

3.5.5. Kreatinin Ölçümü Yapılacak Örneklerin Hazırlanması

İdrar örneklerinden 1ml alınarak ependorflara koyulur ve 3000rpm'de 10 dakika santrifüjlenir. Süpernatant kısmından 50 μ l idrar alınarak deney tüpünde 5ml'ye distile su ile tamamlanır.

3.5.6. Deney Protokolü

5ml standart ve örnek çözeltilerin üzerine 0,5ml %10 NaOH çözeltisi ve 2,5ml pikrik asit çözeltisi eklenerek vortekslenir. 10 dakika beklenerek spektrometrede 520nm'de köre karşı okunur. Standartlar yardımıyla elde edilen kalibrasyon eğrisinden ortaya çıkan denklem aracılığı ile örnek absorbansları kullanılarak konsantrasyonlar hesaplanmaktadır. Standartlardan elde edilen kalibrasyon denklemi ve eğrisi aşağıdadır.



Şekil 23 : Kreatinin ölçümü için kalibrasyon denklemi ve eğrisi

3.6. İstatistiksel Analiz

Verilerin analizi SPSS 11.5 paket programında yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler sürekli değişkenler için ortalama $\pm$ standart hata biçiminde kategorik değişkenler ise gözlem sayısı ve (%) şeklinde gösterildi. Bağımsız gruplar arasında ortalamalar yönünden farkın anlamlılığı bağımsız grup sayısı iki olduğunda Mann Whitney U testiyle, bağımsız grup sayısı ikiden fazla olduğunda Kruskal Wallis testiyle incelendi. Kruskal Wallis test istatistiğinin anlamlı görüldüğü yerlerde farka neden olan grubu belirlemek amacıyla Kruskal Wallis çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. Grup içi karşılaştırmalarda sonuçlar Bonferroni Düzeltmesine göre verildi. Kategorik karşılaştırmalar için Khi-Kare (Chi-Square) veya Fisher'in Kesin (Fisher's Exact) testi kullanıldı. Kanseri olmayı etkileyen genotiplerin referans kategoriye göre kansere yakalanma riskini ne yönde etkilediğini tespit etmek amacıyla Lojistik Regresyon analizi kullanıldı. Ortaya çıkan risk düzeylerini yaş, cinsiyet ve sigaraya göre düzeltmek amacıyla Çoklu Lojistik Regresyon (Multiple Logistic Regression) analizi kullanıldı. Bağımsız risk faktörlerine ilişkin Odds Oranları, %95 güven aralıkları ve anlamlılık düzeyleri saptandı. $p < 0,05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. OGG1 Ser326Cys Polimorfizmi

4.1.2. Demografik bulgular

Türk populasyonunda akciğer kanserli hastalarda OGG1 Ser326Cys genetik polimorfizminin belirlenmesi amacıyla 165 birey (20 kadın ve 145 erkek) incelenmiştir. Kontrol grubu 250 (83 kadın ve 167 erkek) bireyden oluşmuştur. Kontrol ve akciğer kanserli hasta grubuna ait yaş ortalamaları sırasıyla $53,19 \pm 0,75$ ve $56,99 \pm 0,79$ 'dur.

Gruplar vücut kütle indeksleri (BMI) açısından karşılaştırıldığında kontrol grubunun BMI'i $27,16 \pm 0,29$; hasta grubunun ise $24,94 \pm 0,35$ 'tir. Kontrol grubu hasta grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p = 0,0001$).

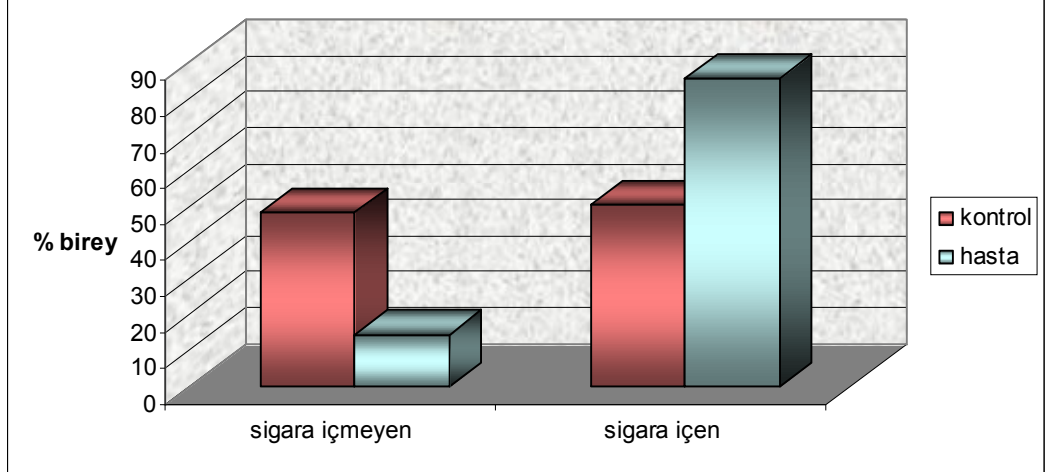
Tablo 4 : OGG1 Ser326Cys genotipleme yapılan grupların demografik özellikleri

Gruplar		Kontrol	Hasta	p	SCLC	NSCLC	p
Yaş (ort $\pm$ SH)		$53,19 \pm 0,75$	$56,99 \pm 0,79$	0,0001*	$57,79 \pm 1,42$	$56,58 \pm 0,98$	>0,05
Cinsiyet	Kadın	83 (%33,2)	20 (%12,1)		6 (%15,8)	14 (%11,7)	
	Erkek	167 (%66,8)	145 (%87,9)		32 (%84,2)	106 (%88,3)	
BMI (ort $\pm$ SH)		$27,16 \pm 0,29$	$24,94 \pm 0,35$		$25,25 \pm 0,86$	$24,87 \pm 0,38$	
Sigara	İçmeyen	121 (%48,4)	24 (%14,5)		5 (%13,2)	19 (%15,8)	
	İçen	126 (%50,4)	141 (%85,5)		33 (%86,8)	101 (%84,2)	
Sigara içen	≤ 20 adet/gün	80 (%62)	70 (%49,6)		20 (%60,6)	47 (%46,5)	
	> 20 adet/gün	26 (%20,2)	64 (%45,4)		13 (%39,4)	48 (%47,5)	

*İstatistiksel olarak anlamlıdır.

Uygulanan anketlerden çıkan sonuçlara göre; kontrol ve hasta grubunda ailesinde kalıtsal hastalık, kanser öyküsü bulunma oranlarında fark olmadığı gözlenmiştir ($p=0,768$). Kontrol grubunda 197 bireyde (%78,8) hem kalıtsal hastalık hem de kanser açısından herhangi bir aile öyküsü yokken, 53 bireyde (%21,2) olduğu; hasta grubunda ise 132 bireyde (%80) aile öyküsü yokken 33 bireyde (%20) aile öyküsü olduğu belirlenmiştir.

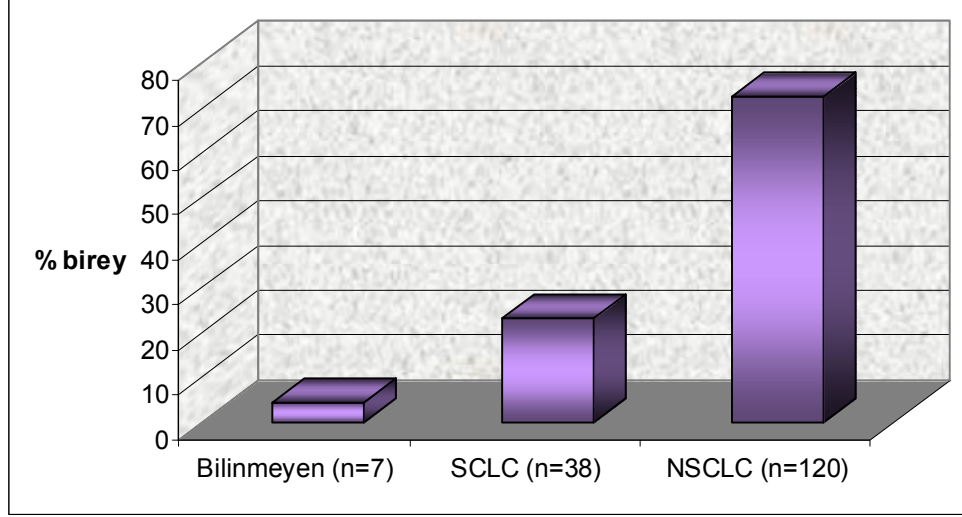
Grupların sigara alışkanlıkları değerlendirildiğinde; kontrol grubunu oluşturan bireylerin 121 tanesi (%48,4) sigara içmiyorken, 126 tanesi (%50,4) sigara içmekte; kanser hastalarında ise; 24 tanesi (%14,5) sigara içmiyorken, 141 tanesi (%85,5) sigara içmektedir. Sigara içenleri, kendi aralarında günde bir paket ve daha az sigara ve günde bir paketten fazla sigara şeklinde ayırdığımızda; kontrol grubunda 80 birey (%62) günde bir paketten az, 26 birey (%20,2) günde bir paketten fazla sigara içmektedir. Kanserli grupta ise; 70 birey (%49,6) günde bir paketten az sigara içerken, 64 birey (%45,4) günde bir paketten fazla sigara içmektedir ($p= 0,0001$).



Şekil 24 : Kontrol ve hasta gruplarında sigara alışkanlıkları ($p=0,0001$)

Akciğer kanserli hastalar histolojik alt tiplerine göre SCLC ve NSCLC olarak iki gruba ayrılmaktadır. Kanserli hasta grubunu oluşturan bireylerin 120'si (%72,7) NSCLC, 38'i (%23) SCLC ve geriye kalan 7 kişi (%4,2) ise patolojik bilgisi mevcut olmadığı için herhangi bir gruba dahil edilememiştir. Akciğer kanserinde NSCLC görülme sıklığı, SCLC'ye göre anlamlı olarak fazladır ($p=0,0001$). NSCLC ve SCLC grupları arasında yaş, cinsiyet, BMI, sigara alışkanlığı, içilen sigara miktarı, aile öyküsü ve

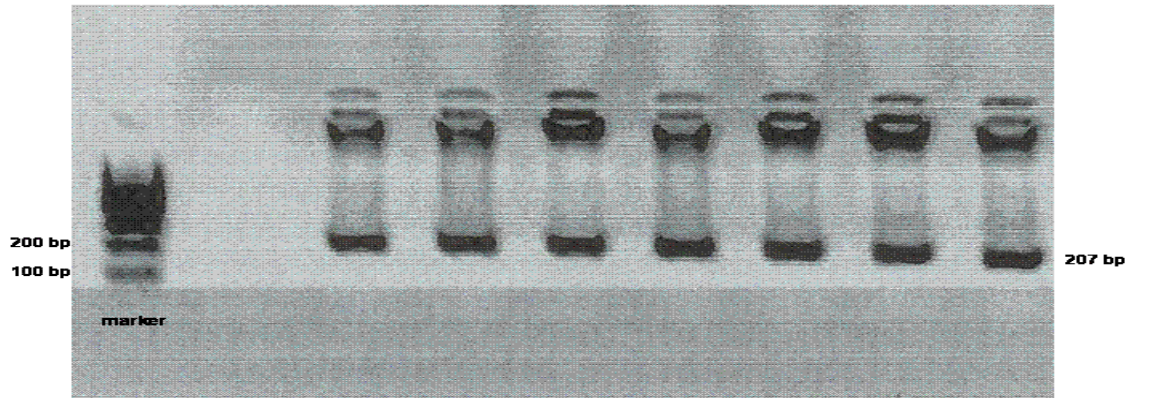
diyet alışkanlığı özellikleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir.



Şekil 25 : Akciğer kanseri histolojik alt tip dağılımı (p=0,0001)

4.1.3 OGG1 Ser326Cys Genotip Analizleri

İzole edilen DNA'lar; OGG1 Ser326Cys genotiplemesini yapmak için gerekli olan belirlenmiş baz dizisinin çoğaltılması amacı ile PCR'a uygulanmıştır. Şekil 26'da OGG1'nin PCR uygulaması sonucunda elde edilen 207 bp büyüklüğündeki ürünler görülmektedir.



Şekil 26 : 207 bp'lik PCR ürünleri

OGG1 Ser326Cys genotipinin belirlenmesi amacıyla PCR ürünleri Sat I restriksiyon enzimi ile kesilmiştir. Kesim sonucunda ürünlerin %3'lük agaroz jele yüklenmesiyle; Ser326Ser genotipi için 207bp'de tek bant, Ser326Cys genotipi için 207bp ve 107 bp'de iki bant, Cys326Cys genotipi için ise 107 bp'de tek bant görülmektedir.



Şekil 27 : Restriksiyon enzimi ile oluşan kesim ürünleri

Yapılan genotipleme çalışmasının ardından Ser/Ser, Ser/Cys ve Cys/Cys genotip frekansları kontrol grubunda sırasıyla %46; %42,4 ve %11,6; hasta grubunda ise %52,1; %39,4 ve %8,5 bulunmuştur. Hasta ve kontrol grubunda heterozigot varyant genotipi dağılımında anlamlı bir fark bulunmadığı ve hasta - kontrol arasında Ser326Cys polimorfizminin akciğer kanseri riskinde bir faktör olacağını gösterecek anlamlı bir sonuç bulunamamıştır. (Ser/Cys OR=0,82; %95 CI=0,541-1,244; p=0,350) Homozigot varyant genotipi dağılımında da heterozigot varyant genotipi gibi anlamlı bir fark bulunmamakla birlikte riskte de istatistiksel olarak anlamlı bir sonuca varılamamıştır (Cys/Cys OR=0,65; %95 CI=0,322-1,295; p=0,218). İstatistiksel olarak yaş, cinsiyet ve sigara içme alışkanlıklarına göre düzeltme yapılmasının ardından sonuç hem Ser/Cys hem de Cys/Cys genotipleri için aynı kalmış istatistiksel olarak bir anlamlılık bulunamamıştır.

Tablo 5 : OGG1 Ser326Cys polimorfizmi genotip frekansları dağılımı ve akciğer kanseri riski ilişkisi

Genotip	Kontrol n (%)	Hasta n (%)	OR (CI %95)	p	Düzeltilmiş OR (CI %95)	p
Ser/Ser	115 (%46)	86 (%52,1)	1		1	
Ser/Cys	106 (%42,4)	65 (%39,4)	0,82 (0,541-1,244)	0,35	0,87 (0,551-1,36)	0,531
Cys/Cys	29 (%11,6)	14 (%8,5)	0,65 (0,322-1,295)	0,218	0,59 (0,283-1,235)	0,162

OGG1 allel frekanslarının incelenmesi sonucu kontrol grubunda Ser alleli 0,67; Cys alleli 0,33 bulunurken hasta grubunda Ser alleli 0,72; Cys alleli 0,28 bulunmuştur. Cys allelini taşıyan bireylerin akciğer kanseri risklerinde anlamlı bir değişme olmadığı bulunmuştur (OR=0,80 (%95 CI=0,593-1,089); p=0,159). Allel frekansları dağılımları Hardy-Weinberg eşitliğine göre uyumludur (p=0,546).

Tablo 6 : Kontrol ve hasta grubunda OGG1 Ser326Cys allel frekansları

Allel	Kontrol	Hasta
Ser326	0,67	0,72
Cys326	0,33	0,28

Hasta grubunun NSCLC ve SCLC olarak ayrılmasıyla incelenen genotip frekanslarında, Ser/Ser, Ser/Cys ve Cys/Cys genotip frekansları SCLC hasta grubunda sırasıyla %65,8; %26,3 ve %7,9; NSCLC hasta grubunda ise %49,2; %41,7 ve %9,2 bulunmuştur. Kontrol ve SCLC gruplarının Ser/Cys genotiplerinin karşılaştırılması sonucu, OR 0,43 (%95 CI= 0,199-0,946; p=0,036) bulunurken, yaş, cinsiyet ve sigara özelliklerine göre düzeltme yapıldığında istatistiksel anlamlılık ortadan kalkmıştır (p=0,188). Cys/Cys genotiplerinin karşılaştırılması sonucu ise, anlamlı bir ilişki saptanamamıştır. Kontrol ve NSCLC gruplarının hem Ser/Cys hem de Cys/Cys genotip karşılaştırılmalarında dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür.

OGG1 Ser326Cys polimorfizminin cinsiyete göre dağılımı; kontrol grubunda kadınlarda Ser/Ser %44,6; Ser/Cys %43,4; Cys/Cys %12, erkeklerde Ser/Ser %46,7; Ser/Cys %41,9; Cys/Cys %11,4 bulunmuştur. Hasta grubunda ise kadınlarda Ser/Ser %50, Ser/Cys %45, Cys/Cys %5 iken, erkeklerde Ser/Ser %52,4; Ser/Cys %38,6; Cys/Cys %9 bulunmuştur. Kontrol ve hasta grubu arasında cinsiyete bağlı olarak Ser/Cys ve Cys/Cys genotiplerinde akciğer kanser riski ile ilişki gözlenmemiştir. (Tablo 7)

Tablo 7 : OGG1 Ser326Cys Polimorfizmi ve Akciğer Kanseri Riski İlişkisi

Gruplar		Genotip	Kontrol n (%)	Hasta n (%)	OR (CI %95)	p	Düzeltilmiş OR (CI %95)	p
Histoloji:	SCLC (n=38)	Ser/Ser	115 (%46)	25 (%65,8)	1	0,036* 0,25	1	0,188 0,378
		Ser/Cys	106 (%42,4)	10 (%26,3)	0,43 (0,199-0,946)		0,56 (0,232-1,331)	
		Cys/Cys	29 (%11,6)	3 (%7,9)	0,48 (0,134-1,686)		0,55 (0,145-2,078)	
	NSCLC (n=120)	Ser/Ser	115 (%46)	59 (%49,2)	1	0,72	1	0,980
		Ser/Cys	106 (%42,4)	50 (%41,7)	0,92 (0,580-1,456)	0,437	1,01 (0,602-1,683)	0,355
		Cys/Cys	29 (%11,6)	11 (%9,2)	0,74 (0,345-1,584)		0,68 (0,299-1,542)	
Cinsiyet:	Kadın	Ser/Ser	37 (%44,6)	10 (%50)	1	0,880 0,369	1	0,878 0,371
		Ser/Cys	36(%43,4)	9 (%45)	0,93 (0,337-2,541)		0,92 (0,335-2,548)	
		Cys/Cys	10 (%12)	1(%5)	0,37 (0,42-3,244)		0,37 (0,042-3,269)	
	Erkek	Ser/Ser	78 (%46,7)	76 (%52,4)	1	0,413	1	0,507
		Ser/Cys	70 (%41,9)	56 (%38,6)	0,82 (0,512-1,317)	0,370	0,84 (0,503-1,404)	0,304
		Cys/Cys	19 (%11,4)	13 (%9)	0,70 (0,324-1,521)		0,65 (0,288-1,474)	

*İstatistiksel olarak anlamlıdır.

4.1.4. Akciğer kanseri ve OGG1 polimorfizmine sigaranın etkisi

Akciğer kanseri oluşum riskinde sigaranın etkisi göz önüne alınarak hasta ve kontrol grubunda sigara içme alışkanlıklarına göre OGG1 genotip dağılımı incelendiğinde, kontrol grubunda hiç sigara içmemiş bireyler arasında Ser/Ser, Ser/Cys, Cys/Cys genotipleri sırasıyla %45,5; %45,5; %9, sigara içen bireyler arasında %46,8; %38,9; %14,3 olarak gözlenmiştir. Hasta grubunda ise hiç sigara içmemiş bireylerin Ser/Ser, Ser/Cys, Cys/Cys genotip frekansları sırasıyla %50, %45,8; %4,2; sigara içen bireylerin %52,5; %38,3; %9,2 olarak bulunmuştur. Kontrol ve hasta grubu arasında sigara içme alışkanlığına bağlı olarak Ser/Cys ve Cys/Cys genotiplerinde akciğer kanseri ile ilişki gözlenmemiştir.

Sigara içen bireyler arasında kontrol grubunda günde bir paket ve daha az sigara içenlerden %46,3'ü Ser/Ser genotipini, %41,2'si Ser/Cys genotipini, %12,5'i Cys/Cys genotipini taşımaktadır. Hasta grupta ise %47,1'i Ser/Ser genotipini, %45,7'si Ser/Cys genotipini, %7,2'si Cys/Cys genotipini taşımaktadır. Hasta ve kontrol grubunda heterozigot varyant genotipi dağılımında anlamlı bir fark bulunmadığı ve günde bir paket ve daha az sigara içen hasta - kontrol arasında OGG1 Ser326Cys polimorfizminin akciğer kanseri riskini artırdığını gösterecek anlamlı bir sonuca ulaşılmadığı gözlenmiştir. Homozigot varyant genotipi dağılımında da heterozigot varyant genotipi gibi anlamlı bir fark bulunmamakla birlikte riskte de istatistiksel olarak anlamlı bir sonuca varılamamıştır. İstatistiksel olarak yaş ve cinsiyete göre düzeltme yapılmasının ardından sonuç hem Ser/Cys hem de Cys/Cys genotipleri için aynı kalmış anlamlı bir değere ulaşmamıştır. Sigara içen bireyler arasında kontrol grubunda günde bir paketten fazla içenlerden %34,6'sı Ser/Ser genotipini, %42,3'ü Ser/Cys genotipini, %23,1'i Cys/Cys genotipini taşımaktadır. Hasta grupta ise %59,4'ü Ser/Ser genotipini, %28,1'i Ser/Cys genotipini, %12,5'i Cys/Cys genotipini taşımaktadır. Kontrol grubunda heterozigot varyant genotipi taşıyıcılarının oranı hasta grubu ile karşılaştırıldığında yüksek bulunsu da istatistiksel olarak anlamlılığa ulaşmamıştır. Bununla birlikte risk hesaplaması sırasında yaşa ve cinsiyete göre yapılan düzeltmeler sonucunda günde bir paketten fazla sigara içen Ser/Cys genotipine sahip bireylerin akciğer kanserine karşı koruyucu etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Ser/Cys $OR_{\text{düzeltilmiş}}=0,30$; %95 CI=0,095-0,939; $p=0,039$). Homozigot varyant genotipi dağılımında da kontrol grubu hasta grubuna göre yüksek frekansa sahip olmasına rağmen anlamlı değildir. Ancak risk hesaplaması sırasında yaşa ve cinsiyete göre yapılan düzeltmeler sonucunda günde bir paketten fazla sigara içen Cys/Cys genotipine sahip bireylerde istatistiksel olarak akciğer kanseri riskinde düşüş bulunmuştur (Ser/Cys $OR_{\text{düzeltilmiş}}=0,22$; %95 CI=0,055-0,915; $p=0,037$).

Tablo 8 : Akciğer kanseri ve OGG1 polimorfizmine sigaranın etkisi

		Genotip	Kontrol n (%)	Hasta n (%)	OR (CI %95)	p	Düzeltilmiş OR (CI %95)	p
Sigara:	İçmeyen	Ser/Ser	55 (%45,5)	12 (%50)	1		1	
		Ser/Cys	55 (%45,5)	11 (%45,8)	0,92 (0,373-2,253)	0,85	0,87 (0,349-2,166)	0,764
		Cys/Cys	11 (%9)	1 (%4,2)	0,42 (0,049-3,542)	0,423	0,41 (0,048-3,55)	0,419
	İçen	Ser/Ser	59 (%46,8)	74 (%52,5)	1		1	
		Ser/Cys	49 (%38,9)	54 (%38,3)	0,88 (0,524-1,472)	0,623	0,84 (0,487-1,464)	0,547
		Cys/Cys	18 (%14,3)	13 (%9,2)	0,58 (0,261-1,270)	0,172	0,62 (0,266-1,431)	0,26
Sigara içen:	≤20	Ser/Ser	37 (%46,3)	33 (%47,1)	1		1	
		Ser/Cys	33 (%41,2)	32 (%45,7)	1,09 (0,553-2,137)	0,808	1,11 (0,543-2,266)	0,777
		Cys/Cys	10 (%12,5)	5 (%7,2)	0,56 (0,174-1,809)	0,333	0,76 (0,218-2,668)	0,671
	>20	Ser/Ser	9 (%34,6)	38 (%59,4)	1		1	
		Ser/Cys	11 (%42,3)	18 (%28,1)	0,39 (0,136-1,101)	0,075	0,30 (0,095-0,939)	0,039*
		Cys/Cys	6 (%23,1)	8 (%12,5)	0,32 (0,87-1,140)	0,078	0,22 (0,055-0,915)	0,037*

*istatistiksel olarak anlamlıdır.

4.1.5. OGG1 Ser326Cys ve Akciğer Kanseri Riski İlişkisi (Ser/Ser genotipine karşı Ser/Cys+Cys/Cys)

Analizler Ser/Ser genotipine karşı Ser/Cys+Cys/Cys olarak karşılaştırıldığında; Ser/Ser, Ser/Cys+Cys/Cys genotip frekansları kontrol grubunda sırasıyla %46 ve %54, hasta grubunda ise %52,1 ve %47,9 bulunmuştur. Hasta ve kontrol grubunda heterozigot+homozigot varyant genotipi dağılımında anlamlı bir fark bulunmadığı ve hasta - kontrol arasında Ser326Cys polimorfizminin akciğer kanseri riskini artırdığını gösterecek anlamlı bir sonuç bulunamamıştır. Hasta grubunun NSCLC ve SCLC olarak ayrılmasıyla incelenen genotip frekanslarında, Ser/Ser, Ser/Cys+Cys/Cys genotip frekansları SCLC hasta grubunda sırasıyla %65,8 ve %34,2; NSCLC hasta grubunda ise %49,2 ve %50,8 olarak bulunmuştur. SCLC histolojik alt tipinde Ser/Cys+Cys/Cys genotipi Ser/Ser taşıyan bireylerle karşılaştırıldığında akciğer kanseri riskinde anlamlı azalma gözlenmiştir (Ser/Cys+Cys/Cys OR=0,44 (0,217-0,905); p=0,026). Bununla birlikte, yaş, cinsiyet ve sigaraya göre yapılan düzeltmelerin sonucunda anlamlılık ortadan kalkmıştır (Ser/Cys+Cys/Cys OR_{düzeltilmiş}=0,46 (0,215-0,967); p=0,41). Cinsiyetin OGG1 genotiplerine göre akciğer kanserine yaptığı etkinin araştırılması sonucu; hasta grubunda Ser/Cys+Cys/Cys genotiplerinin dağılımının kontrol grubundan farklı olmadığı ortaya çıkmıştır. (Tablo 9)

Tablo 9 : OGG1 Ser326Cys Genotip Dağılımı (Ser/Ser genotipine karşı Ser/Cys+Cys/Cys) ve Akciğer Kanseri Riski İlişkisi

		Genotip	Kontrol n (%)	Hasta n (%)	OR (CI %95)	p	Düzeltilmiş OR (CI %95)	p
Toplam:		Ser/Ser	115 (%46)	86 (52,1)	1		1	
		Ser/Cys + Cys/Cys	135 (54)	79 (%47,9)	0,78 (0,528-1,160)	0,222	0,80 (0,523-1,224)	0,304
Histoloji:	SCLC	Ser/Ser	115 (%46)	25 (%65,8)	1		1	
		Ser/Cys + Cys/Cys	135 (54)	13 (%34,2)	0,44 (0,217-0,905)	0,026*	0,46 (0,215-0,967)	0,41
	NSCLC	Ser/Ser	115 (%46)	59 (%49,2)	1		1	
		Ser/Cys + Cys/Cys	135 (54)	61 (%50,8)	0,88 (0,570-1,362)	0,568	0,88 (0,551-1,395)	0,578
Cinsiyet:	Kadın	Ser/Ser	37 (%44,6)	10 (%50)	1		1	
		Ser/Cys + Cys/Cys	46 (%55,4)	10 (%50)	0,80 (0,303-2,138)	0,662	0,80 (0,301-2,139)	0,660
	Erkek	Ser/Ser	78 (%46,7)	76 (%52,4)	1		1	
		Ser/Cys + Cys/Cys	89 (%53,3)	69 (%47,6)	0,80 (0,510-1,243)	0,315	0,80 (0,492-1,290)	0,355

*İstatistiksel olarak anlamlıdır.

4.1.6. Akciğer kanseri ve OGG1 polimorfizmine sigaranın etkisi (Ser/Ser genotipine karşı Ser/Cys+Cys/Cys)

Sigaranın akciğer kanseri ve OGG1 genotipleri arasındaki ilişki üzerine yaptığı etkiyi anlamak amacıyla; kontrol ve hasta grubunun sigara alışkanlıkları Ser/Ser ve Ser/Cys+Cys/Cys genotipleri ile ilişkilendirilmiş ve hiç sigara içmemiş bireyler arasında kontrol grubunda genotip frekansları sırasıyla %45,5 ve %54,5; hasta grubunda %50 ve %50 bulunmuştur. Sigara içen bireylerde ise; kontrol grubunda genotip frekansı %46,8 ve %53,2; hasta grubunda genotip frekansı %52,5 ve %47,5 bulunmuştur. Kontrol ve hasta grubu arasında sigara içme alışkanlığına bağlı olarak Ser/Cys+Cys/Cys genotiplerine sahip bireylerde akciğer kanser riski ile ilişki gözlenmemiştir.

Sigara içen bireyler arasında kontrol grubunda günde 1 paket ve daha az sigara içenlerden %46,3'ü Ser/Ser genotipini, %53,8'i Ser/Cys+Cys/Cys genotipini taşımaktadır. Hasta grupta ise %47,1'i Ser/Ser genotipini, %52,9'u Ser/Cys+Cys/Cys genotipini taşımaktadır. Hasta ve kontrol grubunda Ser/Cys+Cys/Cys genotipi dağılımında anlamlı bir fark bulunmadığı ve günde 1 paket ve daha az sigara içen hasta - kontrol arasında Ser326Cys polimorfizminin akciğer kanseri riskini artırdığını gösterecek anlamlı bir sonuca ulaşmadığı gözlenmiştir. (Ser/Cys+Cys/Cys OR=0,97; %95 CI=0,507-1,835; p=0,913)

Sigara içen bireyler arasında kontrol grubunda günde 1 paketten fazla içen bireylerden %34,6'sı Ser/Ser genotipini, %65,4'ü Ser/Cys+Cys/Cys genotipini taşımaktadır. Hasta grupta ise %59,4'ü Ser/Ser genotipini, %40,6'sı Ser/Cys+Cys/Cys genotipini taşımaktadır. Günde 1 paketten fazla sigara içen Ser/Cys+Cys/Cys genotipli bireylerde akciğer kanseri gelişme riskinde anlamlı düşüş olduğu bulunmuştur (Ser/Cys+Cys/Cys OR=0,36; %95 CI=0,140-0,936; p=0,033). Bununla birlikte risk hesaplaması sırasında yaşa ve cinsiyete göre yapılan düzeltmeler sonucunda Ser/Cys+Cys/Cys genotipine sahip bireylerin akciğer kanserine karşı koruyucu etkisi istatistiksel olarak anlamlılığını yitirmiştir (Ser/Cys+Cys/Cys OR_{düzeltilmiş}=0,27 (0,095-0,780); p=0,15). Sonuçlar Tablo 10'da gösterilmiştir.

Tablo 10 : Akciğer kanseri ve OGG1 polimorfizmine sigaranın etkisi (Ser/Ser genotipine karşı Ser/Cys+Cys/Cys)

		Genotip	Kontrol n (%)	Hasta n (%)	OR (CI %95)	P	Düzeltilmiş OR (CI %95)	p
Sigara:	İçmeyen	Ser/Ser	55 (%45,5)	12 (%50)	1		1	
		Ser/Cys + Cys/Cys	66 (%54,5)	12 (%50)	0,83 (0,347-2,002)	0,683	0,79 (0,327-1,929)	0,61
	İçen	Ser/Ser	59 (%46,8)	74 (%52,5)	1		1	
		Ser/Cys + Cys/Cys	67 (%53,2)	67 (%47,5)	0,80 (0,493-1,290)	0,356	0,79 (0,47-1,315)	0,36
Sigara içen:	≤20 adet/gün	Ser/Ser	37 (%46,3)	33 (%47,1)	1		1	
		Ser/Cys + Cys/Cys	43 (%53,8)	37 (%52,9)	0,97 (0,507-1,835)	0,913	1,04 (0,526-2,064)	0,907
	>20 adet/gün	Ser/Ser	9 (%34,6)	38 (%59,4)	1		1	
		Ser/Cys + Cys/Cys	17 (%65,4)	26 (%40,6)	0,36 (0,140-0,936)	0,033*	0,27 (0,095-0,780)	0,15

* İstatistiksel olarak anlamlıdır.

4.1.7. Sigaranın SCLC ve OGG1 polimorfizmi ilişkisine etkisi

Bireylerin sigara alışkanlıklarına bağlı olarak OGG1 Ser326Cys genotipi ve SCLC oluşma riskini değerlendirmek amacıyla kontrol ve SCLC gruplarında sigara içen ve içmeyen bireylerin genotip frekansları karşılaştırılmıştır. Kontrol grubunda sigara içmeyen bireylerin %45,5'ini Ser/Ser genotipi, %45,5'ini Ser/Cys genotipi, %9'unu Cys/Cys genotipi; sigara içen bireylerin ise %46,8'ini Ser/Ser genotipi, %38,9'unu Ser/Cys genotipi, %14,3'ünü Cys/Cys genotipi oluşturmaktadır. SCLC grubunda ise sigara içmeyen bireylerin %60'ını Ser/Ser genotipi, %40'ını Ser/Cys genotipi, %0'ını Cys/Cys genotipi; sigara içen bireylerin ise %66,7'sini Ser/Ser genotipi, %24,2'sini Ser/Cys genotipi, %9,1'ini Cys/Cys genotipi oluşturmaktadır. Kontrol ve SCLC grubu arasında sigara içme alışkanlığına bağlı olarak Ser/Cys veya Cys/Cys genotiplerinin akciğer kanseri riski ile ilişkisi olmadığı bulunmuştur.

Sigara içen bireyler arasında kontrol grubunda günde bir paket ve daha az sigara içen bireylerden %46,3'ü Ser/Ser genotipini, %41,2'si Ser/Cys genotipini, %12,5'i Cys/Cys genotipini taşımaktadır. SCLC grubunda ise %55'i Ser/Ser genotipini, %40'ı Ser/Cys genotipini, %5'i Cys/Cys genotipini taşımaktadır. SCLC ve kontrol grubunda heterozigot varyant genotipi dağılımında anlamlı bir fark bulunmadığı ve günde bir paket ve daha az sigara içen SCLC - kontrol arasında OGG1 Ser326Cys polimorfizminin akciğer kanseri riski ile ilişkisi olduğunu

gösterecek anlamlı bir sonuca ulaşmadığı gözlenmiştir. (Ser/Cys OR=0,82; %95 CI=0,293-2,272; p=0,696) Homozigot varyant genotipi dağılımında da heterozigot varyant genotipi gibi anlamlı bir fark bulunmamakla birlikte riskte de istatistiksel olarak anlamlı bir sonuca varılamamıştır (Cys/Cys OR=0,34; %95 CI=0,039-2,925; p=0,324). İstatistiksel olarak yaş, cinsiyet ve BMI'e göre düzeltme yapılmasının ardından sonuç hem Ser/Cys hem de Cys/Cys genotipleri için aynı kalmış anlamlı bir değere ulaşmamıştır. (Ser/Cys OR_{düzeltilmiş}=1,29; %95 CI=0,361-4,568; p=0,699; Cys/Cys OR_{düzeltilmiş}=0,84; %95 CI=0,080-8,700; p=0,880) Sigara içen bireyler arasında kontrol ve SCLC grubunda günde 1 paketten fazla sigara içen bireylerin genotip dağılımı incelenmiş, Cys/Cys genotipinin SCLC oluşma riski ile ilişkisinin olmadığı görülmüştür.

Tablo 11 : Sigaranın SCLC ve OGG1 polimorfizmi ilişkisine etkisi

		Genotip	Kontrol n (%)	SCLC n (%)	OR (CI %95)	p	Düzeltilmiş OR (CI %95)	p
Sigara	İçmeyen	Ser/Ser	55 (%45,5)	3 (%60)	1		1	
		Ser/Cys	55 (%45,5)	2 (%40)	0,67 (0,107-4,147)	0,664	0,88 (0,112-7,024)	0,910
		Cys/Cys	11 (%9)	0 (%0)	-		-	
	İçen	Ser/Ser	59 (%46,8)	22 (%66,7)	1		1	
		Ser/Cys	49 (%38,9)	8 (%24,2)	0,44 (0,179-1,070)	0,070	0,51 (0,185-1,407)	0,194
		Cys/Cys	18 (%14,3)	3 (%9,1)	0,45 (0,120-1,668)	0,231	0,67 (0,164-2,728)	0,575
Sigara içen	≤20 adet/gün	Ser/Ser	37 (%46,3)	11 (%55)	1		1	
		Ser/Cys	33 (%41,2)	8 (%40)	0,82 (0,293-2,272)	0,696	1,29 (0,361-4,568)	0,699
		Cys/Cys	10 (%12,5)	1 (%5)	0,34 (0,039-2,925)	0,324	0,84 (0,080-8,700)	0,880
	>20 adet/gün	Ser/Ser	9 (%34,6)	11 (%84,6)	1		1	
		Ser/Cys	11 (%42,3)	0 (%0)	-		-	
		Cys/Cys	6 (%23,1)	2 (%15,4)	0,27 (0,044-1,695)	0,163	0,27 (0,027-2,677)	0,263

Sigaranın SCLC ve OGG1 genotipleri arasındaki ilişki üzerine yaptığı etkiyi anlamak amacıyla; kontrol ve SCLC grubunun sigara alışkanlıkları Ser/Ser ve Ser/Cys+Cys/Cys genotipleri ile ilişkilendirilmiş ve hiç sigara içmemiş bireyler arasında kontrol grubunda genotip frekansları sırasıyla %45,5 ve %54,5; SCLC grubunda %60 ve %40 bulunmuştur. Sigara içen bireylerde ise; kontrol grubunda genotip frekansı %46,8 ve %53,2; SCLC grubunda genotip frekansı %66,7 ve %33,3 bulunmuştur. Kontrol ve SCLC grubu arasında sigara içmeyen Ser/Cys+Cys/Cys genotiplerine sahip bireylerde SCLC riski ile ilişki gözlenmemiştir (p=0,792). Sigara içen bireylerde ise Ser/Cys+Cys/Cys genotiplerine sahip olmanın SCLC gelişme riskini anlamlı olarak azalttığı (p=0,046) ancak yaş, cinsiyet ve BMI'e göre yapılan düzeltmeler sonucunda bu anlamlılığın kaybolduğu belirlenmiştir (p=0,197).

Sigara içen bireyler arasında kontrol grubunda günde 1 paket ve daha az sigara içen bireylerden %46,3'ü Ser/Ser genotipini, %53,8'i Ser/Cys+Cys/Cys genotipini taşımaktadır. SCLC grubunda ise %55'i Ser/Ser genotipini, %45'i Ser/Cys+Cys/Cys genotipini taşımaktadır. Ser/Cys+Cys/Cys genotipleri dağılımında anlamlı bir fark bulunmadığı ve günde 1 paket ve daha az sigara içen bireylerde OGG1 Ser326Cys polimorfizminin SCLC riski ile ilişkisini gösterecek anlamlı bir sonuca ulaşmadığı gözlenmiştir (p=0,485). Sigara içen bireyler arasında kontrol grubunda günde 1 paketten fazla sigara içen bireylerden %34,6'sı Ser/Ser genotipini, %65,4'ü Ser/Cys+Cys/Cys genotipini taşımaktadır. SCLC grubunda ise %84,6'sı Ser/Ser genotipini, %15,4'ü Ser/Cys+Cys/Cys genotipini taşımaktadır. Günde 1 paketten fazla sigara içen Ser/Cys+Cys/Cys genotipli bireylerde SCLC gelişme riskinde anlamlı düşüş olduğu bulunmuştur (Ser/Cys+Cys/Cys OR=0,10; %95 CI=0,017-0,532; p=0,007). Bununla birlikte risk hesaplaması sırasında yaşa, cinsiyete ve BMI'ye göre yapılan düzeltmeler sonucunda Ser/Cys+Cys/Cys genotipine sahip bireylerin akciğer kanserine karşı koruyucu etkisi istatistiksel olarak anlamlılığını devam ettirmiştir (Ser/Cys+Cys/Cys OR_{düzeltilmiş}=0,08; %95 CI=0,009-0,674; p=0,020).

Tablo 12 : Sigaranın SCLC ve OGG1 polimorfizmi ilişkisine etkisi (Ser/Ser genotipine karşı Ser/Cys+Cys/Cys)

		Genotip	Kontrol n (%)	SCLC n (%)	OR (CI %95)	p	Düzeltilmiş OR (CI %95)	p
Sigara	İçmeyen	Ser/Ser Ser/Cys + Cys/Cys	55 (%45,5) 66 (%54,5)	3 (%60) 2 (%40)	1 0,56 (0,090-3,445)	0,528	1 0,76 (0,096-5,996)	0,792
	İçen	Ser/Ser Ser/Cys + Cys/Cys	59 (%46,8) 67 (%53,2)	22 (%66,7) 11 (%33,3)	1 0,44 (0,197-0,984)	0,046*	1 0,55 (0,223-1,362)	0,197
Sigara içen	≤20 adet/gün	Ser/Ser Ser/Cys + Cys/Cys	37 (%46,3) 43 (%53,8)	11 (%55) 9 (%45)	1 0,70 (0,263-1,884)	0,485	1 1,20 (0,355-4,025)	0,774
	>20 adet/gün	Ser/Ser Ser/Cys + Cys/Cys	9 (%34,6) 17 (%65,4)	11 (%84,6) 2 (%15,4)	1 0,10 (0,017-0,532)	0,007*	1 0,08 (0,009-0,674)	0,020*

* İstatistiksel olarak anlamlıdır.

4.1.8. Sigaranın NSCLC ve OGG1 polimorfizmi ilişkisine etkisi

Bireylerin sigara alışkanlıklarına bağlı olarak OGG1 Ser326Cys genotipi ve NSCLC oluşma riskini değerlendirmek amacıyla kontrol ve NSCLC gruplarında sigara içen ve içmeyen bireylerin genotip

frekansları karşılaştırılmıştır. Kontrol grubunda sigara içmeyen bireylerin %45,5'ini Ser/Ser genotipi, %45,5'ini Ser/Cys genotipi, %9'unu Cys/Cys genotipi; sigara içen bireylerin ise %46,8'ini Ser/Ser genotipi, %38,9'unu Ser/Cys genotipi, %14,3'ünü Cys/Cys genotipi oluşturmaktadır. NSCLC grubunda genotip frekansları sigara içmeyenler için; %47,4 Ser/Ser genotipi, %47,4 Ser/Cys genotipi, %5,3 Cys/Cys genotipi; sigara içen bireyler için ise %49,5 Ser/Ser genotipi, %40,6 Ser/Cys genotipi, %9,9 Cys/Cys genotipi olarak ortaya çıkmıştır. Sigara içme alışkanlığına bağlı olarak Ser/Cys veya Cys/Cys genotiplerinin NSCLC riski ile ilişkisi olmadığı bulunmuştur. İçilen sigara miktarlarına göre de genotip ile NSCLC riski arasında bir ilişki saptanmamıştır.

Tablo 13 : Sigaranın NSCLC ve OGG1 polimorfizmi ilişkisine etkisi

		Genotip	Kontrol n (%)	NSCLC n (%)	OR (CI %95)	p	Düzeltilmiş OR (CI %95)	p
Sigara	İçmeyen	Ser/Ser	55 (%45,5)	9 (%47,4)	1		1	
		Ser/Cys	55 (%45,5)	9 (%47,4)	1,00 (0,369-2,709)	1,000	0,93 (0,332-2,603)	0,890
		Cys/Cys	11 (%9)	1 (%5,3)	0,56 (0,064-4,842)	0,595	0,48 (0,054-4,345)	0,516
	İçen	Ser/Ser	59 (%46,8)	50 (%49,5)	1		1	
		Ser/Cys	49 (%38,9)	41 (%40,6)	0,99 (0,564-1,729)	0,964	1,03 (0,546-1,940)	0,929
		Cys/Cys	18 (%14,3)	10 (%9,9)	0,66 (0,277-1,549)	0,336	0,79 (0,300-2,060)	0,625
Sigara içen	≤20 adet/gün	Ser/Ser	37 (%46,3)	21 (%44,7)	1		1	
		Ser/Cys	33 (%41,2)	22 (%46,8)	1,18 (0,549-2,512)	0,678	1,38 (0,572-3,348)	0,470
		Cys/Cys	10 (%12,5)	4 (%8,5)	0,71 (0,196-2,528)	0,591	1,33 (0,306-5,757)	0,704
	>20 adet/gün	Ser/Ser	9 (%34,6)	26 (%54,2)	1		1	
		Ser/Cys	11 (%42,3)	16 (%33,3)	0,50 (0,171-1,481)	0,213	0,41 (0,125-1,330)	0,137
		Cys/Cys	6 (%23,1)	6 (%12,5)	0,35 (0,089-1,351)	0,127	0,26 (0,056-1,198)	0,084

Sigaranın NSCLC ve OGG1 genotipleri arasındaki ilişki üzerine yaptığı etkiyi anlamak amacıyla; kontrol ve NSCLC grubunun sigara alışkanlıkları Ser/Ser ve Ser/Cys+Cys/Cys genotipleri ile ilişkilendirilmiş ve sigara içmeyen ve içen Ser/Cys+Cys/Cys genotiplerine sahip bireylerde NSCLC riski ile ilişki gözlenmemiştir (içmeyen p=0,876; içen p=0,688).

Sigara içen bireyler arasında günde bir paket ve daha az sigara içen bireylerden kontrol ve NSCLC gruplarında Ser/Cys+Cys/Cys genotipi dağılımında anlamlı bir fark bulunmadığı ve günde 1 paket ve daha az sigara içen bireylerde OGG1 Ser326Cys polimorfizminin NSCLC riski ile ilişkisini gösteren anlamlı bir sonuca varılmadığı gözlenmiştir (p=0,864). Günde bir paketten fazla sigara içen Ser/Cys+Cys/Cys genotipine sahip bireyler ile NSCLC oluşumu riski arasında bir ilişki

bulunamamıştır (p=0,111).

Tablo 14 : Sigaranın NSCLC ve OGG1 polimorfizmi ilişkisine etkisi (Ser/Ser genotipine karşı Ser/Cys+Cys/Cys)

		Genotip	Kontrol n (%)	NSCLC n (%)	OR (CI %95)	p	Düzeltilmiş OR (CI %95)	p
Sigara	İçmeyen	Ser/Ser	55 (%45,5)	9 (%47,4)	1		1	
		Ser/Cys + Cys/Cys	66 (%54,5)	10 (%52,6)	0,93 (0,351-2,440)	0,876	0,85 (0,313-2,313)	0,751
	İçen	Ser/Ser	59 (%46,8)	50 (%49,5)	1		1	
		Ser/Cys + Cys/Cys	67 (%53,2)	51 (%50,5)	0,90 (0,532-1,517)	0,688	0,97 (0,534-1,757)	0,917
Sigara içen	≤20 adet/gün	Ser/Ser	37 (%46,3)	21 (%44,7)	1		1	
		Ser/Cys + Cys/Cys	43 (%53,8)	26 (%55,3)	1,07 (0,517-2,197)	0,864	1,38 (0,588-3,216)	0,463
	>20 adet/gün	Ser/Ser	9 (%34,6)	26 (%54,2)	1		1	
		Ser/Cys + Cys/Cys	17 (%65,4)	22 (%45,8)	0,45 (0,167-1,203)	0,111	0,36 (0,119-1,069)	0,066

4.2. İdrardan 8-OHdG Atılımının Değerlendirmesi

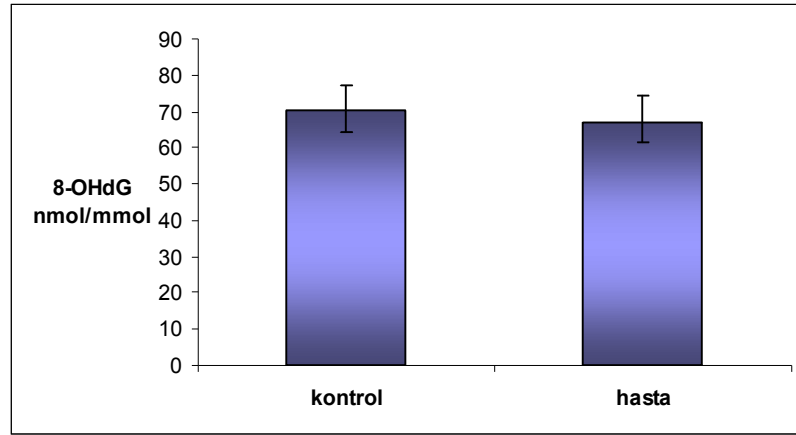
4.2.1. Demografik Bulgular ve 8-OHdG Atılımına Etkisi

Oksidatif hasarın biyogöstergesi olan 8-OHdG düzeylerini tayin etmek için kemoterapi ve radyoterapi almamış 72 kanserli hasta ve 61 sağlıklı bireyden idrar örnekleri alınmıştır. Kontrol grubu 17 (%27,9) kadın ve 44 (%72,1) erkekten oluşurken kanser hastaları 13 (%18,1) kadın ve 59 (%81,9) erkekten oluşmuştur (p= 0,254). Kontrol ve akciğer kanserli hasta grubuna ait yaş ortalamaları sırasıyla 54,84±1,38 ve 56,50 ±1,30 olarak saptanmıştır (p=0,382). Gruplar BMI'leri açısından karşılaştırıldığında kontrol grubunun BMI'i (26,75±0,458) hasta grubuna (25,39±0,447) göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur (p= 0,036). Ancak hem hasta hem de kontrol grubu içerisinde BMI ile 8-OHdG atılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir (pearson korelasyon testi p=0,168).

Grupların sigara alışkanlıkları değerlendirildiğinde; kontrol grubunda 35 birey (%57,4) sigara içmeyen, 15 birey (%24,6) içip bırakan, 11 birey (%18) sigara içen; kanser hastalarında ise; 18 birey (%25) sigara içmeyen, 29 birey (%40,3) içip bırakan, 25 birey (%34,7) sigara içen grubu

oluşturmaktadır. Sigara içenleri kendi aralarında günde bir paket ve daha az içenler ve günde bir paketten fazla içenler şeklinde ayırdığımızda; kontrol grubunda 3 birey (%27,3) günde bir paketten az, 8 birey (%72,7) günde bir paketten fazla içmektedir. Kanseri grubunda ise; 14 birey (%58,3) günde bir paketten az içerken, 10 birey (%41,7) günde bir paketten fazla içmektedir (p= 0,179).

8-OHdG miktarlarının ölçümü sonucunda; kanserli hastalar ile kontrol grubu idrarlarında 8-OHdG seviyeleri arasında anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır (p=0,946). Her iki grupta da cinsiyetin 8-OHdG atılımında etki göstermediği bulunmuştur. Bireyler 60 yaşından küçük (<60) ve 60 ve 60 yaşından büyük (≥ 60) olarak gruplandırıldığında; 8-OHdG seviyelerinde yaşa bağlı anlamlı artma veya azalma görülmemiştir.



Şekil 28 : Kontrol ve hasta grubunda 8-OHdG atılım düzeyleri ort $\pm$ SH ; (p=0,946)

Çalışma grubu sigara alışkanlıklarına göre; sigara içmeyen, hayatının bir döneminde içip bırakmış ve içen olarak sınıflandırıldığında; hasta ve kontrol grubunda sigara alışkanlıklarının 8-OHdG atılımında rol oynamadığı ortaya çıkmıştır. Sigara içenler arasında yapılan alt analizde, bireyler günde bir paket ve daha az sigara içenler ve günde bir paketten fazla içenler olarak incelendiğinde gruplar arasında herhangi bir fark görülmemiştir. İlgili sonuçlar tablo 15’de gösterilmiştir.

Tablo 15 : 8-OHdG Ölçümleri Yapılan Bireylerin Demografik Özelliklerine Göre 8-OHdG Atılım Miktarları

GRUPLAR		KONTROL		HASTA			p**
		n	ort±SH nmol/mmol	p	N	ort±SH nmol/mmol	p
Toplam:		61	70,03±7,11		72	67,26 ±5,63	0,946
Cinsiyet:	Kadın:	17	65,46±11,65	0,987	13	66,90±13,40	0,878
	Erkek:	44	71,80±8,83		59	67,34±6,26	
Yaş:	<60	39	67,25±8,05	0,928	43	59,74±6,27	0,230
	≥60	22	74,96±13,82		29	78,41±10,24	
Sigara:	İçmeyen	35	63,81±8,65	0,337	18	66,68±9,67	0,700
	Bırakan	15	77,32±11,33		29	69,52±8,65	
	İçen	11	79,90±24,43		25	65,06±10,99	
Sigara içen:	≤20adet/gün	3	121,88±61,81	0,630	14	70,09±15,34	0,625
	>20adet/gün	8	64,16±25,16		10	59,25±17,89	

p**: hasta ve kontrol arasında yapılan analiz sonuçları

4.2.2. Akciğer Kanseri Alt Tiplerinde 8-OHdG Atılımı Karşılaştırması

Akciğer kanseri hastalarının histolojik alt tiplerinde 8-OHdG atılımlarında fark olup olmadığının belirlenmesi amacıyla bireylerin idrar 8-OHdG seviyeleri karşılaştırılmış ancak atılımında histolojik alt tipin rol oynamadığı görülmüştür (p=0,124).

Tablo 16 : Akciğer kanseri alt tiplerinde 8-OHdG atılımı karşılaştırması

HASTA		8-OHdG		
		n	ort±SH nmol/mmol	p
Histolojik alt tip:	NSCLC	61	63,93±6,04	0,124
	SCLC	10	89,05±15,97	

4.2.3. OGG1 Ser326Cys Genotiplerinin 8-OHdG Düzeyleri Üzerine Etkisi

8-OHdG ölçümü yapılan kanserli hasta grubunun Ser/Ser, Ser/Cys ve Cys/Cys genotipleri sırasıyla %45,8 (n=33), %33,3 (n=24), %9,7 (n=7); kontrol grubunun ise %42,6 (n=26), %50,8 (n=31) ve %6,6 (n=4) olarak belirlenmiştir. Kanserli hasta grubunda 8 hastanın (%11,1) DNA'sı izole edilemediği için genotip bilgisi eksiktir. Yapılan analizler sonucunda hasta grubu içinde OGG1 Ser326Cys genotiplerinin 8-OHdG atılımında rol oynamadığı ortaya çıkmıştır. Kontrol grubu içerisinde ise genotipi Ser/Ser olanların 8-OHdG ölçümleri hem Ser/Cys (p=0,006) hem de Cys/Cys (p=0,008) grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.

Ancak Ser/Cys ve Cys/Cys grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir (p=0,179).

Bireylerin sigara alışkanlıklarının ve OGG1 Ser326Cys genotiplerinin 8-OHdG atılımı üzerine etkisine bakıldığında, sigara içmeyen sağlıklı bireylerin 8-OHdG atımlarında genotipe göre değişme olduğu, Ser/Ser genotipe sahip bireylerin 8-OHdG düzeylerinin Ser/Cys ve Cys/Cys'e göre daha yüksek olduğu ancak Bonferroni Düzeltmesine göre bu sonucun anlamlı olmadığı bulunmuştur (p=0,036). Akciğer kanserli hastaların genotiplerine göre 8-OHdG atılım seviyelerinde sigara alışkanlıklarının anlamlı bir etkisinin olmadığı bulunmuştur (p=0,606). Kontrol ve hasta grubunda sigara alışkanlıklarına göre bireylerin genotipleri karşılaştırıldığında da iki grup arasında anlamlı bir değişme olmadığı görülmüştür. Sigara içenler arasında sigara miktarının OGG1 polimorfizmi ve 8-OHdG atılımı üzerine etki etmediği bulunmuştur.

Tablo 17 : OGG1 Ser326Cys Genotiplerinin 8-OHdG Düzeyleri Üzerine Etkisi

GRUPLAR		GENOTİP	KONTROL			HASTA			p**
			n	ort±SH nmol/mmol	p	n	ort±SH nmol/mmol	p	
Toplam:		Ser/Ser	26	87,65±11,35	0,015*	33	65,96±9,28	0,860	0,079
		Ser/Cys	31	59,50±9,28		24	67,01±8,14		0,186
		Cys/Cys	4	37,12±21,08		7	82,05±24,52		0,648
Sigara	İçmeyen	Ser/Ser	16	83,46±14,69	0,036*	9	53,61±12,83	0,606	0,207
		Ser/Cys	15	49,96±9,78		5	70,73±14,92		0,197
		Cys/Cys	4	37,12±21,08		1	158,79		
	Bırakan	Ser/Ser	5	78,98±18,00	0,859	13	72,23±14,23	0,955	0,703
		Ser/Cys	10	76,49±15,08		12	69,70±13,52		0,674
		Cys/Cys	0	0		2	64,43±20,51		
	İçen	Ser/Ser	5	109,74±33,41	0,126	11	68,65±20,32	0,919	0,267
		Ser/Cys	6	55,03±34,23		7	59,74±13,35		0,101
		Cys/Cys	0	0		4	71,67±38,16		
Sigara miktar	≤20 adet/gün	Ser/Ser	1	129,94		8	76,03±26,20	0,666	1,000
		Ser/Cys	2	117,85±106,84		4	48,00±10,07		
		Cys/Cys	0	0		1	97,63		
	>20 adet/gün	Ser/Ser	4	104,69±42,63	0,114	3	48,99±29,97		0,629
		Ser/Cys	4	23,62±6,38		2	86,73±45,89		0,133
		Cys/Cys	0			3	63,68±22,32		

p**: hasta ve kontrol arasında yapılan analiz sonuçları

p*: İstatistiksel olarak anlamlıdır.

*: Bonferroni Düzeltmesine göre anlamlı değildir (p>0,025)

5. TARTIŞMA

Eksojen ve endojen kaynaklar tarafından meydana gelen ROT'leri oksidatif DNA hasarlarına neden olmakta ve bu durum mutajenez ve karsinogenez ile ilişkilendirilmektedir³⁵. Oksidatif DNA hasarlarının biyogöstergesi olan ve oksidatif hasar lezyonları arasında en önemli mutajenik lezyonlardan biri olan 8-OHG DNA glikozilaz/AP liyaz OGG1 enzimi ile onarılmaktadır¹⁷¹. Kansere duyarlılıkta hasarlı DNA onarımının kontrolünde genetik alt yapının önemli olduğu bilinmektedir.

Genel olarak akciğer kanseri teşhisinin 50 ve 80 yaşları arasında konulduğu bilinmektedir⁷⁷. Çalışma grubumuzun demografik özelliklerine bakıldığında yaş ortalamasının 57 olduğunun görülmesi bu genellemeyle uyumlu olduğunu göstermektedir. Sigara kullanımı akciğer kanserinin en önemli nedenidir ve akciğer kanserli hastaların %80-90'ının sigara içtiği bilinmektedir⁹. Çalışmamızda kanserli hastaların %85,5'i sigara içmektedir (p=0,0001) Kontrol grubunda sigara içenlerin içmeyenlere oranı birbirine benzerlik gösterirken akciğer kanserli hastalarda sigara kullananların sayısı oldukça fazladır. Bu durum sigaranın akciğer kanseri için bir risk faktörü oluşturduğunu göstermektedir. Akciğer kanserinde SCLC histolojik alt tipi vakaların ~%20'sini oluşturmakta²² genel olarak NSCLC daha fazla görülmektedir. Çalışma grubumuzda SCLC görülme sıklığının daha az olmasının nedeni budur.

Oksidatif DNA hasarlarından 8-OHG'nin onarımından sorumlu OGG1 geninde pek çok polimorfizm mevcuttur. Özellikle Ser326Cys polimorfizminin enzimin aktivitesi üzerine etki ettiği ve bu durumun akciğer kanseri riski ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Ayrıca OGG1 geninin kromozom 3p25'te yer alması ve bu bölgede akciğer kanserinde sıklıkla heterozigotluk kaybının görülmesi (Loss of heterozygous; LOH) ve p53 geninde olduğu gibi mutasyonunda G:C → T:A transversiyonlarının arttığına fark edilmesi OGG1 geni üzerinde çalışmaların odaklanmasına neden olmuştur¹⁹. Park ve arkadaşlarının Avrupa Beyaz Irkı'nda yaptığı çalışmada varyant genotiplerin akciğer kanseri riskini 2-4 kat artırdığı¹⁴³, Marchand ve arkadaşlarının çeşitli popülasyonlarda yaptığı çalışmalarda da Cys/Cys genotipinin kanser riskinde yaklaşık 2 katlık artışa neden olduğu gösterilmiştir¹⁴. OGG1 Ser326Cys polimorfizminde yapılan meta analizde 7 çalışmanın sonuçları bir araya getirilerek 3371 kontrol ve 3253 hasta kullanılarak OGG1 Cys/Cys genotipinin akciğer kanser riskinde zayıf bir artışa neden olduğu bulunmuştur. (OR=1,24 %95 CI=1,01-1,53)¹⁶¹.

Ancak farklı etnik gruplardaki populasyonlar arasında OGG1 Ser326Cys allel frekansları oldukça farklıdır¹⁴⁷. Türk populasyonunda Cys/Cys genotip sıklığı 9, Beyaz Avrupa ırkında 2-6 arasında değişirken, Çin populasyonunda 13-24, Japon populasyonunda 14,9 olarak belirlenmiş çalışmalar vardır^{10, 17, 23, 52, 130, 136}. Beyaz Avrupa populasyonu ile karşılaştırıldığında Çin ve Japon populasyonunda Cys/Cys genotip sıklığı yaklaşık 8-10 kat fazla olduğu gözlenmektedir. Cys/Cys genotipine sahip bireylerin artmış akciğer kanseri riskine sahip olduğunun bulunduğu çalışmaların yanı sıra OGG1 genotipinin akciğer kanseri ile ilişkisinin olmadığını gösteren de bir çok çalışma mevcuttur. Bu amaçla akciğer kanser riski ve OGG1 Ser326Cys polimorfizmi ile ilişkiyi gösteren bir çok çalışma yapılmış ancak henüz fikir birliğine varılamamıştır.

Yaptığımız bu çalışmada akciğer kanseri ile ilgili diğer populasyonlardaki veriler göz önünde bulundurularak OGG1 Ser326Cys polimorfizmi ile akciğer kanser ilişkisini saptamayı ve bireylerdeki oksidatif hasarı belirlemek için oksidatif hasarın biyogöstergesi olan 8-OHdG miktarının ölçülmesini amaçladık. Yaptığımız çalışmada OGG1 allel frekanslarına bakıldığında; Karahalil ve Aygün tarafından sağlıklı Türk populasyonunda yapılan OGG1 Ser326Cys polimorfizm sıklığından çıkan sonuçları¹³⁶ destekler biçimde Cys allel frekansı 0,28-0,33 olarak bulunmuş ve Avrupa Beyaz ırkındaki alel frekansları ile benzerlik gösterdiği gözlenmiştir.

Sonuçlarımız Türk populasyonunda OGG1 Ser326Cys polimorfizmi ile akciğer kanseri arasında anlamlı bir ilişkinin olmadığını göstermiştir. Literatür dünyasında yapılan çalışmalar göz önüne alındığında; Ser326Cys polimorfizmini ilk kez saptayan Kohno ve arkadaşları, akciğer kanserli hastalarla sağlıklı bireyler arasında OGG1 Ser326Cys polimorfizm dağılımında fark olmadığını görmüştür. Ancak yapılan çalışmanın sayı olarak oldukça küçük bir populasyonu içermesi sınırlı sonuç elde ettiğini düşündürmektedir (kontrol n=42, hasta n=45)¹⁹. Bizim sonuçlarımızla benzer şekilde; Hung ve arkadaşlarının Avrupa Beyaz Irkı'nda yaptığı çalışmada Ser326Cys ve akciğer kanser riski ilişkisi bulunamamıştır¹. Yine Wikman ve arkadaşlarının Avrupa Beyaz Irkı'nda yaptığı başka bir çalışmada da hasta grubunda mutasyonun göstergesi olan Cys326 aleli yerine Ser326 allel frekansı kontrolden daha yüksek çıkmıştır¹³⁰. Danimarka'da yapılan iki farklı polimorfizm çalışmasında OGG1 Ser326Cys varyantlarının akciğer kanseri ile ilişkisinin olmadığı gösterilmiştir^{82,144}. Avrupa Beyaz Irkı'nda yapılan çalışmada da kanser riski ile Ser326Cys polimorfizmi arasında da anlamlı bir ilişki bulunamamıştır¹⁵⁹ 2006 yılında 11 çalışmanın sonuçları ile yapılan meta-analizde de OGG1

polimorfizmi ile akciğer kanser riski arasında anlamlı bir ilişkinin olmadığı bulunmuştur¹⁶². Son yapılan OGG1 Ser326Cys polimorfizm çalışmasında ise OGG1 Ser326Cys genotipi taşıyan bireylerin akciğer kanseri gelişme riskinde anlamlı olarak iki kat azalma olduğu görülmüştür¹⁶³.

Ancak bir çok çalışmada akciğer kanserinin histolojik alt tipleri sınıflandırılarak gen-hastalık etkileşimine bakılmakta ve böylece daha spesifik sonuçlara ulaşılmaktadır. Bu sebeple Türk populasyonunda akciğer kanseri histolojik alt tiplerinin detaylı analizleri yapılmış, NSCLC riskinde OGG1 genotipinin anlamlı bir etkisinin bulunmadığı ancak SCLC için OGG1 heterozigot varyant olmanın anlamlı olarak riski azalttığı bulunmuştur ($p=0,036$). Ancak yaş, cinsiyet ve sigara özelliklerine göre düzeltme yapıldığında istatistiksel anlamlılık ortadan kalkmıştır ($p=0,188$). Düzeltme yapılmadan önceki risk değerlendirmesi sadece OGG1 Ser326Cys genotipi kaynaklı risk artışını göstermediğinden istatistiksel olarak anlamlı olsa da klinik olarak doğru bir sonuç olmayabilir. SCLC riski ile OGG1 arasında ilişki olmadığını ortaya koyan çalışmanın yanı sıra¹⁴⁴ Zienolddiny ve arkadaşlarının Avrupa Beyaz Irkı'nda yaptığı çalışmada ise Cys326Cys genotipinin yaklaşık 2 kat NSCLC riskinde artışa neden olduğu ortaya konulmuştur⁹⁷. Bizim çalışmamıza paralel olarak; Wikman'ın çalışmasında da akciğer kanserinin alt tipleri ayrılmaksızın tümü değerlendirilse anlamlı olmayan risk ilişkisinin, kanseri alt tiplerine ayırıp her bir tip ile arasındaki ilişkiye bakıldığında da bu anlamsızlığın değişmediği görülmüştür^{130,139}.

Sigara içiminin, akciğer kanseri OGG1 polimorfizmi ilişkisine etkisinin saptanması amacıyla sigara kullanan ve kullanmayan bireylerin genotip frekanslarına bakılmış ancak akciğer kanser riski ile anlamlı bir ilişki kurulamamıştır. Oysaki akciğer kanseri özellikle sigara dumanı gibi karsinojenlere çevresel maruziyet ile bağlantılıdır. Bununla beraber sigara kullanan bireylerin bir kısmında akciğer kanserinin gelişmesi; sigarada bulunan karsinojenlere duyarlılıkta bireysel farklılıkların olduğu açıklamasını doğurmaktadır¹³⁰. DNA onarım genlerindeki genetik varyasyonlar nedeniyle onarım kapasitesinde meydana gelen değişimler, sigaranın oluşturacağı genotoksik etkilerin ortaya çıkmasında rol oynamaktadır¹⁴⁴. Sigara içenlerde akciğer dokusu ve periferik lenfositlerinde başta 8-OHG olmak üzere karsinojen DNA katım ürünlerinin arttığı buna bağlı olarak yapılan testlerde 8-OHG onarım aktivitesinde artışlar olduğu bulunmuştur ($p<0,05$)⁴¹. Çalışmalar hOGG1 Ser326Cys polimorfizminin sigara kullanımına bağlı kanserler için risk oluşturduğunu göstermiştir¹⁰.

Teorik olarak; sigaranın oksidatif hasarı indüklemesi nedeniyle 8-OHG oluşumu ve 8-OHG'in temel onarım yolağı OGG1'in aktivitesinin artması beklenirken Paz-Elizur'un çalışmasında OGG1 aktivitesi ile sigara alışkanlıkları arasında bir bağlantı kurulamamıştır. Ancak bireyin genetik olarak OGG1 aktivitesi düşükse sigaranın meydana getirdiği hasarları onaramadığı için kansere yatkınlığının artacağı üzerinde durulmuştur⁹. OGG1 polimorfizmi ve akciğer kanseri riski çalışmalarında sigaranın riske yaptığı etkinin araştırılması sonucu anlamlı bir ilişkinin bulunmadığı başka çalışmalar da vardır^{23,82,139}. Sigaranın OGG1 aktivitesini indüklememesi; sigara kaynaklı kanserlerde görülen G:C → T:A transversiyonlarında PAH kaynaklı DNA katımlarının baskın rol oynadığını ve bunların onarımında nükleotid çıkarma (NER) yolağının görev aldığını düşündürmektedir. Bu durum 8-OHG onarımında Ser326Cys polimorfizm etkisini maskeleyebilir⁸⁰.

Sigara içme miktarının kanser riski ile OGG1 ilişkisi üzerine etkisi incelendiğinde ilginç olarak günde >20 sigaradan fazla içen heterozigot veya mutant genotipe sahip bireylerin akciğer kanserine yakalanma risklerinde anlamlı düşüş olduğu bulunmuştur. Bu sonuçla uyumlu herhangi bir çalışmanın bulunmaması Türk populasyonunda görülen koruyucu etkinin nedenini sorgulamak için daha kapsamlı çalışmaları gerektirmektedir. Riski tahmin etmede tek bir genotipin yeterli olmadığı¹²⁹ ve diğer DNA onarım proteinleri ve yolaklarının OGG1 aktivitesindeki yetersizlikleri kompanse edebileceği düşünülmelidir¹³². OGG1 enziminin yetersizliği mevcut hasarları onarmak için diğer yolakların devreye girmesine ve özellikle bazı enzimlerin indüksiyonuna neden olabileceğini düşündürmektedir. 8-OHG onarımının primer yolağı baz çıkarma onarımının kısa yolağı olmasına rağmen kısa yolak komponentleri olmadığı veya doğunluğa ulaştığında yerini uzun yolağın alması bu duruma örnektir⁴. Ayrıca APE1, XRCC1, MTH1, NEIL1 ve MYH gibi bir çok BER geninde polimorfizmlerin varlığı bilinse de henüz aydınlatılmamış bir çok gen mevcuttur (ör: OGG2)¹³². Bununla beraber DNA polimorfizm tanımlamaları aktivite ölçümüne göre daha kolay olmasına rağmen esas parametre doğrudan protein fonksiyonuyla bağlantılı olan onarım aktivitesidir. Ekspresyon seviyelerindeki farklılıklar, mRNA stabilitesi, post-translasyonel değişimler ve doğal inhibitör ve aktivatörlerin varlığı gibi diğer parametrelerin yanında OGG1 gen polimorfizmi OGG1 aktivitesini etkileyebilecek birçok parametlerden yalnızca biridir⁹.

OGG1 Ser326Cys polimorfizminin enzimin katalitik özelliğini değiştirdiğine dair çalışmalar olduğu gibi aktivitede fark oluşturmadığını gösteren sonuçlar da vardır. E.coli'de Cys326 proteininin Ser326 proteinine göre yaklaşık yedi kat düşük aktivite göstermesinin yanı sıra¹⁹

Ser326 ile Cys326 fonksiyonunda anlamlı bir farklılık olmadığını, Ser326Cys polimorfizminin onarım aktivitesinde nötr olduğunu gösteren sonuçlar da bulunmuştur^{17,131}. Bu şekilde farklı sonuçların çıkmasının nedeni OGG1 genindeki diğer olası fonksiyonel polimorfizmlerle güçlü bir bağlantı içinde olması olabilir⁸². OGG1 Ser326Cys polimorfizminin DNA onarım aktivitesi üzerine yaptığı etkinin tam olarak kesinleşmemesi sebebiyle çalışmadan çıkan sonuçların yorumlanması oldukça zordur. Diğer DNA onarım enzimleri, antioksidanlar gibi koruyucu ajanlar veya enzimlerin varlığı sigara kullanımına rağmen akciğer kanseri ve OGG1 polimorfizmi ilişkisinin koruyucu etkisini açıklayabilir.

DNA'da oluşan oksidatif hasarlar akciğer kanseri için bir risk faktörüdür. DNA'da veya hücresel nükleotid havuzunda hasarlı nükleotid ürünlerinin idrardan atılımı, ilgili karsinojenlere maruziyetin önemli bir biyogöstergesi olarak kanser riskinin tahmininde kullanılabilir. DNA'da veya nükleotid havuzunda guanin bazının oksidasyonu idrardan 8-OHdG atılımına neden olmaktadır. Birçok oksidatif DNA hasar ürünü arasında 8-OHdG'nin en çok çalışılan bileşiklerden biri olması; kolay ölçülmesi ve G:C→T:A transversiyonları sonucu mutajenik özellik gösterdiğinin bilinmesi nedeniyledir²⁵. Çalışmamızda idrardan ELISA yöntemiyle 8-OHdG miktarları ölçülmüş ve radyoterapi ve kemoterapi almamış kanserli hastalarla sağlıklı bireyler arasında oksidatif hasarda fark olup olmadığı ve demografik özelliklere göre 8-OHdG atılımının değişip değişmediği gözlenmiştir. İdrarda değişmiş nükleozid veya baz seviyeleri oksidatif stresin genel bir göstergesi olarak DNA'ya oksidatif saldırının veya DNA onarımının bir indikatörü olabilir⁴⁶.

Hepsinde olmamakla birlikte bir çok çalışmada, 8-OHdG'nin idrardan atılımının çeşitli demografik, mesleki ve yaşam tarzına bağlı faktörlerle (yaş, cinsiyet, vücut kütle indeksi, sigara içimi, alkol tüketimi, diyet) değiştiği gösterilmiştir¹⁷². Yapılan çalışmalarda genellikle idrar 8-OHdG düzeylerinin kanserli hastalarda sağlıklı bireylerden, sigara içenlerde içmeyenlerden, erkeklerde kadınlardan daha yüksek olduğu bulunmuştur. BMI ile 8-OHdG arasında ise negatif ilişkinin olduğu belirlenmiştir¹⁷³.

Çalışmamızda ise 8-OHdG miktarlarının ölçümü sonucunda; kanserli hastalar ile kontrol grubu idrarlarında 8-OHdG seviyeleri arasında anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır. Bizim sonuçlarımızla benzer olarak, Loft ve arkadaşlarının 260 akciğer kanserli hasta ve 263 sağlıklı bireyde yaptığı çalışmada²⁵ ve Erhola ve arkadaşlarının akciğer kanserli (n=37) hastalarla sağlıklı bireyler (n=52) arasında yapılan analizlerde idrardan 8-

OHdG atılım oranları farkının istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur¹⁷⁴.

Bizim sonuçlarımıza zıt olarak bir çok çalışmada akciğer kanseri dışında farklı kanser türlerinde¹⁷⁵, jinekolojik kanserlerde¹⁷⁶, prostat kanserlilerde¹⁷⁷ artmış 8-OHdG atılım oranları bulunmuştur. Oksidatif DNA hasarının idrardaki biyogöstergelerinin kanserli hastalarda artmış olabileceği bilinmektedir. Bununla birlikte, bu durum özellikle ileri evrelerde hastalığın yüksek seviyelerde devam eden oksidatif stres, inflamasyon ve dokunun yapım-yıkımının bir sonucu olabileceği düşünülmelidir. Ayrıca bu ürünlerin idrarla atılımına tüm vücudun katkıda bulunduğu da göz ardı edilmemelidir²⁸. Kanser hastalarında yoğun granülosit aktivasyonuna ve tümöre karşı reaksiyon vermek üzere sitokin artışına bağlı olarak artan ROT miktarları da kanser hastalarında artmış oksidatif hasarın görülmesine neden olabilir¹⁷⁸.

Çalışmamızda akciğer kanseri hastalarının idrardan 8-OHdG atılımında histolojik alt tiplerin rol oynamadığı görülmüştür. Bizim sonuçlarımızla uyumlu olarak Gackowski ve arkadaşlarının idrar 8-OHdG ölçümlerinde de NSCLC ve kontrol grubu arasında 8-OHdG düzeylerinde anlamlı bir farklılığın olmadığı görülmüştür¹⁷⁹. Ancak Erhola ve arkadaşları akciğer kanserlilerde kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık bulamamasına rağmen hastaları SCLC ve NSCLC olarak sınıflandırıp incelediğinde SCLC grubunda 8-OHdG atılımının anlamlı olarak yüksek olduğunu görmüştür. ($p < 0,05$) Bu durum SCLC tipinin oldukça hızlı ve yaygın özellik gösteren malign sistemik bir hastalık olmasıyla ilişkilendirilmiştir¹⁷⁴.

Yapılan çalışmalardan sigara içenlerin 8-OHdG atılımlarının içmeyenlerle karşılaştırıldığında, %10-50 oranında daha fazla olduğu²⁵, sigarayı bırakmanın atılımda %21 azalma ile bağlantılı olduğu¹⁸⁰ ve çevresel sigara dumanına maruziyetin ise 8-OHdG atılımını etkilemediği gösterilmiştir²⁵. Ancak çalışmamızda sigaranın akciğer kanserli hastalar ve sağlıklı bireylerde 8-OHdG atılımını değiştirmedeği gözlenmiştir. Toraasson ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da 8-OHdG atılımı üzerine sigara kullanmanın etkisinin olmadığı gösterilmiştir¹⁸¹.

Oksidatif DNA hasarının onarım ürünü olarak idrarda 8-OHdG bulunduğu inancının yaygın olması ve özellikle de nükleotid çıkarma onarımının ürünü olduğu kabul edilmesine rağmen oksidatif

hasarlı DNA bazlarının ana onarım yolağı olarak baz çıkarma onarımı olduğu bilinmektedir⁴⁶. 8-OHdG'nin idrardan atılımı ve akciğer kanseri riski arasındaki ilişkinin OGG1 Ser326Cys polimorfizmi ile bağlantısını anlamak amacıyla Loft ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 8-OHdG atılımının akciğer kanser riski ve OGG1 genotipi ile anlamlı bir ilişkisinin olmadığı bulunmuştur²⁵. Çalışmamızda 8-OHdG ile ilgili verilerimiz Loft ve arkadaşlarının çalışmaları ile uyumludur. Ancak sağlıklı Ser326Ser genotipine sahip bireylerde 8-OHdG atılımlarının varyant genotiplere göre anlamlı olarak yüksek bulunduğu gözlenmiştir. 8-OHdG atılımının sağlıklı bireylerde fazla olması vücudun oksidatif onarım kapasitesinin hastalardan daha yüksek olduğunu düşündürmektedir.

6. SONUÇ

Akciğer kanser riski ve OGG1 polimorfizmi ilişkisinin belirlenmesi amacıyla Türk popülasyonunda yapılan bu çalışmada; OGG1 Ser326Cys polimorfizminin akciğer kanserinde anlamlı bir risk faktörü olmadığı bulunmuştur. Bulduğumuz bu sonuçla, literatür dünyasında OGG1 Ser326Cys polimorfizminin kanser duyarlılığının bir göstergesi olarak ele alınması çalışmaları için farklı popülasyonlarda yapılan birçok araştırmaya katkıda bulunulmuştur.

Akciğer kanserinin en önemli risk faktörü olan sigara kullanımının OGG1 Ser326Cys polimorfizmi ve akciğer kanseri riski üzerine yaptığı etkinin araştırılması sonucu günde bir paketten fazla sigara içen varyant genotipe sahip bireylerde akciğer kanseri riskinin düştüğü gözlenmiştir. 8-OHdG miktarlarının ölçümü sonucunda ise; kanserli hastalar ile kontrol grubu idrarlarında 8-OHdG miktarları arasında anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır.

Böyle bir sonucun ilk kez bulunması ve teorik bilgilerin tersini savunması sebebiyle kesin bir yargıya varmak oldukça zordur. DNA onarım yolağında yer alan onlarca gen arasından sadece birini araştırmak bu çalışmanın sonuçlarını kısıtlamıştır. Bir çok alternatif yolağın olması sebebiyle OGG1 ile birlikte diğer onarım genlerindeki polimorfizmlerle gen-gen etkileşimlerine bakılması, enzim aktivitesinin değişmesinde rol oynayan diğer faktörlerin incelenmesi ve sigara ile birlikte diğer risk faktörlerinin neden olduğu oksidatif stresin birden fazla ürününün ölçülmesi akciğer karsinogenezinde genetik varyasyonun etkilerini aydınlatmak açısından yararlı olacaktır.

7. ÖZET

TÜRK POPÜLASYONUNDA DNA ONARIM ENZİMİ OGG1 SER326CYS POLİMORFİZMİ İLE AKCİĞER KANSERİ İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI ve OKSİDATİF HASARIN BİYOGÖSTERGESİ 8-OHdG ÖLÇÜMÜ

Akciğer kanseri dünyada yaygın olarak görülen ve mortalite oranı yüksek olan kanserlerin başında yer alır. Etiyolojisindeki en önemli etken sigara olmakla birlikte pek çok çevresel faktör ve bireylerin genetik özellikleri akciğer kanseri gelişiminde rol oynamaktadır. Sigara ile akciğer kanseri arasındaki bağlantı, Reaktif Oksijen Türleri (ROT) tarafından lipid, protein ve DNA'da meydana gelen oksidatif stresdir. Endojen ve ekzojen kaynaklar tarafından üretilen ROT'lar DNA'da önemli lezyonlardan biri olan 8-hidroksiguanin (8-OHG) oluşumuna neden olur. 8-OHG baz çıkarma onarım yolağında görev alan 8-hidroksiguanin DNA glikozilaz (OGG1) enzimi ile onarılır. Onarılamaması durumunda DNA'da GC→TA transversiyonlarına neden olarak mutajenik etki göstermektedir. OGG1 geninde sıkça görülen Ser326Cys polimorfizminin enzim aktivitesinde fonksiyonel değişikliğe neden olduğu yönünde çelişkili sonuçlar mevcuttur. Bu sebeple OGG1 Ser326Cys polimorfizmi ile kanser ilişkisinin saptanması ve bireylerde oksidatif hasarın biyogöstergesi olan 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) miktarının ölçülmesi hedeflenmiştir.

Akciğer kanser teşhisi konmuş 165 hasta ve 250 sağlıklı bireyde PCR-RFLP metodu ile yapılan genotipleme çalışmasının ardından Türk populasyonunda OGG1 Ser326Cys genotipi ile akciğer kanseri arasında anlamlı bir ilişki olmadığı belirlenmiştir. Kemoterapi ve radyoterapi almamış kanserli hastalar ve sağlıklı bireylerde idrardan ELISA yöntemiyle ölçülen 8-OHdG atılım düzeylerinde de anlamlı bir fark olmadığı gözlenmiştir. Beklenilenin tersine, Ser326Cys polimorfizmi ve akciğer kanseri riski arasında günde içilen sigara miktarına göre ilişki incelendiğinde, günde >20 sigaradan fazla içen varyant genotipe sahip bireylerin akciğer kanserine yakalanma risklerinde düşüş olduğu bulunmuştur. Birden fazla onarım genindeki polimorfizmlerin kombine etkilerinin analizi ile birlikte sigara ve diğer risk faktörlerinin neden olduğu oksidatif stresin birden fazla ürününün ölçülmesi, karsinogenez sürecinde genetik varyasyonun etkisini daha iyi açıklamamıza yardımcı olabilecektir.

Anahtar Sözcükler: Genetik polimorfizm, 8-hidroksiguanin DNA glikozilaz (OGG1), oksidatif hasar, akciğer kanseri.

8. SUMMARY

ASSOCIATION OF THE OGG1 SER326CYS POLYMORPHISM WITH LUNG CANCER RISK AND 8-OHdG LEVELS AS A BIOMARKER OF OXIDATIVE DAMAGE IN TURKISH POPULATION

Lung cancer is the most common cancer and has the highest mortality rate in the world. The dominant role of tobacco smoke as a causative factor in lung cancer has been well established. Environmental and genetic predisposition can also play an important role in development of lung cancer. The connection between smoking and these diseases is oxidative stress, a condition in which lipids, proteins and DNA are damaged by the reactive oxygen species. Reactive Oxygen Species (ROS) formed by exogeneously and endogeneously processes cause oxidative damage to DNA. 8-hydroxyguanine (8-OHG) is one of the major lesions and repaired by 8-oxoguanine DNA glycosylase (OGG1) which plays an important role in Base Excision Repair (BER) system. 8-OHG is highly mutagenic and, if not excised /repaired on DNA replication, can cause GC to TA transversion mutations. There are many conflicting studies which are showing the association between OGG1 activity and OGG1 Ser326Cys polymorphism. Thus, in this study, it was aimed to investigate the relation between OGG1 Ser326Cys polymorphism and the risk of lung cancer and to measure the levels of urinary 8-OHdG as a biomarker of oxidative DNA damage.

One hundred sixty-five subjects with lung cancer and 250 healthy control subjects were genotyped by Restriction Fragment Length Polymorphism-Polymerase Chain Reaction (RFLP-PCR) for OGG1 Ser326Cys polymorphism. We could not find any association between OGG1 Ser326Cys polymorphism and the risk of lung cancer. It was also measured urinary 8-OHdG levels by ELISA immunoassay in patients (no received any chemotherapy and radiotherapy) and healthy control subjects. There was no significant difference between patients and control subjects. Surprisingly, our data demonstrated that subjects, with carrying variant genotype, who smoked more than 20 cigarettes /day were, decreased the risk of cancer. Investigating of the combined effects of polymorphisms within many DNA repair genes, measuring products of oxidative stress from smoking and other risk factors may help to clarify the influence of genetic variation in the carcinogenic process.

Key words: Genetic polymorphism, 8-hydroxyguanine DNA glycosylase (OGG1), oxidative damage, lung cancer

9. KAYNAKLAR

1. Hung RJ, Brennan P, Canzian F, Szeszenia-Dabrowska N, Zaridze D, Lissowska J, et al. Large-Scale Investigation of Base Excision Repair Genetic Polymorphisms and Lung Cancer Risk in a Multicenter Study. *Journal of the National Cancer Institute* 2005; 97(8): 567-576.
2. Audeh W. Genetic predisposition to cancer: Malfunction or maladaptation? In: Goldspiel BR. *Horizons in Cancer Therapeutics*. 1st ed. Pennsylvania: Meniscus Educational Institutes; 2003, p. 3-19.
3. Kotnis A, Sarin R, Mulherkar R. Genotype, phenotype and cancer: Role of low penetrance genes and environment in tumour susceptibility. *J. Biosci.* 2005; 30(1): 93–102.
4. Weiss JM, Goode EL, Ladiges WC, Ulrich CM. Polymorphic Variation in hOGG1 and Risk of Cancer: A Review of the Functional and Epidemiologic Literature. *Molecular Carcinogenesis* 2005; 42:127–141.
5. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. *Global Cancer Statistics, 2002*. *Cancer J Clin* 2005; 55: 74–108.
6. T.C. Sağlık Bakanlığı Yıl Bazında Kansere İstatistikleri [İnternette] 1999 [28.04.2007 okundu] Elektronik adresi: <http://www.saglik.gov.tr/TR/BelgeGoster.aspx?F6E10F8892433CFF71BE64510F6C8BC92747D9FFFE7A1226>
7. Hecht SS. Tobacco Smoke Carcinogens and Lung Cancer. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91:1194–1210.
8. Au WW. Usefulness of biomarkers in population studies: From exposure to susceptibility and to prediction of cancer. *Int. J. Hyg. Environ Health* 2007; 210: 239–246.
9. Paz-Elizur T, Krupsky M, Blumenstein S, Elinger D, Schechtman E, Livneh Z. DNA Repair Activity for Oxidative Damage and Risk of Lung Cancer. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95:1312–19.
10. Elahi A, Zheng Z, Park J, Eyring K, McCaffrey T, Lazarus P. The human OGG1 DNA repair enzyme and its association with orolaryngeal cancer risk. *Carcinogenesis*, 2002; 23(7): 1229-1234.
11. Cooke MS, Evans MD, Dizdaroğlu M, Lunec J. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *Faseb J.* 2003;17: 1195-1214.

12. Gimisis T, Cismas C. Isolation, Characterization, and Independent Synthesis of Guanine Oxidation Products. *Eur. J. Org. Chem.* 2006; 1351-1378.
13. Kim J, Park YJ, Kim KH, Kim J II, Song BJ, Lee MS, Kim CN, Chang SH. hOGG1 Ser326Cys polymorphism modifies the significance of the environmental risk factor for colon cancer. *World J Gastroenterol* 2003; 9(5): 956-960.
14. Le Marchand L, Donlon T, Lum-Jones A, Seifried A, Wilkens LR. Association of the hOGG1 Ser326Cys Polymorphism with Lung Cancer Risk. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 2002; 11: 409-412.
15. Berwick M, Vineis P. Markers of DNA Repair and Susceptibility to Cancer in Humans: an Epidemiologic Review. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 874-97.
16. Shinmura K, Yamaguchi S, Saitoh T, Kohno T, Yokota J. Somatic mutations and single nucleotide polymorphisms of base excision repair genes involved in the repair of 8-hydroxyguanine in damaged DNA. *Cancer Letters* 2001; 166: 65-69.
17. Janssen K, Schlink K, Götte W, Hippler B, Kaina B, Oesch F. DNA repair activity of 8-oxoguanine DNA glycosylase 1 (OGG1) in human lymphocytes is not dependent on genetic polymorphism Ser326/Cys326. *Mutation Research* 2001; 486: 207-216.
18. Xu J, Zheng SL, Turner A, Isaacs SD, Wiley KE, Hawkins GA, et al. Associations between hOGG1 Sequence Variants and Prostate Cancer Susceptibility. *Cancer Res.* 2002; 62: 2253–2257.
19. Kohno T, Shinmura K, Tosaka M, Tani M, Kim S, Sugimura H, et al. Genetic polymorphisms and alternative splicing of the hOGG1 gene, that is involved in the repair of 8-hydroxyguanine in damaged DNA. *Oncogene* 1998; 16: 3219-3225.
20. Vogel U, Olsen A, Wallin H, Overvad K, Tjønneland A, Nex BA. No Association between OGG1 Ser326Cys and Risk of Basal Cell Carcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004;13(10): 1680-1681.
21. Boiteux S, Radicella JP. The Human OGG1 Gene: Structure, Functions, and Its Implication in the Process of Carcinogenesis. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 2000; 377(1): 1-8.

22. Forgacs E, Zöchbauer-Müller S, Olah E, Minna JD. Molecular Genetic Abnormalities in the Pathogenesis of Human Lung Cancer. *Pathology Oncology Research* 2001; 7: 6-13,
23. Sugimura H, Kohno T, Wakai K, Nagura K, Genka K, Igarashi H, et al. hOGG1 Ser326Cys Polymorphism and Lung Cancer Susceptibility. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 1999; 8: 669-674.
24. Caporaso N. The Molecular Epidemiology of Oxidative Damage to DNA and Cancer. *Journal of the National Cancer Institute* 2003; 95(17): 1263-1265.
25. Loft S, Svoboda P, Kasai H, Tjønneland A, Vogel U, Møller P, Overvad K, Raaschou-Nielsen O. Prospective study of 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine excretion and the risk of lung cancer. *Carcinogenesis* 2006; 27(6): 1245-1250,
26. Halliwell B. Tell me about free radicals, doctor: a review. *Journal of the Royal Society of Medicine* 1989; 82: 747-752.
27. Mercan U. Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi, *YYU Vet Fak Derg*, 2004; 15(1-2): 91:96.
28. Loft S, Møller P. Oxidative DNA Damage and Human Cancer: Need for Cohort Studies. *Antioxid. Redox Signal.* 2006; 8: 1021–1031.
29. Collins AR. Oxidative DNA damage, antioxidants, and cancer. *BioEssays* 1999; 21: 238–246.
30. Burçak G, Andican G. Oksidatif DNA hasarı ve yaşlanma. *Cerrahpaşa J Med* 2004; 35: 159-169.
31. DNA Hasarı, Onarımı ve Hastalıklarla İlişkisi Kursu (CD-ROM). Dizdaroglu M. Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1. İzmir: Dokuz Eylül Üniversitesi, 2007.
32. Boiteux S, Radicella JP. Base excision repair of 8-hydroxyguanine protects DNA from endogenous oxidative stress. *Biochimie.* 1999; 81(1-2): 59-67.
33. Dinçer Y, Akçay T. DNA hasarı. *Türk Biyokimya Dergisi* 2000; 25(2): 73-79.
34. Jaruga P, Dizdaroglu M. Repair of products of oxidative DNA base damage in human cells. *Nucleic Acids Research* 1996; 24(8): 1389–1394.

35. Dizdaroğlu M. Mechanisms of oksidative DNA damage; lesions and their measurement. In: Dizdaroğlu M, Karakaya AE. *Advances in DNA Damage and Repair: Oxygen Radical Effects, Cellular Protection, and Biological Consequences*. 1st ed. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers; 1999. p.67-87.
36. Klunglanda A, Bjellandb S. Oxidative damage to purines in DNA: Role of mammalian Ogg1. *DNA Repair* 2007; 6: 481–488.
37. Hu J, Imam SZ, Hashiguchi K, Souza-Pinto NC, Bohr VA. Phosphorylation of human oxoguanine DNA glycosylase (a-OGG1) modulates its function *Nucleic Acids Research*, 2005; 33(10): 3271–3282.
38. Audebert M, Chevillard S, Levalois C, Gyapay G, Vieillefond A, Klijanienko J, et al. Alterations of the DNA Repair Gene OGG1 in Human Clear Cell Carcinomas of the Kidney. *Cancer Research* 2000; 60: 4740–4744.
39. Chevillard S, Radicella JP, Levalois C, Lebeau J, Poupon M, Oudard S, et al. Mutations in OGG1, a gene involved in the repair of oxidative DNA damage, are found in human lung and kidney tumours. *Oncogene* 1998; 16: 3083-3086.
40. Stern MC, Umbach DM, Gils CH, Lunn RM, Taylor JA. DNA Repair Gene XRCC1 Polymorphisms, Smoking and Bladder Cancer Risk. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 2001; 10: 125–131.
41. Asami S, Hirano T, Yamaguchi R, Tomioka Y, Itoh H, Kasai H. Increase of a Type of Oxidative DNA Damage, 8-Hydroxyguanine, and Its Repair Activity in Human Leukocytes by Cigarette Smoking. *Cancer Research* 1996; 56: 2546-2549.
42. Loft S, Poulsen HE. Cancer risk and oxidative DNA damage in man. *J Mol Med* 1996; 74(6): 297-312.
43. Asami S, Manabe H, Miyake J, Tsurudome Y, Hirano T, Yamaguchi R, Itoh H, Kasai H. Cigarette smoking induces an increase in oxidative DNA damage, 8-hydroxydeoxyguanosine, in a central site of the human lung. *Carcinogenesis* 1997; 18(9): 1763–1766.
44. Haghdooost S, Sjölander L, Czene S, Harms-Ringdahl M. The nucleotide pool is a significant target for oxidative stress. *Free Radical Biology & Medicine* 2006; 41: 620–626.
45. Bjelland S, Seeberg E. Mutagenicity, toxicity and repair of DNA base damage induced by oxidation. *Mutation Research* 2003; 531: 37–80.

46. Olinski R, Rozalski R, Gackowski D, Foksinski M, Siomek A, Cooke MS. Urinary Measurement of 8-OxodG, 8-OxoGua, and 5HmUra: A Noninvasive Assessment of Oxidative Damage to DNA. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2006; 8(5-6): 1011-1019.
47. Olinski R, Gackowski D, Rozalski R, Foksinski M, Bialkowski K. Oxidative DNA damage in cancer patients: a cause or a consequence of the disease development? *Mutation Research* 2003; 531: 177–190.
48. Larsen E, Kwon K, Coin F, Egly J, Klungland A. Transcription activities at 8-oxoG lesions in DNA. *DNA Repair* 2004; 3: 1457-1468.
49. Müftüoğlu M. DNA Tamiri ve Erken Yaşlanma Sendromları. *Turkish Journal of Biochemistry*, 2003; 28 (1); 20-24.
50. Jia L, Shafirovich V, Geacintov NE, Broyde S. Lesion specificity in the base excision repair enzyme hNei1: modeling and dynamics studies. *Biochemistry* 2007; 8;46(18): 5305-14.
51. Karahalil B, Souza-Pinto NC, Parsons JL, Elder RH, Bohr VA. Compromised Incision of Oxidized Pyrimidines in Liver Mitochondria of Mice Deficient in NTH1 and OGG1 Glycosylases. *The Journal Of Biological Chemistry* 2003; 278(36): 33701–33707.
52. Takezaki T, Gao C, Wu J, Li Z, Wang J, Ding J et al. hOGG1 ser326cys polymorphism and modification by Environmental factors of stomach cancer risk in chinese. *Int. J. Cancer* 2002; 99: 624–627.
53. Wua LL, Chioud CC, Change PY, Wua JT. Urinary 8-OHdG: a marker of oxidative stress to DNA and a risk factor for cancer, atherosclerosis and diabetics. *Clinica Chimica Acta* 2004; 339: 1 –9.
54. Kima J, Hyun J, Hayakawa H, Choi S, Choi J, Chung M. Exogenous 8-oxo-dG is not utilized for nucleotide synthesis but enhances the accumulation of 8-oxo-Gua in DNA through error-prone DNA synthesis. *Mutation Research* 2006; 596: 128–136.
55. Shimoi K, Kasai H, Yokota N, Toyokuni S, Kinae N. Comparison between High-Performance Liquid Chromatography and Enzyme-linked Immunosorbent Assay for the Determination of 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine in Human Urine. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 2002; 11: 67–770.
56. Collins AR, Dusinska M, Gedik CM, Stetina R. Oxidative Damage to DNA: Do We Have a Reliable Biomarker? *Environmental Health Perspect*, 1996; 104(S3)

57. Wen Kuo H-, Choub S, Wen Hua T-, Wu F, Chend D. Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) and genetic polymorphisms in breast cancer patients. *Mutation Research* 2007; 631: 62–68.
58. Cooke MS, Evans MD, Dove R, Rozalski R, Gackowski D, Siomek A, DNA repair is responsible for the presence of oxidatively damaged DNA lesions in urine. *Mutation Research* 2005; 574: 58–66.
59. Avogbe PH, Ayi-Fanou L, Autrup H, Loft S, Fayomi B, Sanni A. Ultrafine particulate matter and high-level benzene urban air pollution in relation to oxidative DNA damage. *Carcinogenesis* 2005; 26(3): 613–620.
60. Cooke MS, Evans MD, Lunec J. DNA Repair: Insights from Urinary Lesion Analysis *Free Radical Research* 2002; 36 (9): 929–932.
61. Yoshida R, Ogawa Y, Kasai H. Urinary 8-Oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine Values Measured by an ELISA Correlated Well with Measurements by High-Performance Liquid Chromatography with Electrochemical Detection *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 2002; 11: 1076–1081.
62. Harri M, Kasai H, Mori T, Tornaeus J, Savela K, Peltonen K. Analysis of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine in urine using high-performance liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 2007; 853:242–246.
63. Au WW. Heritable susceptibility factors for the development of cancer. *J Radiat Res.* 2006;47: B13-7.
64. Wood RD, Mitchell M, Sgouros J, Lindahl T. Human DNA Repair Genes. *Science* 2001; 291(16): 1284-1289.
65. Machado CR, Menck CFM. Human DNA repair diseases: From genome instability to cancer. *Braz. J. Genet.* 1997; 20(4)
66. Goode EL, Ulrich CM, Potter JD. Polymorphisms in DNA Repair Genes and Associations with Cancer Risk. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 2002; 11: 1513-1530.
67. Wood RD, Mitchell M, Lindahl T. Human DNA repair genes, 2005. *Mutation Research* 2005; 577: 275-283.
68. Friedberg EC. DNA damage and repair. *Nature* 2003; 421(23): 436-440.

69. National Cancer Institute, Lung Cancer [27.04.2007] Elektronik adresi: <http://www.cancer.gov/cancertopics/types/lung>
70. Yurdakul AS, Çalışır HC, Demirağ F, Taci N, Öğretensoy M. Akciğer Kanserinin Histolojik Tiplerinin Dağılımı (2216 olgunun analizi). Toraks Dergisi 2002; 3(1): 59-65.
71. Bouchardy C, Benhamou S, Jourenkova N, Dayer P, Hirvonen A. Metabolic genetic polymorphisms and susceptibility to lung cancer. Lung Cancer 2001; 32: 109-112.
72. Wu X, Zhao H, Suk R, Christiani DC. Genetic susceptibility to tobacco-related cancer. Oncogene 2004; 23: 6500-6523.
73. Gursel G, Levent E, Ozturk C, Karalezli A. Hospital based survey of lung cancer in Turkey, a developing country, where smoking is highly prevalent. Lung Cancer 1998; 21: 127-132.
74. Minna JD, Roth JA, Gazdar AF. Focus on lung cancer. Cancer Cell 2002; 1: 49-52.
75. Köktürk N, Öztürk C, Kırıçoğlu CE. Sigara Ve Akciğer Kanseri. Solunum 2003; 5(3): 139-145.
76. Adlkofer F. Lung cancer due to passive smoking--a review. Int Arch Occup Environ Health 2001; 74(4):231-41.
77. Kuo C, Chen Y, Chao J, Tsai C, Perng R. Non-small Cell Lung Cancer in Very Young and Very Old Patients. Chest 2000; 117: 354-357.
78. Alberg AJ, Samet JM. Epidemiology of Lung Cancer, Chest 2003; 123:21-49.
79. Boffetta P, Hashibe M. Alcohol and cancer. Lancet Oncol 2006; 7: 149-56.
80. Hu YC, Ahrendt SA. hOGG1 Ser326Cys polymorphism and G:C-to-T:A mutations: No evidence for a role in tobacco-related non small cell lung cancer. Int. J. Cancer 2005; 114: 387-393.
81. Foksinski M, Gackowski DI, Rozalski R, Siomek A, Guz J, Szpila A. Effects of basal level of antioxidants on oxidative DNA damage in humans. Eur J Nutr 2007
82. Sorensen M, Ole R, HANSEN RD, Jonneland AT, Overvad K, Vogel U. Interactions between the OGG1 Ser326Cys polymorphism and intake of

fruit and vegetables in relation to lung cancer. *Free Radical Research* 2006; 40(8): 885-891.

83. Ekberg-Aronssona M, Nilssonb PM, Nilssonb J, Pehrssona K, Lofdahla C. Socio-economic status and lung cancer risk including histologic subtyping-A longitudinal study. *Lung Cancer* 2006; 51: 21-29.

84. Mahjub H, Sadri GH. Meta-analysis of case-referent studies of specific environmental or occupational pollutants on lung cancer. *Indian J. Cancer* 2006; 43(4): 169-173.

85. Steenland K, Loomis D, Shy C, Simonsen N. Review of occupational lung carcinogens. *Am J Ind Med*. 1996; 29(5): 474-90.

86. Kurihara N, Wada O. Silicosis and smoking strongly increase lung cancer risk in silica-exposed workers. *Ind Health*. 2004; 42(3): 303-14.

87. Centers for Disease Control and Prevention, Lung Cancer Risk Factors [internette] [02.05.2007 okundu] Elektronik adresi: http://www.cdc.gov/cancer/lung/basic_info/risk_factors.htm

88. Mastrangelo G, Fedeli U, Fadda E, Milan G, Turato A, Pavanello S. Lung cancer risk in workers exposed to poly(vinyl chloride) dust: a nested case-referent study. *Occup Environ Med* 2003; 60(6): 423-8.

89. Nawrot T, Plusquin M, Hogervorst J, Roels HA, Celis H, Thijs L, et al. Environmental exposure to cadmium and risk of cancer:a prospective population-based study. *Lancet Oncol* 2006; 7: 119–26.

90. Knaapen AM, Borm PJ, Albrecht C, Schins RP. Inhaled particles and lung cancer. Part A: Mechanisms.*Int J Cancer*. 2004;109(6):799-809.

91. O'reilly KMA, Mclaughlin AM, Beckett WS, Sime PJ. Asbestos-Related Lung Disease. *Am Fam Physician* 2007;75: 683-690.

92. Chen YC, Chen JH, Richard K, Chen PY, Christiani DC. Lung adenocarcinoma and human papillomavirus infection. *Cancer*. 2004; 101(6):1428-36.

93. Alyson J. Littman, Mark D. Thornquist, Emily White, Lisa A. Jackson, Gary E. Goodman, Thomas L. Vaughan. Prior lung disease and risk of lung cancer in a large prospective study. *Cancer Causes and Control* 2004; 15(8): 819-827.

94. Sorensena M, Autrupb H, Tjonneland A, Overvad K, Raaschou-Nielsen O. Genetic polymorphisms in CYP1B1, GSTA1, NQO1 and NAT2 and the risk of lung cancer. *Cancer Letters* 2005; 221: 185-190.
95. Kiyohara C, Otsu A, Shirakawa T, Fukuda S, Hopkin JM. Genetic polymorphisms and lung cancer susceptibility: a review. *Lung Cancer* 2002;37:241-256.
96. Araki J, Kobayashi Yoshina, Iwasa M, Urawa N, Gabazza EC, Taguchi O, Kaito M, Adachi Y. Polymorphism of UDP-glucuronosyltransferase 1A7 gene:A possible new risk factor for lung cancer. *European Journal of Cancer* 2005; 41: 2360–2365.
97. Zienolddiny S, Campa D, Lind H, Ryberg D, Skaug V, Stangeland L, et al. Polymorphisms of DNA repair genes and risk of non-small cell lung cancer. *Carcinogenesis* 2006; 27(3): 560-567.
98. Su D, Ma S, Liu P, Jiang Z, Lv W, Zhang Y et al. Genetic polymorphisms and treatment response in advanced non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2007; 56 (2):281-8.
99. Kohno T, Sakiyama T, Kunitoh H, Goto K, Nishiwaki Y, Saito D, et al. Association of polymorphisms in the MTH1 gene with small cell lung carcinoma risk. *Carcinogenesis* 2006; 27 (12): 2448-2454.
100. Chen I, Abul E., Pow-Sang J, Lazarus P, Park J. Association between polymorphism of human oxoguanine glycosylase 1 and risk of prostate cancer. *The Journal of Urology* 2003; 170: 2471–2474.
101. Monden Y, Arai T, Asano M, Ohtsuka E, Aburatani H, Nishimura S. Human MMH (OGG1) Type 1a Protein Is a Major Enzyme for Repair of 8-Hydroxyguanine Lesions in Human Cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1999; 258: 605–610.
102. Aburatani H, Hippo Y, Ishida T, Takashima R, Matsuba C, Kodama T, et al. Cloning and Characterization of Mammalian 8-Hydroxyguanine--specific DNA Glycosylase/Apurinic, Apyrimidinic Lyase, a Functional mutM Homologue. *Cancer Res* 1997; 57: 2151-2156.
103. Genecards, OGG1 [internette] 2007 [02.05.2007 okundu] Elektronik adresi: <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=OGG1>
104. Bjoras M, Luna L, Johnsen B, Hoff E, Haug T, Rognes T, Seeberg E. Opposite base-dependent reactions of a human base excision repair enzyme on DNA containing 7,8-dihydro-8-oxoguanine and abasic sites. *The EMBO Journal* 1997; 16 (20): 6314-6322.

105. Lu R, Nash HM, Verdine GL. A mammalian DNA repair enzyme that excises oxidatively damaged guanines maps to a locus frequently lost in lung cancer. *Current Biology* 1997; 7: 397-407.
106. Roldan-arjona T, Wei YF, Carter KC, Klungland A, Anselmino C, Wang RP, Augustus M, Lindahl T. Genetics Molecular cloning and functional expression of a human cDNA encoding the antimutator enzyme 8-hydroxyguanine-DNA glycosylase. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1997; 94: 8016-8020.
107. Radicella JP, Dherin C, Desmaze C, Fox MS, Boiteux S. Genetics Cloning and characterization of hOGG1, a human homolog of the OGG1 gene of *Saccharomyces cerevisiae*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1997; 94: 8010-8015.
108. Rosenquist TA, Zharkov DO, Grollman AP. Genetics Cloning and characterization of a mammalian 8-oxoguanine DNA glycosylase. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1997; 94: 7429-7434.
109. Arai K, Morishita K, Shinmura K, Kohno T, Kim SR, Nohmi T, et al. Cloning of a human homolog of the yeast OGG1 gene that is involved in the repair of oxidative DNA damage. *Oncogene* 1997; 14: 2857-2861.
110. Sekiguchi M, Tsuzuki T. Oxidative nucleotide damage: consequences and prevention. *Oncogene* 2002; 21: 8895-8904.
111. Cunningham RP. DNA repair: How yeast repairs radical. *Current Biology* 1996; 6(10): 1230-1233.
112. Tsuzuki T, Nakatsu Y, Nakabeppu Y. Significance of error-avoiding mechanisms for oxidative DNA damage in carcinogenesis. *Cancer Sci.* 2007; 98(4): 465-470.
113. Van Der Kemp PA, Thomas D, Barbey R, De Oliveira R, Boiteux S. Genetics Cloning and expression in *Escherichia coli* of the OGG1 gene of *Saccharomyces cerevisiae*, which codes for a DNA glycosylase that excises 7,8-dihydro-8-oxoguanine and 2,6-diamino- 4-hydroxy-5-N-methylformamidopyrimidine. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1996; 93: 5197-5202.
114. Karahalil B, Girard PM, Boiteux S, Dizdaroglu M. Substrate specificity of the Ogg1 protein of *Saccharomyces cerevisiae*: excision of guanine lesions produced in DNA by ionizing radiation- or hydrogen peroxide/metal ion-generated free radicals. *Nucleic Acids Research* 1998; 26(5): 1228-1232.

115. Nash HM, Bruner SD, Scharer OD, Kawate T, Addona TA, Spooner E, Lane WS, GL Verdine. Cloning of a yeast 8-oxoguanine DNA glycosylase reveals the existence of a base-excision DNA-repair protein superfamily. *Current Biology* 1996; 6(8): 968-980.
116. Augusto-Pinto L, Regis da Silva CG, Oliveira Lopes D, Machado-Silva A, Machado CR. *Escherichia coli* as a model system to study DNA repair genes of eukaryotic organisms *Genet. Mol. Res.* 2003; 2(1): 77-91.
117. Burdon RH. *Genes and the Environment*. 1st ed. Padstow (UK): Taylor and Francis; 1999.
118. Karahalil B, Hogue BA, Souza-Pinto NC, Bohr VA. Base excision repair capacity in mitochondria and nuclei: tissue-specific variations. *Faseb J.* 2002; 16: 1895-1902.
119. Human DNA Repair Genes [internette] 2007 [02.05.2007 okundu] Elektronik adresi: http://www.cgal.icnet.uk/DNA_Repair_Genes.html#BER
120. Fortini P, Pascucci B, Parlanti E, D'Errico M, Simonelli V, Dogliotti E. 8-Oxoguanine DNA damage: at the crossroad of alternative repair pathways. *Mutation Research* 2003; 531: 127-139.
121. Radaka Z, Goto S, Nakamoto H, Udud K, Papai Z, Horvath I. Lung cancer in smoking patients inversely alters the activity of hOGG1 and hNTH1. *Cancer Letters* 2005; 219: 191-195.
122. Sidorenko VS, Nevinsky GA, Zharkov DO. Mechanism of interaction between human 8-oxoguanine-DNA glycosylase and AP endonuclease. *DNA Repair* 2007; 6: 317-328.
123. DNA Repair [internette] 2005 [02.07.2007 okundu] Elektronik adresi: life.nctu.edu.tw/~mb/c30301.htm
124. Tchou J, Kasai H, Shibutani S, Chung MH, Laval J, Grollman AP, Nishimura S. 8-oxoguanine (8-hydroxyguanine) DNA glycosylase and its substrate specificity. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1991; 88: 4690-4694.
125. Hazra TK, Izumi T, Moidut L, Floyd RA, Mitra S. The presence of two distinct 8-oxoguanine repair enzymes in human cells: their potential complementary roles in preventing mutation. *Nucleic Acid Research* 1998; 26 (22): 5116-5122.
126. Shinmura K, Kohno T, Kasai H, Koda K, Sugimura H, Yokota J. Infrequent mutations of the hOGG1 gene, that is involved in the excision of

8-hydroxyguanine in damaged DNA, in human gastric cancer. *Jpn J Cancer Res* 1998 ;89(8): 825-8.

127. Choi JY, Kim HS, Kang HK, Lee DW, Choi EM, Chung MH
Thermolabile 8-Hydroxyguanine DNA Glycosylase With Low Activity in Senescence-Accelerated Mice due to a Single-Base Mutation. *Free Radical Biology & Medicine*, 1999; 27(7/8): 848-854.

128. Blons H, Radicella JP, Laccourreye O, Brasnu D, Beaune P, Boiteux S, Laurent-Puig P. Frequent Allelic Loss at Chromosome 3p Distinct from Genetic Alterations of the 8-Oxoguanine DNA Glycosylase 1 Gene in Head and Neck Cancer. *Molecular Carcinogenesis* 1999; 26: 254-260.

129. Ishida T, Takashima R, Fukayama M, Hamada C, Hippo Y, Fujii T, et al. New DNA Polymorphisms of Human Mmh/Ogg1 Gene: Prevalence Of One Polymorphism Among Lung-Adenocarcinoma Patients in Japanese. *Int. J. Cancer* 1999; 80: 18–21.

130. Wikman H, Risch A, Klimek F, Schmezer P, Spiegelhalder B, Dienemann H, et al. hOGG1 polymorphism and loss of heterozygosity (loh): Significance for lung cancer susceptibility in a caucasian population. *Int. J. Cancer* 2000; 88: 932–937.

131. Dherin C, Radicella JP, Dizdaroglu M, Boiteux S. Excision of oxidatively damaged DNA bases by the human alpha-hOgg1 protein and the polymorphic alpha-hOgg1(Ser326Cys) protein which is frequently found in human populations. *Nucleic Acids Res* 1999; 27(20): 4001-7.

132. Smart DJ, Chipman JK, Hodges NJ. Activity of OGG1 variants in the repair of pro-oxidant-induced 8-oxo-2'-deoxyguanosine. *DNA repair* 2006; 5: 1337-1345.

133. Kima SR, Matsui K, Yamadaa M, Kohno T, Kasai H, Yokota J, Nohmia T. Suppression of chemically induced and spontaneously occurring oxidative mutagenesis by three alleles of human OGG1 gene encoding 8-hydroxyguanine DNA glycosylase. *Mutation Research* 2004; 554: 365-374.

134. Entrez Nükleotid Veri Tabanı, OGG1 [internette] [10.01.2007 okundu]
Elektronik adresi:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/viewer.fcgi?db=Nucleotide&dopt=GenBank&val=4210713>

135. Hashimoto T, Uchida K, Okayama N, Imae Y, Suehiro Y, Hamanaka Y, et al. Interaction of OGG1 Ser326Cys Polymorphism With Cigarette

Smoking in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Molecular Carcinogenesis* 2006; 45: 344-348.

136. Karahalil B, Kocabas NA. hOGG1 SER326CYS genetic polymorphism in a Turkish population. *Arch Toxicol* 2005; 79: 377-380.

137. Xing DY, Tan W, Song N, Lin DX. Ser326Cys Polymorphism in hOGG1 Gene and Risk of Esophageal Cancer in a Chinese Population. *Int. J. Cancer (Pred. Oncol.)* 2001; 95: 140-143.

138. Sunaga N, Kohno T, Yanagitani N, Sugimura H, Kunitoh H, Tamura T, et al. Contribution of the NQO1 and GSTT1 Polymorphisms to Lung Adenocarcinoma Susceptibility. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 2002; 11: 730-738.

139. Ito H, Hamajima N, Takezaki T, Matsuo K, Tajima K, Hatooka S, Mitsudomi T, Suyama M, Sato S, Ueda R. A limited association of OGG1 Ser326Cys polymorphism for adenocarcinoma of the lung. *J Epidemiol.* 2002 May; 12(3): 258-65.

140. Choi JY, Hamajima N, Tajima K, Yoo KY, Yoon KS, Park SK, et al. hOGG1 Ser326Cys polymorphism and breast cancer risk among Asian women. *Breast Cancer Research and Treatment* 2003; 79: 59-62.

141. Cho EY, Hildesheim A, Chen CJ, Hsu MM, Chen IH, Mittl BF, et al. Nasopharyngeal Carcinoma and Genetic Polymorphisms of DNA Repair Enzymes XRCC1 and hOGG1. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 2003; 12: 1100-1104.

142. Vogel U, Nexø BA, Olsen A, Thomsen B, Jacobsen NR, Wallin H, Overvad K, Tjønneland A. No Association Between OGG1 Ser326Cys Polymorphism and Breast Cancer Risk. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 2003;12: 170-171.

143. Parka J, Chena L, Tockmana MS, Elahia A, Lazarusa P. The human 8-oxoguanine DNA N-glycosylase 1 (hOGG1) DNA repair enzyme and its association with lung cancer risk. *Pharmacogenetics* 2004; 14: 103-109.

144. Vogel U, Nexø BA, Olsen A, Wallin H, Overvad K, Tjønneland A, Raaschou-Nielsen O. No Association Between Base Excision Repair Gene Polymorphisms and Risk of Lung Cancer. *Biochemical Genetics* 2004; 42(11/12): 453-460.

145. Tsukino H, Hanaoka T, Otani T, Iwasaki M, Kobayashi M, Hara M, et al. hOGG1 Ser326Cys polymorphism, interaction with environmental

exposures, and gastric cancer risk in Japanese populations. *Cancer Sci* 2004; 95: 977-983.

146. Niwaa Y, Matsuob K, Ito H, Hirose K, Tajima K, Nakanishi T. Association of XRCC1 Arg399Gln and OGG1 Ser326Cys polymorphisms with the risk of cervical cancer in Japanese subjects. *Gynecologic Oncology* 2005; 99: 43-49.

147. Kohno T, Kunitoh H, Toyama K, Yamamoto S, Kuchiba A, Saito D, et al. Association of the OGG1-Ser326Cys polymorphism with lung adenocarcinoma risk. *Cancer Sci* 2006; 97: 724-728.

148. Rossner P, Terry MB, Gammon MD, Zhang FF, Teitelbaum SL, SM Eng et al. OGG1 Polymorphisms and Breast Cancer Risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006; 15(4):

149. Osterod M, Hollenbach S, Hengstler JG, Barnes DE, Lindahl T, Epe B. Age-related and tissue-specific accumulation of oxidative DNA base damage in 7,8-dihydro-8-oxoguanine-DNA glycosylase (Ogg1) deficient mice. *Carcinogenesis*. 2001; 22(9): 1459-63.

150. Yamane A, Kohno T, Ito K, Sunaga N, Aoki K, Yoshimura K, et al. Differential ability of polymorphic OGG1 proteins to suppress mutagenesis induced by 8-hydroxyguanine in human cell in vivo. *Carcinogenesis* 2004; 25(9): 1689—1694.

151. Zhang Y, Newcomb PA, Egan KM, Titus-Ernstoff L, Chanock S, Welch R, et al. Genetic Polymorphisms in Base-Excision Repair Pathway Genes and Risk of Breast Cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006; 15(2): 353-8.

152. Nock NL, Cicek MS, Li L, Liu X, Rybicki BA, Moreira A, et al. Polymorphisms in estrogen bioactivation, detoxification and oxidative DNA base excision repair genes and prostate cancer risk. *Carcinogenesis* 2006; 27(9): 1842-1848.

153. Karahalil B, Kocabaş NA, Özçelik T. DNA repair gene polymorphisms and bladder cancer susceptibility in a Turkish population. *Anticancer Research* 2006; 26: 4955-4958.

154. Hasui Y, Hamanaka Y, Okayama N, Suehiro Y, Shinozaki F, Ueyama Y, Hinoda Y. Association of the OGG1 Ser326Cys Polymorphism With Tooth Loss. *Journal of Clinical Laboratory Analysis* 2006; 20: 47-51.

155. Mao G, Pan X, Zhu BB, Zhang Y, Yuan F, Huang J, et al. Identification and characterization of OGG1 mutations in patients with Alzheimer's disease. *Nucleic Acids Research* 2007; 35(8): 2759-2766.
156. Fukae J, Takanashi M, Kubo S, Nishioka K, Nakabeppu Y, Mori H, et al. Expression of 8-oxoguanine DNA glycosylase (OGG1) in Parkinson's disease and related neurodegenerative disorders. *Acta Neuropathol* 2005; 109: 256-262.
157. Lan J, Li W, Zhang F, Sun FY, Nagayama T, O'Horo C, Chen J. Inducible repair of oxidative DNA lesions in the rat brain after transient focal ischemia and reperfusion. *J Cereb Blood Flow Metab* 2003; 23(11): 1324-39.
158. Mabley JG, Pacher P, Deb A, Wallace R, Elder RH, Szabó C. Potential role for 8-oxoguanine DNA glycosylase in regulating inflammation. *Faseb*, 2004: 1-18.
159. Matullo G, Dunning AM, Guarrera S, Baynes C, Polidoro S, Garte S, et al. DNA repair polymorphisms and cancer risk in non-smokers in a cohort study. *Carcinogenesis* 2006; 27(5): 997–1007.
160. Lan Q, Mumford JL, Shen M, DeMarini DM, Bonner MR, He X et al. Oxidative damage-related genes AKR1C3 and OGG1 modulate risks for lung cancer due to exposure to PAH-rich coal combustion emissions. *Carcinogenesis* 2004; 25 (11):2177--2181,
161. Rayjean J. Hung, Janet Hall, Paul Brennan, and Paolo Boffetta. Genetic Polymorphisms in the Base Excision Repair Pathway and Cancer Risk:A HuGE Review. *Am J Epidemiol* 2005; 162: 925-942.
162. Chikako Kiyoharaa,* , Koichi Takayamab, Yoichi Nakanishi Association of genetic polymorphisms in the base excision repair pathway with lung cancer risk: A meta-analysis. *Lung Cancer* 2006; 54: 267—283.
163. De Ruyck K, Szaumkessel M, De Rudder I, Dehoorne A, Vral A, Claes K, et al. Polymorphisms in base-excision repair and nucleotide-excision repair genes in relation to lung cancer risk. *Mutation Research* 631 2007; 101–110.
164. Renkli Genetik Atlası.1. baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi; 2000. s. 56.
165. Fohlman J, Blomberg J, Fröman G, Engstrand L, Johansson A, Friman G. Microbial diagnosis with PCR will become clinically beneficial with a faster analysis. *Lakartidningen* 2004; 101(17):1488-92.

166. Kava A. Elektroforez Yöntemleri. Dicle Tıp Dergisi 2002; 29:3.
167. Ütük AE, Şimşek S, Köroğlu E. Echinococcus Cinsinin Moleküler Genetik Karakterizasyonu. Acta Parasitologica Turcica 2005; 29(3):171-176.
168. Mizushima Y, Kan S, Yoshida S, Sasaki S, Aoyama S, Nishida T. Changes in urinary levels of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine due to aging and smoking. Geriatrics and Gerontology International 2001; 1: 52–55.
169. Korkmaz GG, Buğdaycı G, Güçtekin A. Hipertansiyonlu hastalarda mikroalbuminüri tarama testi:Spot idrarda albumin/kreatinin oranı. Türkiye Klinikleri J. Med Sci 2005; 25:1-5.
170. Wyss M, Kaddurah-Daouk R. Creatine and Creatinine Metabolism. Physiol Rev 2000; 80:1107-1213.
171. Boiteux S, Radicella JP. Excision repair of 8-oxoguanine in eukaryotes. In: Dizdaroğlu M, Karakaya AE. Advances in DNA Damage and Repair: Oxygen Radical Effects, Cellular Protection, and Biological Consequences. 1st ed. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers; 1999. p.35-45.
172. Irie M, Tamae K, Iwamoto-Tanaka N, Kasai H. Occupational and lifestyle factors and urinary 8-hydroxydeoxyguanosine. Cancer Sci 2005; 96(9): 600– 606.
173. Chuang CY, Lee CC, Chang YK, Sung FC. Oxidative DNA damage estimated by urinary 8-hydroxydeoxyguanosine: influence of taxi driving, smoking and areca chewing. Chemosphere 2003; 52:1163–1171.
174. Erholaa M, Toyokunib S, Okadab K, Tanakab T, Hiaib H, Ochic H et al. Biomarker evidence of DNA oxidation in lung cancer patients:association of urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine excretion with radiotherapy, chemotherapy, and response to treatment. FEBS Letters 1997; 409: 287-291.
175. Tagesson C, Källberg M, Klintenberg C, Starkhammar H. Determination of urinary 8-hydroxydeoxyguanosine by automated coupled-column high performance liquid chromatography: a powerful technique for assaying in vivo oxidative DNA damage in cancer patients. Eur J Cancer 1995; 31A(6):934-40.

176. Yamamoto T, Hosokawa K, Tamura T, Kanno H, Urabe M, Honjo H. Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) levels in women with or without gynecologic cancer. *J Obstet Gynaecol Res* 1996; 22(4):359-63.
177. Miyake H, Hara I, Kamidono S, Eto H. Oxidative DNA damage in patients with prostate cancer and its response to treatment. *J Urol*. 2004; 171(4):1533-6.
178. Rozalski R, Gackowski D, Roszkowski K, Foksinski M, Olinski R. The Level of 8-Hydroxyguanine, a Possible Repair Product of Oxidative DNA Damage, Is Higher in Urine of Cancer Patients than in Control Subjects. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 2002; 11: 1072–1075.
179. Gackowski D, Speina E, Zielinska M, Kowalewski J, Rozalski R, Siomek A et al. Products of Oxidative DNA Damage and Repair as Possible Biomarkers of Susceptibility to Lung Cancer. *Cancer Research* 2003; 63: 4899–4902.
180. Prieme H, Loft S, Klarlund M, Gronbæk K, Tonnesen P, Poulsen HE. Effect of smoking cessation on oxidative DNA modification estimated by 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine excretion. *Carcinogenesis* 1998;19(2):347–351.
181. Toraason M, Butler MA, Ruder A, Forrester C, Taylor L, David LA, et al. Effect of perchloroethylene, smoking, and race on oxidative DNA damage in female dry cleaners. *Mutation Research* 2003, 539:9–18.

10. EKLER

ANKARA NUMUNE EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ ETİK KURUL KARARI

14/ 09 /2005

ADI: "Akciğer Kanseri Hastalarda Bireysel Duyarlılık ve OGG1 Genetik Polimorfizmi Arasındaki İlişkinin Tayini"

KOORDİNATÖR MERKEZ: Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Göğüs Cerrahisi Kliniği .

SORUMLU ARAŞTIRMACI: Dr. Serdar han

SORUMLU ARAŞTIRMACININ KURUMU: Ankara Numune Eğitim ve Araştırma
Hastanesi

KATILAN MERKEZ SAYISI: Tek merkez

ULUSAL/ULUSLAR ARASI: Ulusal

ÇALIŞMA İLACI:-

ETKEN MADDE:-

ÇIKIŞ TARİHİ: 14.09.2005

Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesinde yürütülmesi planlanan ve yukarıda adı, detay bilgileri ve araştırmacıları belirtilmiş olan araştırmanın protokolü ve dosyası okunmuş olup; Helsinki İnsan ve Hasta Bildirgesi ile Etik kurallara uygun bulunmuştur.

Doç. Dr. Erol GÖKA
Etik Kurul Başkanı

Üyeler:
Doç. Dr. Nesrin DİLBAZ

Doç. Dr. Ali ATAN

Dr. Yüksel KİLEÇ

Dr. Süreyya BARUN

Doç. Dr. Selda SEÇKİN

Ecz. Mustafa GÖNEN

Dr. İlker MAVİTUNA

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
DR.ABDURRAHMAN YURTARSLAN ANKARA ONKOLOJİ
EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
YEREL ETİK KURUL

Hastanemiz Yere. Etik Kurul'u 28.03.2005 tarihinde toplandı

1. Dr. Necati ALKIŞ, Prof. Dr. Bensu KARAHALİL ve Ecz. Esra EMERCE' tarafından araştırılması planlanan; Hastanemiz klinikleri ile Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı laboratuvarında yürütülecek olan "Akciğer kanserli ve jinekolojik malignansili hastalarda bireysel duyarlılık ve CGG1 genetik polimorfizmi arasındaki ilişkisinin tayini" konulu çalışma Etik Kurul tarafından uygun bulundu.

Doç. Dr. Hakan ALAGÖL

Prof. Dr. Şafak GÜNGÖR

Uz.Dr. Bektaş KAYA

İZİMLİ

Uz.Dr. Ekmel OLCAY

Uz.Dr. Süleyman DEMİR

Uz.Dr. Deniz ÇAMURDANOĞLU

İZİMLİ

Ecz. Fatma MERİÇ

İZİMLİ

Etik Kurul Başkanı
Uz.Dr. Cebirail ŞİMŞEK
Başhekim

11. ÖZGEÇMİŞ

Adı : Esra

Soyadı : EMERCE TUFAN

Doğum Yeri ve Tarihi : Gölcük/İzmit – 21.07.1983

Eğitimi :

2005 - (Aralık)	Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Toksikoloji Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi
2004 - 2007	Yüksek Lisans; Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Toksikoloji Anabilim Dalı
2000 - 2004	Lisans; Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi
1998 - 2000	M.E.V. İzmir Fen Lisesi - İzmir
1997 - 1998	Özel Yüce Fen Lisesi - Ankara

Yabancı Dili : İngilizce

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar : Türk Toksikoloji Derneği (TTD)
Avrupa Toksikoloji Derneği (EUROTOX)

Bilimsel Etkinlikleri :

Projeler:

*Prof. Dr. Bensu Karahalil'in yürütücüsü olduğu "Miyokardiyal iskemi-reperfüzyonunda oksidatif DNA hasarının comet yöntemi ile araştırılması" konulu L'OREAL Genç Bilim Kadınlarına Destek Bursları kapsamındaki projede yardımcı araştırmacı

*Prof. Dr. Bensu Karahalil'in yürütücüsü olduğu 106S176 (SBAG-3424) kodlu "Miyokardiyal iskemi reperfüzyonunda oksidatif DNA hasarının hOGG1 DNA onarım enzimi polimorfizmi ile ilişkisinin araştırılması" konulu TÜBİTAK projesinde yardımcı araştırmacı

*Prof. Dr. Bensu Karahalil'in yürütücüsü olduğu 02/2006-12 kodlu "Akciğer Kanseri ve DNA Onarım Enzimi OGG1 Ser326Cys Polimorfizmi ilişkisinin Türk Populasyonunda Araştırılması" konulu Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesinde yardımcı araştırmacı

Ödül:

“5th International Conference on Environmental Mutagens in Human Populations” isimli toplantıda “hOGG1 Ser326Cys Polymorphism and Lung Cancer Susceptibility in Turkish Population” konulu bildiride poster sunum ikincilik ödülü

Katıldığı Kurslar:

*14-17 Mayıs 2007 tarihleri arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü’nün düzenlediği “DNA Hasarı, Onarımı ve Hastalıklarla İlişkisi” konulu kurs

*04 Mayıs 2007 tarihinde Türk Toksikoloji Derneği tarafından düzenlenen “Kozmetik Ürünlerin Güvenliliği” konulu eğitim toplantısı

*10-11 Mayıs 2006 tarihleri arasında Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü’nün düzenlediği “Genom Bilimi Kursu”

*06-07 Mayıs 2006 tarihleri arasında Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü’nün düzenlediği “İleri Işık Mikroskopi Kursu”

*25 Şubat 2006 tarihinde Türk Eczacıları Birliği Eczacılık Akademisi’nin düzenlediği “Astım ve Alerjik Hastalıklar” konulu meslek içi eğitim programı

Uluslararası Kongrelerde Sunulmuş Bildiriler:

1. Emerce E.T.*, Karahalil B., Akkaş E., Kocabaş N.A.: Effect of The GSTM1 Polymorphism on The Relationship Between Maternal Exposure to Environmental Tobacco Smoke and Neonatal Birth Weight, 6th IC-TST, International Congress of Turkish Society of Toxicology, 2-5 November 2006, Antalya, Turkey., page:187.

2. Esra T. Emerce*, Bensu Karahalil, Bülent Koçer, Serdar Han, Necati Alkış, Ali Esat Karakaya: hOGG1 Ser326Cys Polymorphism and Lung Cancer Susceptibility in Turkish Population, 5th International Conference on Environmental Mutagens in Human Populations, 20-24 May 2007, Tekirova, Antalya, Turkey, page:73.

3. B. Karahalil, A. Yıkan, E.T. Emerce, N. Alkış: Association of the OGG1 Ser326Cys Polymorphism With Gynecologic Cancer Risk, International Congress of Toxicology, 15-19 July 2007, Montreal, Canada, PM2.058.

*Taraftmdan sunulmuştur.