

**T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**( YÜKSEK LİSANS TEZİ )**

**AKCİĞER KANSERLİ HASTALARDA EPOKSİD HİDROLAZ  
HİS139/ARG VE TYR113/HİS GEN POLİMORFİZMLERİNİN  
İNCELENMESİ**

**EMEL ZELAL ERKİŞİ**

**DANIŞMAN  
DOÇ. DR. İLHAN YAYLIM ERALTAN**

**MOLEKÜLER TIP A.B.D./ MOLEKÜLER TIP  
PROGRAMI**

**İSTANBUL-2008**

## TEZ ONAYI

Aşağıda tanıtımı yapılan tez, jüri tarafından başarılı bulunarak Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

04/03/2008

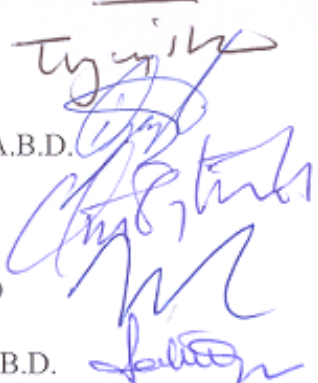
  
 Prof. Dr. Emine Kökoğlu  
 Enstitü Müdürü

Kurum : İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
 Program Adı : Moleküler Tıp  
 Programın seviyesi : Yüksek Lisans  Doktora   
 Anabilim Dalı : Moleküler Tıp  
 Tez Sahibi : Emel Zelal Erkişi  
 Tez Başlığı : Akciğer Kanserli Hastalarda Epoksid Hidrolaz His139/Arg ve Tyr113/His Gen Polimorfizmlerinin İncelenmesi  
 Sınav Yeri : DETAE/ Moleküler Tıp A.B.D.  
 Sınav Tarihi : 12 / 02 / 2008

### Tez Sınav Jürisi

Ünvanı Adı Soyadı Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı

1. Prof. Dr. Turgay İsbir, İstanbul Üniversitesi, DETAE, Moleküler Tıp A.B.D.
2. Doç. Dr. İlhan Yaylım Eraltan, İstanbul Üniversitesi, DETAE, Moleküler Tıp A.B.D.
3. Doç. Dr. Oğuz Öztürk, İstanbul Üniversitesi, DETAE, Moleküler Tıp A.B.D.
4. Doç. Dr. Bedia Ağaçhan, İstanbul Üniversitesi, DETAE, Moleküler Tıp A.B.D.
5. Doç. Dr. Fatma S. Oğuz, İstanbul Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji A.B.D.



**BEYAN**

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarımı ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

EMEL ZELAL ERKİŞİ

(İmza)



## İTHAF

Değerli hocalarıma ithaf ediyorum...

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince deneysel çalışmalarımı yapabilmem için gerekli olan tüm laboratuvar olanaklarının ve tezim için gerekli hasta örneklerinin sağlanmasındaki katkılarından dolayı, İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü(DETAE)Moleküler Tıp Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Turgay İsbir'e,

Yüksek lisans eğitimim süresince danışmanlığımı üstlenen, İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü(DETAE)Moleküler Tıp Anabilim Dalı doçenti Doç. Dr. İlhan Yaylım Eraltan'a

Tezim için gerekli hasta örneklerinin sağlanmasındaki katkılarından dolayı Yedikule Göğüs Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi doçenti Doç. Dr. Akif Turna'ya

Tez çalışmam süresince destek ve katkılarından dolayı T.C. Haliç Üniversitesi Rektörü Prof. Dr. Ahmet Çakır ve Moleküler Biyoloji Genetik Bölüm Başkanı Yrd. Doç. Dr. Nagehan Ersoy'a

Tez çalışmam süresince yardımlarından ve desteklerinden ötürü Doç. Dr. Hülya Yılmaz, Doç. Dr. Oğuz Öztürk, Doç. Dr. Bedia Ağaçhan, Dr. Arzu Ergen, Dr.Nilüfer Bozkurt, olmak üzere tüm Moleküler Tıp Anabilim Dalı çalışanlarına

Tez çalışmam süresince desteğini ve sevgisini benden esirgemeyen değerli aileme teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No:T878/02062006

## İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI.....	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER.....	VI
TABLolar LİSTESİ.....	İX
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	Xİİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ.....	Xİİİ
ÖZET.....	XİV
ABSTRACT.....	XV
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 AKCİĞER KANSERİ TİPLERİ.....	4
2.1.1. Epidermoid karsinom (Skuamöz karsinom)	
2.1.2. Adenokarsinom	
2.1.3. Bronkoalveolar karsinom	
2.1.4. Büyük hücreli karsinom	
2.1.5. Küçük hücreli karsinom	
2.2. AKCİĞER KANSERİNİN MOLEKÜLER BİYOLOJİSİ.....	7
2.3. RİSK FAKTÖRLERİ.....	10
2.3.1. Yaş	
2.3.2. Cinsiyet	
2.3.3. İrk	
2.3.4. Genetik faktörler	
2.3.5. Diyet	
2.3.6. Sigara	
2.3.7. Tüberküloz	
2.3.8. Asbestos	
2.3.9. Radyasyon	
2.3.10. Çevresel faktörler:	

3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	21
3.1. SEÇİLEN ÖRNEKLERİN TANIMI	
3.2. KULLANILAN KİMYASAL MADDELER	
3.3. KULLANILAN GEREÇLER	
3.4. ÇÖZELTİLER	
3.4.1. DNA İZOLASYONUNDA KULLANILAN ÇÖZELTİLER	
3.4.2. AGARUZ JEL ELEKTROFOREZİNDE KULLANILAN ÇÖZELTİLER	
3.5. KULLANILAN YÖNTEMLER	
3.5.1. PERİFERİK KANDAN DNA İZOLASYONU	
3.5.1.1. Elde Edilen DNA'nın Konsantrasyon ve Kalitesinin Tayini	
3.5.2. EPHX GENİNİN ÜÇÜNCÜ EKZON BÖLGESİNİN PCR YÖNTEMİ İLE ÇOĞALTILMASI	
3.5.2.1.Üçüncü Ekzon Bölgesinin Çoğaltılması İçin Kullanılan Primer Dizileri	
3.5.2.2.Dördüncü Ekzon Bölgesinin Çoğaltılması İçin Kullanılan Primer Dizileri	
3.5.2.3. PCR'da Kullanılan Kimyasal Maddeler ve PCR'ın Hazırlanışı	
3.5.2.4. PCR ( POLIMERASE CHAIN REACTION) Karışımının Hazırlanışı	
3.5.2.5. PCR Şartları	
3.5.2.6. AGARUZ JEL ELEKTROFOREZİNDE KULLANILAN KİMYASAL MADDELER VE GEREÇLER	
3.5.2.6.1. PCR Ürünlerinin %2'lik Jel'e Yüklenmesi:	
3.5.2.6.2. PCR Ürünlerinin Kontrolü:	
3.5.3. EKZON 3 BÖLGESİNİN PCR ÜRÜNLERİNDE ECOR V ENZİM KESİMİ	
3.5.3.1. Eco R V Enzim Kesiminde Kullanılan Enzimler ve Kimyasal Maddeler	
3.5.3.2. Eco R V Enzim Kesimi	
3.5.3.3. Eco R V Enzim Kesim Ürünlerinin Değerlendirilmesi ve Kontrolü	
3.5.3.4. Eco R V Enzim Kesimi Değerlendirilmesi	
3.5.4. EKZON 4 BÖLGESİNİN PCR ÜRÜNLERİNDE RSA I ENZİM KESİMİ	
3.5.4.1. RSA I Enzim Kesiminde Kullanılan Enzimler ve Kimyasal Maddeler	
3.5.4.2. Rsa I Enzim Kesimi	

3.5.4.3. Rsa I Enzim Kesim Ürünlerinin Değerlendirilmesi ve Kontrolü	
3.5.4.4. Rsa I Enzim Kesimi Değerlendirilmesi	
4. BULGULAR.....	38
4.1. PCR ÜRÜNLERİNİN KONTROLÜNE AİT BULGULAR	
4.1.1. Ekzon 3 bölgesi PCR Ürünü ile ilgili Bulgular	
4.1.2. Ekzon 4 bölgesi PCR Ürünü ile ilgili Bulgular	
4.2. KESİM ÜRÜNLERİNİN KONTROLÜNE AİT BULGULAR	
4.2.1. Eco R V Enzim Kesimi ile Tyr113/His Mutasyon Taraması Bulguları	
4.2.2. Rsa I Enzim Kesimi ile His 139/Arg Mutasyon Taraması Bulguları	
4.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ SONRASINDA ELDE EDİLEN BULGULAR	
5. TARTIŞMA.....	66
KAYNAKLAR.....	72
FORM.....	85
ETİK.....	86
ÖZGEÇMİŞ.....	88

## TABLolar LİSTESİ

**Tablo 2-1.** Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) 1997'deki Akciğer kanseri sınıflandırılması

**Tablo 2-2.** Metabolik genlerin polimorfizmleri

**Tablo 2-3.** Akciğer kanserinde önemli genetik değişimler ve biyolojik özellikler

**Tablo 2-4.** Sigara Dumanındaki Kanserle İlişkili Kimyasal Maddeler

**Tablo 2-5.** Enzim aktivitesinin allelik varyantlara göre dağılımı

**Tablo 3-1.** PCR karışımının hazırlanması

**Tablo 3-2.** Ekzon 3 bölgesi PCR reaksiyonu için termal profil şartları

**Tablo 3-3.** Ekzon 4 bölgesi PCR reaksiyonu için termal profil şartları

**Tablo 3-4.** Eco R V enzim kesiminde kullanılan kimyasal maddeler ve miktarları

**Tablo 3-5.** Rsa I enzim kesiminde kullanılan kimyasal maddeler ve miktarları

**Tablo 4-1.** Çalışma gruplarına ait bilgiler

**Tablo 4-2.** Akciğer kanserli hastalarda sigara içme durumuna göre tumor tipi dağılımı..

**Tablo 4-3.** EPHX Ekzon 3 genotip dağılımının Akciğer kanserli hasta grubunda kontrol grubuna göre karşılaştırılması

**Tablo 4-4.** EPHX Ekzon 4 genotip dağılımının Akciğer kanserli hasta grubunda kontrol grubuna göre karşılaştırılması

**Tablo 4-5.** EPHX His113 allelini taşımanın, akciğer kanserli hasta grubunda kontrol grubuna göre karşılaştırılması

**Tablo 4-6.** EPHX E3His/His genotipinin, akciğer kanserli hasta grubunda kontrol grubuna göre karşılaştırılması

**Tablo 4-7.** Ekzon 4His139 allelininin çalışma grubu üzerindeki dağılımı

**Tablo 4-8.** Ekzon 4 His139 allelinin çalışma grubu üzerindeki dağılımı

**Tablo 4-9.** E3 Tyr/Tyr (+) E4 His/His (+) kombine genotipinin çalışma grubu üzerindeki dağılımı.

**Tablo 4-10.** E3 Tyr/His (+) E4 His/Arg (+) genotipinin çalışma grubu üzerindeki dağılımı.

**Tablo 4-11.** E3 Tyr/His (+) E4His/His (+) genotipinin çalışma grubu üzerindeki dağılımı

**Tablo 4-12.** E3 Tyr/Tyr (+) E4 His/Arg (+) genotip kombinasyonunun çalışma grubu üzerindeki dağılımı.

**Tablo 4-13.** E3 Tyr/Tyr (+) E4 His/His(+) genotiplerin çalışma grubu üzerindeki dağılımı.

**Tablo 4-14.** E3 Tyr/His ve E4 His/Arg genotiplerinin çalışma grubu üzerindeki dağılımı.

**Tablo 4-15.** E3 Tyr/His (+) ve E4 His/His (+) kombine genotipin çalışma grubu üzerindeki dağılımı.

**Tablo 4-16.** Akciğer kanserli hasta grubumuzda cinsiyete göre EPHX Ekzon 3 ve Ekzon 4 genotip dağılımı.

**Tablo 4-17.** Çalışma grubumuzdaki cinsiyetler üzerinde E4 His His genotipinin dağılımı.

**Tablo 4-18.** Akciğer kanserli hasta grubunun EPHX E3 ve E4 genotip dağılımlarının klinik parametrelere göre değerlendirilmesi.

**Tablo 4-19.** Çalışma grubumuzdaki cinsiyetler üzerinde E4 His His genotipinin dağılımı.

**Tablo 4-20.** Akciğer kanserli hastalarda skuamöz hücreli ve skuamöz hücre dışı tumor tiplerinde EPHX Ekzon 3 ve ekzon 4 genotip dağılımları

**Tablo 4-21.** Ailede 1.dereceden kanser hikayesi varlığında hasta grubu içerisindeki ekzon 3 genotip dağılımı.

**Tablo 4-22.** Ailede 1.dereceden kanser hikayesi varlığında hasta grubu içerisinde ekzon 3 Tyr alleli taşıma durumuna göre genotip dağılımı.

**Tablo 4-23.** Ailede 1.dereceden kanser hikayesi varlığında hasta grubu içerisinde E3 Tyr/His (+) E4 His/Arg (+) genotip kombinasyonunun dağılımı.

**Tablo 4-24.** E4 genotipinde Arg alleli taşıma durumunun akciğer kanserli hastalarda sigara içme durumuna göre dağılımı

**Tablo 4-25.** E3 genotipinde His alleli taşıma durumunun akciğer kanserli hastalarda sigara içme durumuna göre dağılımı

**Tablo 4-26.** E3 genotipinde His alleli taşıma durumunun akciğer kanserli hastalarda sigara içme durumuna göre dağılımı

**Tablo 4-27.** E3 Tyr/His (+) E4 His/Arg (+) genotip kombinasyonunun sigara içme durumuna göre akciğer kanserli hasta grubundaki dağılımı.

**Tablo 4-28.** E3 Tyr/His (+) ve E4 His/His (+) genotip kombinasyonunun akciğer kanserli hasta grubunda sigara içenler ve içmeyenler arasındaki dağılımı.

**Tablo 4-29.** Akciğer kanserli hastalarda Sigara pkt/yıl>50 ve <50 durumuna göre genotip dağılımı.

**Tablo 4-30.** E4 His/His genotipinin sigara içenlerde ve içmeyenlerde dağılımı

**Tablo 4-31.** Sigara pkt/yıl>50 ve <50 durumuna göre E3Tyr/Tyr veE4 His/His kombine genotip dağılımı

**Tablo 4-32.** Sigara pkt/yıl>50 ve <50 durumuna göre E3 His/His genotip dağılımı

## ŞEKİLLER LİSTESİ

**Şekil 2-1.** Benzo(a)pyrene'in EPHX ve CYP enzimleri ile metabolizasyonu

**Şekil 2-2.** Sitokrom P450 enzimleri ve Epoksid Hidrolaz Enzim sisteminin Kansere Oluşturma Mekanizması,

**Şekil 2-3.** EPHX geni ve transkripti.

**Şekil 3-1.** Ekzon 3 bölgesinin PCR ürünü ve Eco R V enzim kesimi sonrası verdiği bantların şematik görüntüsü

**Şekil 3-2.** Eco R V enzim kesimi sonrası oluşabilecek DNA parçalarının %2 agaroz jelde çıkabilecek bant şeklinin şematik görüntüsü

**Şekil 3-3.** Rsa I enzim kesimi sonrası oluşabilecek DNA parçalarının %2 agaroz jelde çıkabilecek bant şeklinin şematik görüntüsü

**Şekil 3-4.** Ekzon 4 bölgesinin PCR ürünü ve Rsa I enzim kesimi sonrası verdiği bantların şematik görüntüsü

**Şekil 4-1.** Ekzon 3 primerleriyle çoğaltılan 162bp'lik PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü.

**Şekil 4-2.** Ekzon 4 primerleriyle çoğaltılan 357 bp'lik PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü.

**Şekil 4-3.** Eco RV enzim kesimi sonucunda ürünlerin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü.

**Şekil 4-4.** Rsa I enzim kesimi sonucunda ürünlerin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü

**Şekil 4-5.** Rsa I enzim kesimi sonucunda ürünlerin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü

**Şekil 4-6.** Rsa I enzim kesimi sonucunda ürünlerin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü

**SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ**

EPHX :Epoksid Hidrolaz

PAH: Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

KHAK: Küçük Hücreli Akciğer Kanseri

KHDAK: Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri

KHAK: Küçük Hücreli Akciğer Kanseri

KHOAK: Küçük Hücreli Olmayan Akciğer Kanseri

NE: Nöroendokrin

LCNE: Büyük hücreli (large cell) nöroendokrin karsinoma.

NO: Nitrik Oksit

CYP: sitokromP-450

NAT: N-asetiltransferazlar

GSTs: Glutasyon transferazlar

NQO1: NAD(P)H:quinone oksidoreduktaz

MPO: Myeloperoksidaz

OR: Risk katsayısı

CI: Güvenilirlik aralığı

## ÖZET

ERKİŞİ E.Z. (2008). AKCİĞER KANSERLİ HASTALARDA EPOKSİD HİDROLAZ HİS139ARG VE TYR113HİS GEN POLİMORFİZMLERİNİN İNCELENMESİ

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp AD. Yüksek Lisans. İstanbul.

Mikrozomal epoksid hidrolaz, karsinojenlerin hem aktivasyonunda ve hem de detoksifikasyonunda rol oynayan önemli bir faz I biyotransformasyon enzimidir. EPHX polimorfizmlerinin akciğer kanseri riski üzerinde etkili olduğu çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. EPHX geninin ekzon 3 üzerinde Tyr113His ve ekzon 4 üzerinde His139Arg olmak üzere iki adet polimorfizm taşıdığı bilinmektedir. Biz bu çalışmamızda, PCR, RFLP ve agaroz jel elektroforezi yöntemlerini kullanarak 56 akciğer kanseri hastası ve 40 sağlıklı kontrol üzerinde EPHX polimorfizmlerini araştırdık. Çalışmamızda, ekzon 4 varyantlarının çalışma grubumuzdaki dağılımı ve allelik frekansları istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Ancak ekzon 3 genotiplerinin dağılımında önemli bulgular elde ettik. Özellikle ekzon 3 His113His genotipi akciğer kanserli hastalarda kontrollere kıyasla 2,551 kat artmış risk ile ilişkili bulunmuştur.  $p=0,002$ . Sigara içen hastalarda His113 allelini taşıma oranı 1,641 kat artarken, ailesinde birinci dereceden kanser hikayesi olan hastalarda risk oranı 3,500 kata kadar çıkmaktadır.  $p=0,014$ . Sonuç olarak bizim bulgularımıza göre EPHX ekzon 3 polimorfizminin akciğer kanseri riskini etkileyebileceği kanısındayız..

Anahtar Kelimeler : epoksid hidrolaz, mikrozom, detoksifikasyon, polimorfizm, akciğer

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: T878/02062006

## ABSTRACT

Erkişi, E.Z.. (2008). Effects of Epoxide Hydrolase His139Arg and Tyr113His polymorphisms on Lung Cancer Risk. İstanbul University, Institute of Health Science, Molecular Medicine. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Microsomal epoxide hydrolase (EPHX) plays an important role in both activation and detoxification of carcinogens. Two polymorphisms at exon 3 Tyr113His and exon 4 His139Arg have been reported to be associated on lung cancer risk. We used PCR, RFLP and gel electrophoresis techniques to detect these two polymorphisms on 56 lung cancer patients and 40 controls. In our study we found statistically mean frequencies and significantly difference in the distribution of exon 3 polymorphic genotypes on lung cancer patients and controls. We found OR 2,551 for distribution of exon 3 His113/His genotype among lung cancer patients.  $p=0,002$ . When patients have grouped according to smoking habits, we found OR 1,641 for His 113 allele in smoking lung cancer patients  $p=0,381$ . In the case of familial cancer background, in lung cancer patients OR increases to 3,5.  $p=0,014$ . However we could not find results same direction for exon 4 polymorphic variants. The allele frequencies of exon 4 were not statistically significantly different in lung cancer and control groups. According to our results, for two polymorphisms of EPHX only exon 3 Tyr113His polymorphism was related to high risk in patients with lung cancer. In conclusion, we suggest that EPHX polymorphisms may be a risk factor for lung cancer patients.

Key Words: epoxide hydrolase, microsomal, detoxification, polymorphism, lung

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. T878/02062006

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Akciğer kanseri, büyük hücreli farklılaşmamış, skuamöz hücreli, adeno ve küçük hücreli olmak üzere dört major histolojik tip altında sınıflandırılmıştır. İlk üç tip genel olarak küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) olarak bilinmekte ve küçük hücreli akciğer kanserine (KHAK) oranla daha geç metastaz yapıp erken müdahale durumunda tedavi edilebilmektedir. Küçük hücreli akciğer kanseri, erkeklerde en sık metastaz yapan tümör tipi olup, 5 yıllık sağkalım vakaların %5'inden daha azında mümkün olmaktadır(98).

Sigara ve akciğer kanseri arasındaki ilişki, dünya çapındaki epidemiyolojik çalışmalarla kanıtlanmıştır(19). Sigara, akciğer kanserinin % 90'ından sorumludur, ancak her sigara içen kişide akciğer kanseri gelişmemektedir. Kimin kanser olacağını belirleyen başlıca faktör nedir? Bu soruların yanıtını bulmak, son yıllardaki araştırmaların başlıca amacıdır(15). Akciğer kanseri moleküler biyolojisine ilişkin aydınlatılmamış pek çok nokta, son 20 yıldaki gelişmeler ile çözülmeye başlanmıştır. Bu gelişmeler akciğer kanserini daha iyi anlamamıza ve yeni tedavi modalitelerinin geliştirilmesine olanak sağlar(49).

Kanser hücrelerinin büyüme ve çoğalma sürecinde meydana gelen genetik değişiklikler (onkogenler, tümör süpresör genler), konakçı faktörleri (enzim polimorfizmi) ve tümör konakçı etkileşimi (anjiogenez, invazyon, metastaz) sonucunda tümöral kitle oluşur (1, 49, 53).

Bazı genlerin, özellikle de karsinojen metabolizması ile ilişkili genlerdeki kalıtsal polimorfizmin çeşitli çevresel maruziyetler ile sitümülasyonu sonucu bireyde akciğer kanseri gelişme olasılığının arttığı gösterilmiştir (3,49). Bu mekanizma ile ilişkili olduğu düşünülen polimorfizmler, sitokromP-450 (CYP), N-asetiltransferazlar (NAT), glutatyon transferazlar (GSTs), mikrozomal epoksid hidrolaz (EPHX), NAD(P)H:quinone oksidoreduktaz (NQO1), myelopreksidaz (MPO) ve glutatyon peroksidaz genleri polimorfizmleridir (27,67).

Akciğerler de dahil olmak üzere pek çok organda eksprese edilen mikrozomal epoksid hidrolaz enzimi vücuda çeşitli yollarla alınan toksik ve karsinojenik bileşiklerin metabolizmasında rol oynayan faz I biyotransformasyon enzimidir (17,76, 89).

Mikrozomal epoksid hidrolaz ekzojen kimyasalların detoksifikasyonunda ve hem de aktivasyonunda rol oynamaktadır.

Bu enzimi kodlayan EPHX genindeki iki polimorfizmin enzim aktivitesini önemli ölçüde değiştirdiği düşünölmektedir. Bunlardan biri ekzon 3 üzerindeki Tyr113/His polimorfizmi diğeri ise ekzon 4 üzerindeki His139/ Arg polimorfizmidir **(12,22,31,33,34,52,64,74,82)**.

Değişen enzim aktivitesi ve oluşan genotipik varyantların akciğer kanseri riski üzerine etkisi çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir **(5,9,25,40,56,66,86,87,95,101)**.

Yukarıda özetlenen bilgiler ışığı altında, gerçekleştirmiş olduğumuz alışma, Türk toplumunda klinik açıdan akciğer kanseri tanısı almış hastalarda EPHX genindeki ekzon 3 Tyr113/His ve ekzon 4 His139/Arg polimorfizmlerinin sıklığına bakarak, EPHX geninin farklı enzim aktiviteleri ile ilişkili olduğu düşünölen bu genotipik varyantlarının akciğer kanserindeki rolünü araştırmak amacıyla yapılmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

Akciğer kanseri dünya genelindeki ölüm nedenleri arasında birinci sıradadır(6). Erkeklerde ikinci, kadınlarda ise üçüncü sırada görülen bir tümördür. 1996 yılında 177.000 yeni vaka, 159.000 ölüm tespit edilmiştir. Yeni kanser vakalarının %15'ini, tüm kanser ölümlerinin %18'ini oluşturmaktadır. Akciğer kanseri insidansı kadınlarda erkeklere oranla daha hızlı artış göstermektedir. On yıllık bir dönemde erkeklerde %14,3 bir artışa karşılık, kadınlarda %81 artış olmuştur. Bu sonuçlarda sigara içme alışkanlıklarında değişimin rolü olduğu düşünülmektedir. İnsidans yaşla artmaktadır. Akciğer kanseri kanser ölümlerinde başlıca faktör olmaya devam etmektedir. Çoğunlukla sigara kullanımı ile ilişkili olmakla birlikte, akciğer kanserinin altında yatan genetik yatkınlık şüphesi üzerine de yoğunlaşmıştır(85).

Akciğer kanserlerinin %80-90' ı, sigara içenlerde ortaya çıkmaktadır. Sigara içenlerde akciğer kanseri gelişim riski, hiç sigara içmemiş kişilere göre 10-65 kat artmaktadır. Pasif sigara içicilerinde ise normal popülasyona göre bu riskin % 20 arttığı bilinmektedir(91).

Akciğer kanseri gelişiminde sigaranın rolü göz önüne alındığında, akciğer kanseri önlenebilir kanserler arasındadır(19). Ülkemizde 1997 yılında Sağlık Bakanlığı Kanser Savaş Dairesi'nin yayınladığı raporda, akciğer kanserinin, tüm kanserler içinde %17.6 oranıyla birinci sırayı aldığı saptanmıştır. Ülkemize ait istatistiksel veriler çok sağlıklı olmamakla birlikte, yılda 30.000-40.000 arasında akciğer kanserine bağlı ölüm olduğu tahmin edilmektedir(7,47). Gelişmiş ülkelerde son yirmi yıldaki sigara karşıtı kampanyalar ile, yıllık sigara tüketimi %25-30 azalırken, ülkemizde %13.7 artış göstermiştir. 1997 yılına ait verilere göre, ülkemizde erkeklerin % 51'i, kadınlarinsa %49'u günlük düzenli sigara içicisidir(7). Araştırmalara göre, kadınlardaki sigara içme alışkanlığı, erkeklere oranla 2-3 kat kadar artmıştır. Sigara tüketiminin bu derece yoğun olduğu ülkemizde akciğer kanseri, önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir(7,47).

Sigara, akciğer kanserinin % 90'ından sorumludur, ancak her sigara içen kişide akciğer kanseri gelişmemektedir. Kimin kanser olacağını belirleyen başlıca faktör nedir? Bu soruların yanıtını bulmak, son yıllardaki araştırmaların başlıca amacıdır. Yapılan

çalışmalar, çevresel faktörlerin yanısıra, genetik faktörlerin de kansere duyarlılıkta önemli rol oynadığını ortaya koymuştur. Üzerinde durulan konulardan biri ise, karsinojenleri aktif metabolitlerine dönüştüren enzimler ile, bunları detoksifiye eden enzimlerde meydana gelen genetik polimorfizmlerdir. Yapılan çalışmalarda, bu enzimlerdeki polimorfizmin akciğer kanseri riskini çeşitli oranlarda arttırdığı saptanmıştır(15). Akciğer kanserinin yanı sıra, sigara kullanımı oral, orafaryngal, hipofaryngal, laryngal ve özofaryngal kanserler kadar pankreas kanseri, safra kesesi ve renal pelvis kanserlerinin de başlıca nedenidir(43) Bunun dışında sigara kullanımı, burun, mide, karaciğer, kolon, böbrek ve serviks kanserleri ile myeloid lösemi ile de ilişkili bulunmuştur(10,14,79,84).

## 2.1 AKCİĞER KANSERİ TİPLERİ

**2.1.1. Epidermoid karsinom (Skvamöz karsinom):** Akciğer kanserlerinde en çok görülen tiptir; %50 civarında görülür. Etyolojisinde sigara içiminin, kullanılma miktarı ve süresi ile orantılı olarak önemi artmaktadır. Tümör çoğunlukla ana bronş kökenli ve santral yerleşimlidir. *In situ* lezyon bronş mukozasında kabalaşma şeklinde görülür. Tümör parankim içerisine, lenf ganliyionlarına yayılabilir. Kitlenin ortasında nekroz sıklıkla görülür. Mikroskobik bulgularda keratin formasyonu, iyi gelişmiş intersellüler bağlantılar bulunur. İyi, orta ve az diferansiye şekilleri vardır. (85)

**2.1.2. Adenokarsinom:** Kadın ve erkeklerde eşit oranda görülen, sigara içimi ile daha az bağlantılı ve akciğer kanserlerinin %20-25'ini oluşturan tümör tipidir. Olguların %75'i periferik yerleşimlidir. Yumuşak, miksoid görünümlü olabilir. Nekroz görülebilir. Kaviteasyon sık değildir. Periferik olanlar plevrayı çeker, kalınlaştırır ve invaze edebilir. Plevra yüzeyine yayılabilir. Bu makroskobik olarak malign mezotelyoma ile karışabilir. Burada farklı hücre kökenli olduğu düşünülebilecek değişik morfolojik özellikleri olan tümörler vardır. Diferansiyasyonu bu karışık grupta belirlemek güçtür.

Tümör hücreleri nukleoları belirgin, veziküler nukleuslu, geniş, soluk ya da eozinofilik sitoplazmalı hücrelerdir. Müsin damlları içerebilir. Diferansiyasyon düştükçe nukleus büyür, nukleolus ve nukleus membranı düzensiz hal alır.

Tümörde değişik düzeylerde glanduler diferansiyasyon görülür. Adenokarsinomlarda primer ve metastatik tümör ayrımı sorun yaratabilir. Skar karsinomları tartışmalıdır.

Ultrastrüktürel bulgularda en önemli gerçek lumen oluşumudur. Inter veya intra-sellüler boşluklar, iyi gelişmiş desmosomal bağlantılar mevcuttur. (85)

**2.1.3. Bronkoalveolar karsinom:** Akciğer kanserlerinin %5'ini oluşturur. Makroskobik olarak solid periferik nodüler, multipl nodüler ya da pnömonik infiltrasyon şeklinde görülür. Mikroskobik olarak, sırt sırta gümde yapıları ile nukleolusları belirgin, silindirik ya da kübik, mukus sekresyonu içerebilen hücrelerden oluşur. (85)

**2.1.4. Büyük hücreli karsinom:** Morfolojik özellikleri yanı sıra, ultrastrüktürel ve immünohistokimyasal olarak da daha çok diğer tiplerin az diferansiye bir tipi olarak tanımlanır. Sıklığı %10-20 arasındadır. Dev hücreli ve berrak hücreli olarak iki alt grupta tanımlanmıştır.

Makroskobik olarak periferik, bazen santral yerleşimlidir. Nekroz içerebilir.

Mikroskobik bulgular belirgin pleomorfizm gösteren, belirgin, iri, düzensiz nukleoluslu; oval, fusiform ya da poligonal, soluk ya da eozinofilik sitoplazmalı hücrelerden oluşur. Hücrele solid kitleler, trabeküler yapılar oluşturur. Mitoz sık görülür. (85)

**2.1.5. Küçük hücreli karsinom:** %20'sini oluşturur. Kökeni en çok tartışılan tümör tipidir. Tümör hücrelerinde nörosekretuar granüller vardır. Hücrelerde nöroflamentlerin gösterilmesi, NSE, bombesin, serotonin gibi nöroendokrin programlı hücrelerden köken aldığını göstermektedir. Ancak hücrelerde endodermel yüzey antijenleri de mevcuttur. Tümörün sınıflandırılmasında farklı görüşler vardır. WHO sınıflamasını izleyerek WPL'nin (1982 yılı Working Party for Therapy of Lung Cancer) düzenlemesi ile akciğerin nöroendokrin tümörleri; karsinoid tümör, atipik karsinoid, iyi diferansiye nöroendokrin karsinom küçük hücreli nöroendokrin karsinom olmak üzere aynı spektrumda yer alan lezyonlar olarak tanımlanmıştır. 1988'de International Association for the Study of Lung Cancer (IASLC) mikst tipi büyük ve küçük hücreli olarak tanımlanmıştır. Proliferatif aktivite yönünden incelendiğinde, tipik karsinoidden küçük hücreli karsinoma uzanan spektrumda aktivitenin arttığı görülmektedir. (85)

Küçük hücreli nöroendokrin karsinom en sık görülen tiptir. Çoğunlukla santraldir, nadiren periferik kitleler oluşturur. Tümör yüzeyindeki bronş mukozası sağlamdır.

Mikroskopik bulgularda hiperkromatik nukleuslu, dar sitoplazmalı, lenfositten iki kez büyük diziler oluşturan hücreler görülür. Hücreler birbirine yaslanmış fuziform, poligonal hücre şekilleri gibi görülebilir. Ultrastrüktürel bulgular dar sitoplazmalı, organelden fakir hücrelerdir. Bol mitokondri ve poliribozomlar görülür. İnce sitoplazmik uzantılar mevcuttur. Karakteristik nörosekretuar granüller görülür. Kombine küçük hücreli karsinom, küçük hücreli karsinom ile adenokarsinom veya skuamöz karsinomun birlikte bulunduğu durumlardır. Prognozları küçük hücreli karsinomlardan daha iyidir (85).

Dünya Sağlık Örgütü'nün(WHO)1997'deki klasifikasyonu bugün için de geçerlidir. 1982'de "Working Party for Therapy of Lung Cancer" çalışması ışığında sınıflandırma tablodaki şekildedir(Tablo 1.).

**Tablo 2-1: Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) 1982'deki Akciğer kanseri klasifikasyonu (85)**

<b>Sküamöz karsinom</b>
İyi diferansiye
Orta diferansiye
Az diferansiye
<b>Küçük hücreli karsinoma</b>
Küçük hücreli tip (oat cell)
Intermedier hücreli tip
Kombine küçük hücreli tip
<b>Adenokarsinom</b>
Asiner tip
Papiller tip
Bronkoalveolar tip
Solid karsinom-mukus salgılayan
<b>Büyük hücreli karsinom</b>
Dev hücreli
Berrak hücreli
<b>Adenoskuamöz karsinom</b>

## 2.2. AKCİĞER KANSERİNİN MOLEKÜLER BİYOLOJİSİ

Karsinogenez çok basamaklı bir süreçte değişik karsinojenlerin(kimyasal, fiziksel ve viral)etkisiyle oluşan genetik ve epigenetik hasarlanmalarla gerçekleşir. Kanserlerde oluşan genetik değişiklikler, kromozomal düzeyde (kromozom kayıpları) ya da tek bir nükleotid düzeyinde (tek ya da multipl baz değişiklikleri ya da DNA promotör bölge metilasyonu) oluşabilir. Kanser hücresinin büyüme ve çoğalma sürecinde meydana gelen genetik değişiklikler(onkogenler, tümör süpresör genler), konakçı faktörleri (enzim polimorfizmi) ve tümör konakçı etkileşimi (anjioenez, invazyon, metastaz) sonucunda tümöral kitle oluşur(1,30,53). Bazı genlerin, özellikle de karsinojen metabolizması ile ilişkili genlerdeki kalıtsal polimorfizmin çeşitli çevresel maruziyetler ile stümüasyonu sonucu bireyde akciğer kanseri gelişme olasılığının arttığı gösterilmiştir. Bunun dışında, DNA tamiri, hücre büyümesi, sinyal iletimi ve hücre siklus kontrolü ile ilişkili genler de akciğer karsinogenezinin değişik aşamalarında hasar görebilir. Akciğer kanserlerinde görülen genomik dengesizlik; pek çok kromozomal (anöploidi) ve yapısal sitogenetik anormallikleri (delesyon, amplifikasyon, nonresiprokal translokasyonları) içerir. Anöploidi, mitotik checkpoint (kontrol noktası) fonksiyonlarındaki kayıp ile ilişkilidir. Günümüzde genomik hibridizasyon, flörosan in-situ hibridizasyon (FISH) gibi teknikler sayesinde bu genetik ve preneoplastik hücresel değişiklikler daha ayrıntılı incelemektedir. Klinik olarak akciğer kanseri gelişene kadar 10-20 adet genetik hasarın oluşması gerektiği bilinmektedir(1,20,37,53,60).

Akciğer karsinogenezinde majör genetik olaylar şöyle sıralanabilir:

- I. Onkogenlerin mutasyonel aktivasyonu
- II. Tümör süpresör genlerin inaktivasyonu
- III. Hücre siklus regulasyonunda görev alan genlerde ortaya çıkan değişiklikler
- IV. DNA tamirinde görev alan genlerde ortaya çıkan değişiklikler
- V. Büyüme faktörleri ve reseptörlerine ilişkin değişiklikler(19,45,49,53).

**Tablo 2-2: Metabolik genlerin polimorfizmleri (78)**

<b>Gen</b>	<b>Polimorfizm</b>	<b>Kodon (SNP)</b>	<b>Protein Fonksiyonu</b>
<b>CYP1A1</b>	MspI (CYP1A1*2A)	T6235C	PAH Aktivasyonu
<b>CYP1A2</b>	CYP1A2*F	C734A	Nitrosamin, arylamin metabolizması
<b>CYP2E1</b>	DraI PstI	T7668A C1091T	Prokarsinojenlerin Aktivasyonu (4methylnitrozamin, aromatic aminler)
<b>CYP3A4</b>	CYP3A4*3	Met445Treo	İlaç metabolizması. Prokarsinojenlerin Aktivasyonu (PAHs)
<b>EPHX (Epoksid hidrolaz)</b>	EPHX1*3	Tir113His	Prokarsinojenlerin Aktivasyonu (HAPs)
<b>GSTs (Glutasyon transferazlar)</b>	GSTM1 GSTT1	mu	Hidrofobik, elektrofilik bileşiklerin Glutasyon ilekonjugasyonu
<b>UGTs (UDP-glucuronosyltransferazlar)</b>	UGT1A1*28	teta delesyonu pi delesyonu Ile105Val	Hidrofobik, elektrofilik bileşiklerin glukoronik asit ile konjugasyonu
<b>NATs (N-acetyltransferazlar)</b>	NAT1*10	T1088A C1095A	Aromatik aminlerin ve heterosiklik aminlerin asetilasyonu, aktivasyonu:
<b>ERCC2</b>	XPB (NER)	Lis751Gln Asp312Asn	DNA tamiri
<b>XRCC1</b>	BER	Arg280Gln	DNA tamiri
<b>p53</b>	Kodon 72	Arg72Pro	Hücre döngüsünün düzenlenmesi Tümör supressor
<b>MDR</b>	MDR1	C3435T	İlaç direnci

Akciğer kanserlerinde görülen başlıca moleküler değişiklikler(Tablo2-3), büyümeyi uyaran otokrin halkaların bozulması, onkogenlerin aktivasyonu, apoptozdan kaçış, tümör anjiyogenezi, tümör baskılayıcı genlerin inaktive olması, kromozomal bölgelerde oluşan klonal delesyonlar, hücre döngüsünün kontrol noktalarının bozulması, sinyal yollarının bozulması, mikrosatellit değişimler, telomeraz aktivitesi, hatalı metilasyon ve çeşitli iç ve dış faktörlerle tetiklenen polimorfizmler olarak sıralanabilir(36).

Teorik olarak bireylerin kansere duyarlılığı, inhale edilen prokanserojenleri aktive etme kapasitesiyle (faz I enzimler) karsinojenleri detoksifiye etme kapasitesi (faz II enzimler) arasındaki dengeden kısmen etkilenebilmektedir. Giderek artan bir şekilde tanımlanan toplumda yaygın olan genetik polimorfizmler, bu süreçlerin her birini etkileyebilir. Böylece bu kalıtsal faktörlerle belirlenen bireyin akciğer kanserine kalıtsal duyarlılığı sigara dumanına maruz kalma ile ikiye katlanmaktadır.

Sigaraya bağlı kanser riski bireyler arasında önemli ölçüde değişim göstermektedir. Metabolizmadaki enzimlerin genetik varyasyonlarının, bireyin sigaraya bağlı akciğer kanseri gelişme riskini yaklaşık %50(nisbi riski yaklaşık 1,5)artırdığı görünmektedir. Toplumda bu polimorfizmin sıklığının az olmasına rağmen buna bağlanan akciğer kanseri sayısı oldukça fazla olabilmektedir(8, 55).

**Tablo 2-3: Akciğer kanserinde önemli genetik değişimler ve biyolojik özellikler (85)**

<b>Genetik değişimler</b>	<b>KHAK</b>	<b>KHOAK</b>
Ras mutasyonu	<%1	%15-20
MYC amplifikasyonu	%15-30	%5-10
BCL-2 ekspresyonu	%75-95	%10-35
Olası otokrin halka	GRP/GRP reseptörü	HGF/MET
	SCF/KIT	NDF/ERBB
P53 mutasyonu	%75-100	%50
P53'ün anormal ekspresyonu	%40-70	%40-60
Protein ekspresyonu olmayan RB	%90	%15-30
P16 mutasyonu	%1	%10-40
P16 ekspresyonunun olmaması	%0-10	%30-70
Telomeraz aktivitesi	%100	%80-85
NE fenotip	%100	LCNE ve karsinoidler

**KHAK, küçük hücreli akciğer kanseri; KHOAK, küçük hücreli olmayan akciğer kanseri; NE, nöroendokrin; LCNE, büyük hücreli (large cell) nöroendokrin karsinoma.**

### **2.3. RİSK FAKTÖRLERİ**

**2.3.1. Yaş:** Akciğer kanseri yaşla artmaktadır.45 yaşından sonra risk belirgindir.Tanınım konduğu ortalama yaş 60 civarındadır.

**2.3.2. Cinsiyet:** Kadınlarda daha az görülür.Erkeklerle göre 1/ 2,4 oranındadır.Sigara içme alışkanlığının erkeklerde daha fazla olması ile ilgili olduğu düşünülmektedir.

**2.3.3. Irk:** Zenci ırkında risk daha fazladır(1,4/1).

**2.3.4. Genetik faktörler:** Kalıtsal predispozan faktörler ileri sürülmesine rağmen diğer bazı kanserlerdeki genetik faktörler ispat edilmemiştir.Hastalarla birinci derecede akrabalığı olanlarda akciğer kanseri veya diğer sigara ile ilişkisiz kanser riski 2.4 kat artmaktadır.

Diğer bir genetik özellik ise otokrin büyüme faktörlerinin oluşturulmasıdır.Birçok olguda ve özellikle küçük hücreli tipinde, tümör hücreleri, kalsiyum akımını arttıracak ve tirozin kinazı aktive edecek büyüme faktörlerini oluşturur.Tümör suprese edici genler ve onkogenler, son yıllarda çalışmaların yapıldığı genetik faktörlerdir.Akciğer ve renal hücreli kanserlerde kromozomal 11p, 13q, 17p delesyonlarının ve özellikle 3p delesyonunun onkogeneze neden olduğu belirtilmektedir.

**2.3.5. Diyet:** Vitamin A ve Beta karotenden fakir diyetin hayvan modellerinde ve insanlarda akciğer kanseri riskini artırdığı gösterilmiştir.Vitamin E ve selenyumun koruyucu etkisi olduğu iddia edilmiş, ancak ispatlanmamıştır(85).

Epidemiyolojik çalışmalar göstermiştir ki, sebze tüketimi ağırlıklı beslenenlerde akciğer kanseri riski düşmektedir(93).

**2.3.6. Sigara:** Sigara içilmesi, tüm akciğer kanserlerinin %90'ına yakınında sorumluluk taşır. En önemli risk faktörüdür.Her gün 1-20 sigara içen bir kadın hiç içmeyenenden 10.3 kat fazla kanser riski taşır. Pasif sigara içimine bağlı ölüm ABD'de her yıl 500-5000 arasında değişmektedir. Sigara içmeyen ev halkında akciğer kanseri riski 1.41 ve 1.87 arasındadır. Bir çalışma, sigara içmeyenlerdeki akciğer kanserinin yaklaşık %17'sinin çocukluk veya adolesan dönemde yüksek düzeyde sigara içilen çevrede yaşamaya bağlı olduğunu göstermiştir. Akciğer kanserinin gelişim oranı büyük ölçüde sigara ile karşılaşma süresi ile ilişkilidir. 45,30 ve 15 yıllık sigara içimi sonrası insidans %0,5, %0,1 ve %0,001 civarındadır. Kabaca, sigara kesildiğinde risk aynı oranda azalmaktadır. Sigara içilmesiyle bronşiyol epitelyumdeki progressif displastik değişiklikler mukozal hiperplazi, metaplazi, atipi, karsinoma *in situ* ve daha sonra invaziv karsinomaya dönüşmektedir.Yassı epitel, adenokanser, küçük hücreli akciğer

kanseri oluşumu tütün kullanımı ile doğrudan ilişkilidir. Bronkoalveolar kanser bu grubun dışında tutulur(85).

Sigara dumanındaki oksidanlar, hem serbest radikaller hem de radikal olmayan oksidanlardan oluşur. Bunlar sigara dumanının DNA, proteinler, ve lipidler üzerinde oluşturduğu biyolojik harabiyetten sorumludur. Sigara dumanı partikül faz (katran) ve gaz faz olmak üzere iki faza ayrılabilir. Her iki fazda çok farklı tiplerde serbest radikaller ve oksidanlar vardır.

Gaz fazı yüksek konsantrasyonlarda oksiradikaller ve nitrojen oksitleri (serbest radikaller), özellikle nitrik oksidi içermektedir. Bu fazdaki organik radikaller nitrik oksidin (NO) yavaş oksidasyonla nitrojenokside (NO<sup>2</sup>) dönüşümüyle oluşur. NO<sup>2</sup> organik bileşimlere karşı daha reaktiftir. Gaz fazdaki radikaller kısa ömürlüdür. Oysa katran fazda oldukça stabil radikaller yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Katran radikalleri suda erime özelliğindedir, bu nedenle de akciğerlerin sıvı yapısında bu uzun ömürlü radikaller bulunmakta ve biyolojik tahrip oluşturabilmektedir. Bu radikal sistem yeterince uzun ömürlüdür; akciğerin içini kaplayan sıvı boyunca yayılabilir, hücrelere ulaşarak penetre olabilir, hücre içi organellere ve DNA'ya ulaşabilir. Katran fazı ayrıca oldukça fazla miktarda nikotin ve nitrosaminler içerir. Bunlar da katran fazda bulunan diğer radikaller gibi DNA'ya ulaşabilmektedir. Katran fazındaki radikaller aracılığı ile dioksijenin redüksiyonundan süperoksit ve hidrojen peroksit oluşmakta, bunlar da DNA harabiyetine neden olmaktadır. Hem gaz fazındaki radikaller(kısa ömürlü ve geçici etkiye sahip) hem de katran fazındaki radikaller(uzun ömürlü ve uzun süreli biyolojik harabiyet etkili) DNA harabiyeti oluşturabilmektedir(71). Bunlar ve bunlara benzer sigara dumanında bulunan yüzlerce madde(karsinojenler, karsinojenlere eşlik edenler ve tümör oluşturucular) akciğer kanserlerinin %85-90'ından sorumludur. Sigara dumanının karsinojenik etkisi, karsinojenlerin DNA'ya ulaşması, DNA'da bozuk tekrarlanım ve mutasyonların oluşmasıyla bağlantılıdır. En önemli üç karsinojen, polisiklik hidrokarbonlar, nitrosaminler ve aromatik aminlerdir(83).

**2.3.7. Tüberküloz:** Akciğer kanseri tüberküloz skarında gelişebilir. Böyle lezyonların teşhisinde sıkça rastlanan akciğer kanseri adenokarsinomadır.

**2.3.8. Asbestos:** Genel popülasyonda asbestosla çalışanlarda 6-7 kat daha fazla akciğer kanseri riski vardır. Sigara bu oranı artırır. Sinerjik etki 53 kat fazla riske sebep

olabilir. Tüm asbest formları akciğer kanseri tiplerinin oluşumundan sorumlu tutulmuştur.

**2.3.9. Radyasyon:** Radon ve bunun izotopları ile karşılaşma, uranyum madenlerinde akciğer kanseri sıklığında artmaya yol açmaktadır. Radon kimyasal olarak inert bir gazdır, uranyumun artık ürünüdür. Uranyum toprak ve kayalarda bulunmaktadır. Konsantrasyonu değişim göstermektedir. Akciğer kanserlerinin 9000 kadarının radona bağlı olduğu düşünülmektedir. Göğüse radyoterapi alanlarda akciğer kanseri riskini arttığı rapor edilmiştir.

**2.3.10. Çevresel faktörler:** Gemi yapımı ve diğer endüstrilerin olduğu yerlerde vakalar daha fazladır. Radyoizotoplar, hardal gazı, asbestos, polisiklik hidrokarbonlar, nikel, krom, inorganik arsenik, klormetil eter, kadmiyum ve formaldehidin kanser oluşumu ile ilgisi bildirilmiştir. Hava kirliliği ile akciğer kanseri arasındaki ilişkiyi kurmak zor olmakla birlikte, aromatik hidrokarbonların yoğun olduğu bölgelerde akciğer kanseri oranı yüksektir(85).

#### **2.3.10.1. Karsinojenler, ksenobiyotikler**

Günlük yaşam içerisinde insan vücudu, sigara ve alkol kullanımı gibi alışkanlıklardan kaynaklanan ve alınan gıdalarda bulunan çok çeşitli sayıda toksik ve karsinojenik bileşiklere maruz kalmaktadır(2,11,39,70,77).

Bir karsinojen, kansere neden olan veya kanserin insidansını arttıran herhangi bir kimyasal, fiziksel veya viral ajandır. Sigaranın dumanındaki 4000 kimyasaldan 60'tan fazlası International Agency for Research on Cancer adlı kuruluş tarafından karsinojen olarak tanımlanmıştır(42). En etkili karsinojenler polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAHs), N-nitrozaminler ve aromatik aminlerdir. Bu bileşikler bir adet sigarada 5-200 ng gibi küçük miktarlarda bulunmaktadır. Daha sık rastlanan karsinojenler aldehitler ve benzen, butadiene gibi diğer kolay dönüşebilen organik bileşiklerdir. Bu bileşikler bir adet sigarada 10-100 ug miktarında bulunmaktadır. İnsan akciğer kanseri ile ilişkili olarak üzerinde en çok tartışılan en önemli karsinojenler benzo(a)pyrene ve nitrozaminketon (NNK) gibi polisiklik aromatik hidrokarbonlardır(38).

**Tablo 2-4: Sigara Dumanındaki Kanserle İlişkili Kimyasal Maddeler (43)****İnsanlarda kanserle nedensel ilişkisi olan maddeler:**

- |                  |             |
|------------------|-------------|
| • 4-Aminobifenil | Krom        |
| • Arsenik        | Nikel       |
| • Benzen         | Vinilklorür |

**İnsanlarda olası Kanserojen maddeler:**

- |                       |                      |
|-----------------------|----------------------|
| • Benzo(a)piren       | Formaldehid          |
| • Kadmiyum            | N-nitrozodietilamin  |
| • Dibenz(a,h)antrasen | N-nitrozodimetilamin |

**İnsanlarda kanserojen olduğuna dair yeterli ya da hiç veri olmayan, ancak deney hayvanlarında kanserojen oldukları konusunda yeterli veri bulunan maddeler:**

- |                      |                       |
|----------------------|-----------------------|
| • Asetaldehid        | Kurşun                |
| • Benzo(b)floranten  | Dibenzo(a,h)piren     |
| • Benzo(j)floranten  | Dibenzo(a,f)piren     |
| • Benzo(k)floranten  | Dibenzo(a,i)piren     |
| • Para-krezol        | Hidrazen              |
| • DDT                | Üreten karbazol       |
| • Dibenz(a,h)akridin | N-Nitrozodietanolamin |
| • Dibenz (a,j)       | Orto- Toluidin        |

---

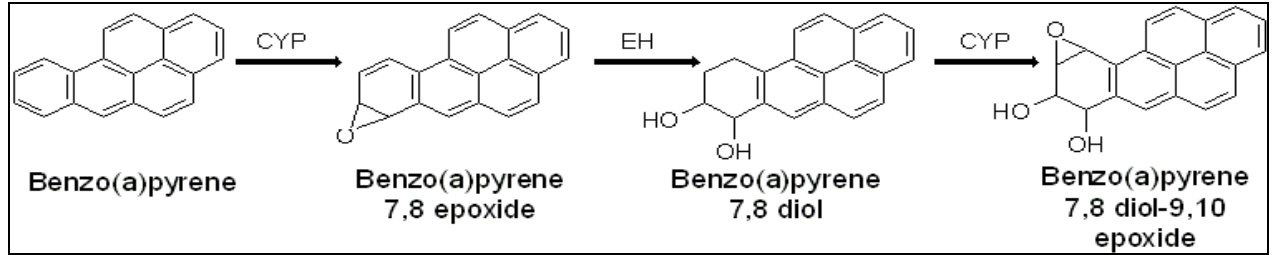
**Kaynak : IARC (43)**

Tümör formasyonu, bu tip dış faktörler(karsinojenler)ve iç faktörlerin(genetik)karşılıklı etkileşimi sonucu oluşur. Bu oluşum sürecinde faz I ve faz II detoksifikasyon enzimleri önemli bir rol oynamaktadır(17).

## 2.4. MİKROZOMAL EPOKSİD HİDROLAZ (EPHX) ENZİMİNİN YAPISI VE GÖREVİ

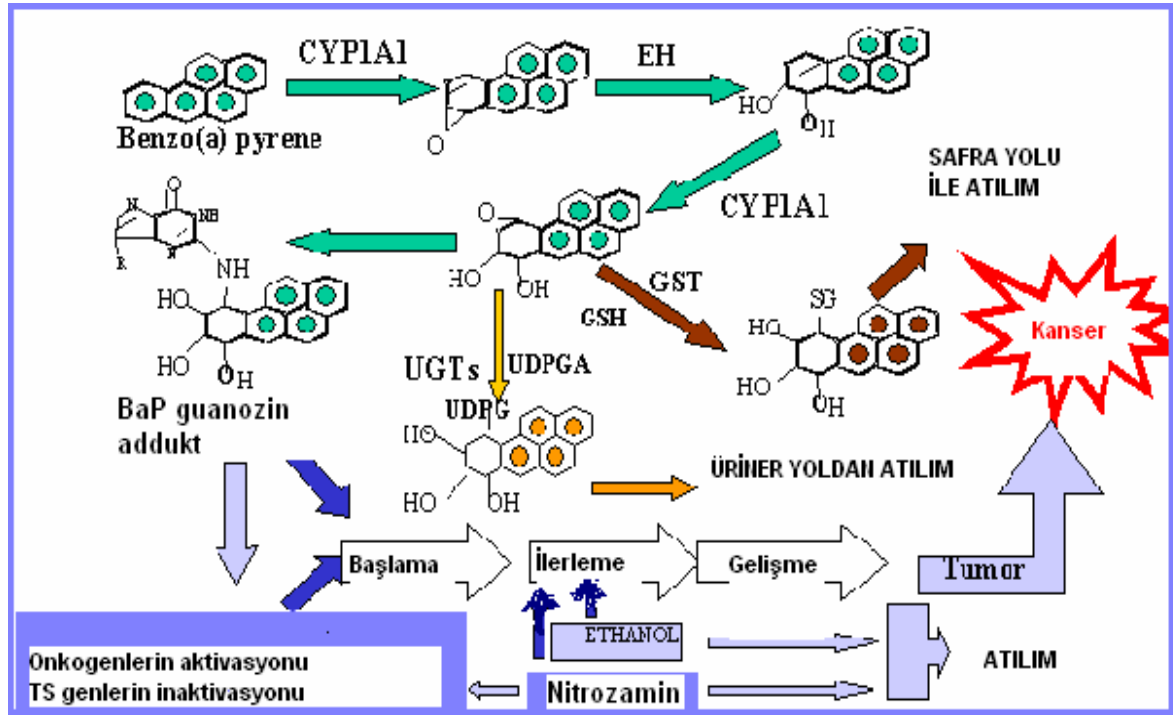
Epoksid hidrolazlar, polisiklik aromatik hidrokarbonlar gibi ekzojen kimyasalların detoksifikasyonunda ve hem de aktivasyonunda rol oynayan önemli bir enzim ailesidir(**E.C.3.3.2.3**). Mikrozoal epoksid hidrolaz(EPHX1)bu enzim ailesinin bir üyesidir. Vücuda çeşitli yollarla alınan toksik ve karsinojenik bileşiklerin metabolizmasında rol oynayan faz I biyotransformasyon enzimidir(**17**). Mikrozoal epoksid hidrolaz bifonksiyonel bir proteindir. Sadece karsinojenlerin metabolizmasında değil aynı zamanda safra asitlerinin hepatositlere sodyum bağımlı yoldan alınmasından da sorumludur(**104**). Mikrozoal epoksid hidrolazlar, geniş bir substrat spesifitesine sahiptir ve substratları içerisinde polisiklik aromatik hidrokarbonların, antikonvulsant ilaçların ve steroidlerin epoksid derivelere içerir(**21**).

**Şekil 2-1: Benzo(a)pyrene'in EPHX ve CYP enzimleri ile metabolizasyonu(107)**



Sitokrom P450 ve diğer faz I enzimleri tarafından oluşumu katalizlenen arenlerin, alkenlerin ve alifatik bileşiklerin epoksidlerini dihidrodiolelere hidrolize eder(**64**).

Şekil 2-2: Sitokrom P450 enzimleri ve Epoksid Hidrolaz Enzim sisteminin Kansere Oluşturma Mekanizması (16)



EH: Epoksid Hidrolaz  
 GST: Glutasyon Transferazlar  
 GSH: Glutasyon  
 UGTS: Uridinglukoronil transferazlar  
 UDPGA: Uridin diphosfo-glukoronik asid  
 CYP1A1: Sitokrom P-450 1A1

Tüm dokularda eksprese edilmekle birlikte en yüksek konsantrasyonlarda eşeyssel bezler, böbrekler, akciğer, karaciğer ve bronşiyal epitel hücrelerinde bulunur(62,76, 89). Tüm bunların dışında epoksid hidrolazın fonksiyonları arasında, safra asitlerinin transportu vitamin K1 okside redüktaz aktivitesindeki rolü ve steroid epoksidlerinin endojen metabolizmasındaki işlevi sıralanabilir(18, 28, 97).

#### **2.4.1. Mikrozomal Epoksid Hidrolaz EPHX Geninin Yapısı ve Özellikleri**

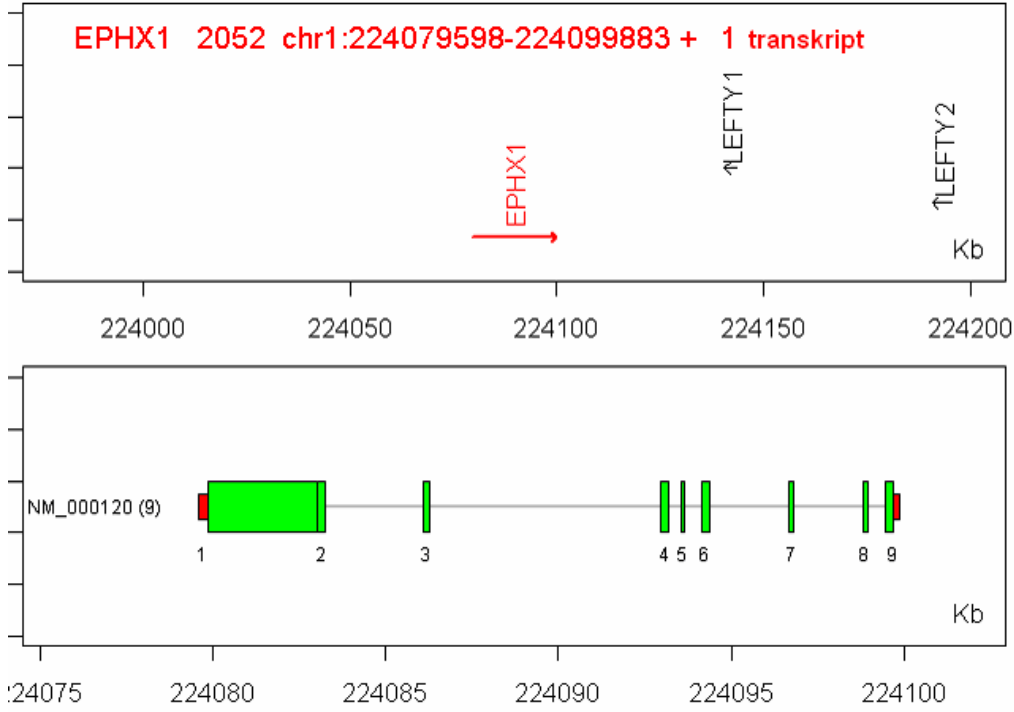
EPHX1 geni insan genomunda, kromozom 1q42.1 bölgesinde lokalizedir(17, 32, 33, 57). EPHX1 proteini ve nükleik asit dizisi yüksek derecede korunmuştur(48).

İnsan mikrozomal epoksid hidrolaz geninin(EPHX1)nükleotid dizisinin sıçan mikrozomal epoksid hidrolaz geni ile %82 homoloji gösteren 455 nükleotidden oluştuğu belirlenmiştir(44). İnsan epoksid hidrolaz geninin cDNA klonlarının izole edilerek nükleotid dizisinin belirlendiği bir başka çalışmada, insan epoksid hidrolaz enzim dizisinin tavşan epoksid hidrolazının dizisi ile %80, sıçan enzim dizisi ile %84 homoloji gösterdiği belirlenmiştir. Northern analizi sonucunda 1.8 kb'lık tek bir mRNA bandı taşıdığı, Southern blot analizi sonucunda ise her bir haploid genomda genin yalnızca bir kopyasını taşıdığı belirlenmiştir. İnsan EPHX1 cDNA ile yapılan çalışmalarda da pek çok RFLP (restriction fragment length polymorphism) bölgesi bulunmuştur(81).

EPHX1 geninin tümünü kodlayan klonlar izole edilmiş ve dizilenmiştir. Primer nuklear transkriptin, transkripsiyon bölgesinden poly A bölgesine kadar uzanan alanda 20,271 nükleotid uzunluğunda olduğu belirlenmiştir(35). EPHX proteini yaklaşık olarak 49kDa büyüklüğündedir(96).

EPHX geni 8 adet intron ile ayrılmış 9 adet ekzon içermektedir.İntronların uzunluğu 335-6696 baz çifti arasında değişmektedir .İntronlar çok sayıda tekrarlı DNA bölgeleri içermektedir ve intronlardan 4 tanesinde, herbiri 100 nükleotidden daha uzun olan 18 adet Alu dizisi bulunmaktadır(35).

**Şekil 2-3: EPHX geni ve transkripti(105)**



#### 2.4.2. MİKROZOMAL EPOKSİD HİDROLAZ (EPHX) ENZİM POLİMORFİZMLERİ

İnsan EPHX1 geni üzerinde bugüne kadar 8 adet farklı polimorfizm belirlenmiş ve bu polimorfizmler NCI veritabanında listelenmiştir(106). Ancak bu polimorfizmlerin pek çoğu transkripsiyon ünitesinin kodlanmayan bölgesinde bulunduğundan EPHX1 proteininin yapısını değiştirmez. Bu polimorfizmlerden yalnızca iki tanesi protein yapısını etkilemektedir(72,75,94). Bunlardan biri ekzon3 üzerinde 113. nükleotidde bulunan Tyr/His polimorfizmi diğeri ise 139. nükleotidde bulunan His/Arg polimorfizmidir. Bu varyantlar posttranskripsiyonel aktiviteleri değiştirerek sırası ile %40-50 oranında azalmış ve %25 oranında artmış aktiviteli enzim eksprese etmektedir(5, 22, 24, 31, 33, 34, 57, 74, 82).

Bu polimorfizmlerin, kolorektal kanser(31,73), akciğer kanseri(33,54,57), over kanseri(43, 51), Crohn hastalığı(13), farinks ve larinks kanserleri(46), hepatoselüler kanser(58, servikal kanser(80), nazofarinks sküamöz hücre karsinomu(100) ile ilişkisi çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Bir çalışmada da 3. ekzonun 119. kodonunda G-A baz değişimine neden olan bir nokta mutasyonu daha belirlenmiştir(101). EPHX geninin 3. ekzonu üzerindeki polimorfik varyantların oranları coğrafi ve etnik populasyonlar arasına oldukça büyük farklılıklar sergilerken 4.ekzon üzerindeki polimorfik varyantların oranlarının populasyonlarda arasında çok fazla farklılık sergilediği söylenemez(33, 90).

#### **2.4.2.1. Mikrozomal Epoksid Hidrolaz EPHX Genindeki Ekzon 3 TYR 113 HİS Polimorfizmi**

EPHX geninin 3. ekzonunda 113. nükleotidde T-C baz değişimi sonucu Histidin aminoasidinin Tirozin yerine geçmesi ile oluşan bir nokta mutasyonudur(92).

Bu mutasyon sonucu enzim aktivitesi yaklaşık olarak %40-50 oranında azaldığı düşünülmektedir(33).

EPHX'in TYR113HİS polimorfizminde, Tyr/Tyr homozigot normal, Tyr/His heterozigot mutant ve His/His homozigot mutant genotipler bulunmaktadır(92) Tyr 113 His polimorfizminin over kanseri(51), akciğer kanseri(51), karaciğer kanseri(58), özafagus skuamöz hücre karsinomu(100), spontan düşükler(90) gibi hastalıklarda risk faktörü olduğu açıklanmıştır. EPHX geninin Tyr113His mutasyonunda, EPHX aktivitesi, homozigot His113/His ve heterozigot Tyr113/His mutant genotiplerinde, homozigot normal Tyr113/Tyr genotipine oranla daha yüksek bulunmuştur(92).

### 2.4.2.2. Mikrozomal Epoksid Hidrolaz EPHX Genindeki Ekzon 4 HİS 139 ARG Polimorfizmi

EPHX geninin 4. ekzonunda 139. nükleotidde A-G baz değişimi sonucu Arginin aminoasidinin Histidin yerine geçmesi ile oluşan bir nokta mutasyonudur(61, 92). Bu mutasyon sonucunda enzim aktivitesi yaklaşık olarak %25 oranında arttığı dūřünülmektedir.(33). EPHX1'in HİS139ARG polimorfizminde, His/His homozigot normal, His/Arg heterozigot mutant ve Arg/Arg homozigot mutant genotipler bulunmaktadır(92, 100).

His 139 Arg polimorfizminin akciğer kanserinde risk faktörü olabileceği açıklanmış ancak bir kısım çalışmada da akciğer kanseri ile ilişkisi doğrulanmamıştır(57, 66, 103).

**Tablo 2-5: Enzim aktivitesinin allelik varyantlara göre olası dağılımı (68).**

	EKZON 3	EKZON 4
Azalmış aktiviteli	His113/His113	
	His113/Tyr113	His139/His139
Normal aktiviteli	Tyr113/Tyr113	His139/His139
	Tyr113/His113	His139/Arg139
Artmış aktiviteli		Arg139/Arg139
	Tyr113/Tyr113	His139/Arg139

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. SEÇİLEN ÖRNEKLERİN TANIMI

Çalışmada akciğer kanserli ve kontrol olmak üzere iki farklı grup kullanılmıştır. Akciğer kanserli bireyler, Yedikule Eğitim ve Araştırma Hastanesi Göğüs Cerrahisi Bilim Dalı'nda takip edilen 40-80 yaşları arası erkek ve 37-70 yaşları arası kadın hastalardan seçilmiştir. Kontrol grubu ise, herhangi bir akciğer rahatsızlığı olmayan, tercihen sigara kullanmayan 40-70 yaşları arası erkek ve 40-65 yaşları arası kadınlardan oluşturulmuştur. Hastaların klinik parametrelerine göre yapılan ayrımlarla kanser evrelendirmeleri, kan örneklerinin sağlandığı klinik tarafından yapılarak, bu analize göre hastalar çalışmaya dahil edilmiştir. Buna göre, akciğer grafisinde kitle tespiti yapılmış, klinik olarak da akciğer kanserine özgün belirtiler veren hastalar çalışma grubuna alınmıştır. Hastalar hayatta kalmaları açısından kanser evrelendirilmesine göre de daha detaylı takibe alınmıştır. Diğer taraftan, akciğer kanserine yönelik herhangi bir bulgusu olmayan, akciğer grafisi temiz çıkan ve ailede bilinen bir kanser hastalığı olmayan bireylere ait örnekler çalışmada kontrol grubu olarak kullanılmışlardır. EPHX gen polimorfizmi için, çalışma ve kontrol grubundaki bireylerden izin alınarak alınan kan örnekleri steril EDTA'lı tüplere aktarılmıştır. DNA'lar, en geç bir gün içerisinde çalışılmak suretiyle elde edilmiş ve oda ısısında saklanmıştır.

#### 3.2. KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

Agaroz(Promega MBG), Amonyum asetat(Sigma A-8920), Amonyum klorür(Sigma A-5666), Amonyum sülfat, Asetik asit(MECK K-04134156),

Borik asit(Sigma B-6768), Bromfenol blue(Sigma B-6896), DNA marker(Fermentas), EDTA(Merck K-90602121), Etanol(%99 Tekel), Etidyum Bromid(Sigma E-8751), Hidroklorik asit(% 37 Merck K-13190114), İzopropanol, Potasyum bikarbonat(Merck K-126223552), Potasyum hidroksit(Sigma P 1767) Primerler(Fermentas), Proteinaz K(Stratagene 300-141) Sodyum dodesil (lauryl) sülfat(Sigma L-5750), Sodyum hidroksit(Merck C754962), Sodyum klorür(Carlo Erba 368257), Trizma baz(Sigma T-1503), Taqpolimeraz(Promega), Xylene blue(Fermentas)

### 3.3. KULLANILAN GEREÇLER

Elektroforez için güç kaynağı(Titan plus Helena Laboratories), Elektroforez sistemi(LKB 2013 miniphor electrophoresis, LKB 2012 maxiphor electrophoresis), Hassas terazi (Mettler) , Isıtıcıli manyetik karıştırıcı(Elektromag) , Mikrodalga fırın(Philco) ,Mikrosantrifüj(TDX ), PCR cihazı (MJ Research Techne) , pHmetre(Hanna), Pipet takımı(Brand), Santrifüj(Hereaus), Spektrofotometre(Shimadzu UV-1208), Su banyosu (Elektromag) , UV transilluminator(Stratagene UV/White light Transilluminator) ,Vorteks karıştırıcı(Nuve mix).

### 3.4. ÇÖZELTİLER

#### 3.4.1. DNA İZOLASYONUNDA KULLANILAN ÇÖZELTİLER

##### 3.4.1.1.) Eritrosit Parçalama Tamponu (Lysis Buffer)

8.74 gram Amonyum klorür, 1 gram Potasyum bikarbonat, 200 µl 0.5 M Etilen diaminetetraasetat (EDTA)'ın tartımları yapılarak erlen içine alındı. 900 mililitre distile su eklendi ve çözeltinin pH'sı 1N NaOH ile 7.4'e ayarlandı.Daha sonra balon jöje içine alınarak 1 litreye tamamlandı.Çözelti ısıya dayanıklı cam şişelere aktararak 120°C'de 15 dakika otoklavlandı ve +4°C'de saklandı.

##### 3.4.1.2.) 0.5 M Disodyumetilendiaminteraasetat ( EDTA) (pH 8.0)

186.1 gram Etilendiamintetraasetat (EDTA) tartılarak beher içine alındı ve 800 ml distile su eklendi.Manyetik karıştırıcı yardımıyla çözündürüldü ve pH'sı NaOH çözeltisi ile 8.0'e ayarlanarak distile su ile 1 litreye tamamlandı. 120°C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi.

**3.4.1.3.) 4 M Sodyum Klorür (NaCl)**

233.6 gram NaCl tartılarak erlene alındı. Üzerine 800 mililitre distile su ilave edildi ve manyetik karıştırıcı yardımıyla iyice çözüldürüldü. Balon jojeye aktarılarak 1 litreye tamamlandı. 120°C’de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi.

**3.4.1.4.) Lökositleri Parçalama Tamponu (White Blood Cell Buffer-WBL)**

25 mililitre 4 M NaCl ve 50 mililitre 0.5 M Etilendiaminasetat (EDTA) balon jojeye konularak 1 litreye tamamlandı. 120°C’de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi. Oda ısısında saklandı.

**3.4.1.5.)1 M Tris Tamponu ( Stok)**

121.1 gram Tris baz tartılarak bir behere alındı. Üzerine 42 µl hidroklorik asit (HCl ) ile yaklaşık 800 mililitre distile su eklenerek manyetik karıştırıcı yardımıyla çözüldürüldü. Daha sonra balon jojeye aktarıldı ve 1 litreye tamamlandı. 120°C’de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi.

**3.4.1.6.) 9.5 M Amonyum Asetat**

73.22 gram amonyum asetat tartılarak beher içine alındı. Üzerine 80 mililitre distile su eklenerek manyetik karıştırıcıda çözüldürüldü. Balon jojeye aktarıldı ve distile su ile 100 mililitreye tamamlandı. 0.22 mikronluk filtreden geçirilerek sterilize edildi ve +4°C’de saklandı.

**3.4.1.7.) %10’luk Sodyum Dodesil Sülfat (SDS)**

10 gram Sodyum dodesil sülfat tartıldı. Beher içine alınarak üzerine 80 mililitre distile su eklendi. Manyetik karıştırıcı yardımı ile çözüldürüldü ve pH’sı 7.2’ye ayarlandı. 0.22 mikronluk filtreden geçirilerek sterilize edildi ve oda ısısında saklandı.

**3.4.1.8.) Proteinaz K (20 mg/ml)**

20 miligram Proteinaz K tartılarak steril bir tp içinde steril distile su ile 1 mililitreye tamamlandı. -20 °C’de saklandı.

**3.4.2. AGARUZ JEL ELEKTROFOREZİNDE KULLANILAN ÇÖZELTİLER****3.4.2.1.) Agaroz Jel Yükleme Tamponu (5X)**

20 gram Ficoll 400, 1 gram SDS, 0.2 mililitre 0.5 M ,etilendiamintetraasetat, 1 mililitre 1M Tris (pH 8.0), 200 miligram Bromfenol blue, 200 miligram xylene cyanol tartılarak steril distile su ile 100 mililitreye tamamlandı. Oda ısısında saklandı.

**3.4.2.2.) Etidyum Bromür (10 mg/ml)**

1 gram Etidyum bromür tartılarak steril distile su ile 10 mililitreye tamamlandı.

**3.4.2.3.) 5X Tris-Borik Asit-Etilendiamintetraasetat (TBE)**

54 gram Tris baz ve 27,5 gram borik asit tartılarak beher içine aktarıldı. zerine 20 mililitre 0.5 M EDTA (pH 8.0) ve 800 ml. distile su ilave edilerek manyetik karıştırıcıda çözündürüldü.çözelti balon jojeye aktarılarak 1 litreye tamamlandı ve 120°C’de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi. Oda ısısında saklandı.

### 3.5. KULLANILAN YÖNTEMLER

#### 3.5.1. PERİFERİK KANDAN DNA İZOLASYONU

10 ml periferik kan örneği steril EDTA'lı tüplere alındıktan sonra çalışma için falkon tüpüne aktarıldı. Üzerine 1:3 oranında (30 ml) eritrosit parçalama çözeltisi eklenerek karıştırıldı ve +4°C'de 15 dakika bekletildi. +4°C'den çıkarılan örneklerin 1500 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek süpernatant kısımları atıldı ve pelletleri tamamen süspanse edilerek üzerlerine tekrar 15-20 ml. eritrosit parçalama çözeltisi eklendi. Örnekler +4°C'de 15 dakika bekletildikten sonra 1500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve süpernatantları atılarak süspanse edildi. Süspanse olan pellet üzerine 500 µl %10'luk SDS, 75 µl proteinaz K (20mg/ml) ve 9.4 ml lökosit parçalama çözeltisi (WBL) eklenerek 56 °C su banyosunda 1 gece inkübe edildi. İnkübasyon sonrası her 1 ml. örnek başına 0.37 ml. olacak şekilde 9.5 M Amonyum asetat çözeltisi eklendikten sonra yavaşça karıştırıldı ve 3000 rpm'de 25 dakika santrifüj edilerek proteinler çöktürüldü(59).

##### 3.5.1.1. Elde Edilen DNA'nın Konsantrasyon ve Kalitesinin Tayini

Elde edilen DNA örneklerinde konsantrasyon ve miktar tayini yapmadan önce her örnekten 20µl alınarak üzeri 380µl 0,5X TE tamponu ile tamamlandı ve bu şekilde 1/20 dilüsyonu sağlandı. Bu dilüsyon örneklerinin daha sonra spektrofotometrede 260 nm ve 280 nm dalga boylarında OD ölçümleri yapıldı.

Spektrofotometrede 260 nm ve 280 nm dalga boylarında yapılan ölçümlerle DNA'nın saflığı ve konsantrasyonu belirlendi. 50µg/ml çift iplikçikli DNA içeriğinin 260 nm dalga boyunda 1 optik densite (OD) verdiği kabul edilmektedir. 260 nm'deki ölçüm değeri aşağıdaki formüle uygulanarak DNA konsantrasyonu hesaplandı.

DNA Konsantrasyonu:  $OD_{260} \times 50\mu\text{g/ml} \times \text{Sulandırma oranı}$

DNA örneklerinin saflığı OD<sub>260</sub>/ OD<sub>280</sub> oranı kullanılarak belirlendi. Yeterince iyi saflıkta kabul edilen DNA'nın OD<sub>260</sub>/ OD<sub>280</sub> değeri yaklaşık 1.8'dir. Ortamda fenol veya protein mevcutsa bu oran 1.8'den küçük olacaktır. OD<sub>260</sub>/ OD<sub>280</sub> değeri 2'den büyükse ortamda RNA bulunduğu anlamına gelir.

### **3.5.2. EPHX GENİNİN ÜÇÜNCÜ EKZON BÖLGESİNİN POLİMERAZ CHAIN REACTION (PCR) YÖNTEMİ İLE ÇOĞALTILMASI**

#### **3.5.2.1. EPHX Geni Üçüncü Ekzon Bölgesinin Çoğaltılması İçin Kullanılan Primer Dizileri**

EPHX geninde Tyr113/ His 113 polimorfizminin gözlemlendiği üçüncü ekzon bölgesini çoğaltmada kullanılan primerlerin nükleotid dizisi aşağıda verildiği şekildedir. Bu primerler uluslararası yayınlarda doğrulanmış primer dizileridir(100).

İleri primer: 5'- GAT CGA TAA GTT CCG TTT CAC C-3'

Geri primer: 5'-ATC CTT AGT CTT GAA GTG AGG AT-3'

#### **3.5.2.2. EPHX Geni Dördüncü Ekzon Bölgesinin Çoğaltılması İçin Kullanılan Primer Dizileri**

EPHX geninde His139/ Arg 139 polimorfizminin gözlemlendiği dördüncü ekzon bölgesini çoğaltmada kullanılan primerlerin nükleotid dizisi aşağıda verildiği şekildedir. Bu primerler uluslararası yayınlarda doğrulanmış primer dizileridir(29).

İleri primer: 5'-GGG GTA CCA GAC CCT GAC CGT-3'

Geri primer: 5'-AAC ACC GGG CCC ACC CTT GGC-3'

### 3.5.2.3. PCR’da Kullanılan Kimyasal Maddeler ve PCR’ın Hazırlanışı:

#### DNA Taq polimeraz enzimi (5U/μl) (Fermentas EPO402)

PCR reaksiyonundaki son konsantrasyonu 1 unite olacak şekilde 25 μl lik PCR reaksiyonuna eklendi.

#### dNTP’ler (100 μmol/ml) (Fermentas R0171)

100 mM’lık dNTP’lerden (dATP, dTTP, dCTP, dGTP) 10’ ar μl alınıp (toplam 40 μl) 1 μl’lik tüpe kondu ve üzerine 960 μl distile su eklenerek (d<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O) 1000 μl 1mM ‘lık dNTP karışımı hazırlandı ve -20 °C derin dondurucuda saklandı. PCR reaksiyonuna bu stoktan alınan dNTP karışımı kullanıldı.

### 3.5.2.4. PCR ( POLIMERASE CHAIN REACTION) Karışımının Hazırlanışı :

Toplam reaksiyon hacmi 25 μl olacak şekilde, tablo...’deki bileşenler sırası ile 0,5 ml’lik steri tüpe konuldu. 10 örnek çalışılacak ise pozitif ve negatif kontrol için birer tane ve pipetleme hataları için de bir tane olmak üzere toplam 13 üzerinden reaksiyon karışımı hazırlandı.PCR karışımının hazırlanma işlemlerinin hepsi buz üzerinde soğukta ve steril kabin içerisinde yapıldı.

**Tablo 3-1 : PCR karışımının hazırlanması**

Malzemeler	İlk konsantrasyon	Son konsantrasyon	Kullanılan hacim	10 + 3' lük reaksiyon
PCR Tamponu	10 X	1X	2.5 µl	32.5 µl
dNTP	1mM	200 µM	2 µl	26 µl
İleri primer	100pmol/µl	4 pmol/µl	2 µl	26 µl
Geri primer	100pmol/µl	4 pmol/µl	2 µl	26 µl
MgCl <sub>2</sub>	25 mM	-	1,5 µl	19.5µl
Taq polimeraz	5U/ µl	1 U	0,5 µl	6.5 µl
Distile su	-	-	12,5µl	162,5 µl
DNA	-	150-200 ng.	2 µl	-

Taq polimeraz eklendikten sonra hiç vakit kaybetmeden tüp içine konan bileşenlerin iyice karışması için pipetleme işlemi yapıldı. Örnek sayısı kadar 0,2 ml'lik tüplere 23 µl reaksiyon karışımı dağıtıldı. Daha sonra her tüpe 2 µl DNA eklenerek yeniden pipetleme yapıldı ve daha önceden 95 °C sıcaklığa çıkarılmış PCR cihazına(Techne Mini Termal Cyler)örnekler yerleştirildi ve PCR işlemi başlatıldı.

### 3.5.2.5. PCR Şartları

Ekzon 3 bölgesinin çoğaltılması için kullanılan annealing derecesi optimize edilerek (56 °C sıcaklık ) kullanıldı.

**Tablo 3-2 : Ekzon 3 bölgesi PCR reaksiyonu için termal profil şartları**

94 °C	5 dakika	
94 °C	30 saniye	38 döngü
56 °C	20 saniye	
72°C	20 saniye	
72°C	5 dakika	

**Tablo 3-3 : Ekzon 4 bölgesi PCR reaksiyonu için termal profil şartları**

94 °C	5 dakika	
94 °C	30 saniye	35 döngü
62 °C	30 saniye	
72°C	45 saniye	
72°C	5 dakika	

### 3.5.2.6. AGARUZ JEL ELEKTROFOREZİNDE KULLANILAN KİMYASAL MADDELER VE GEREÇLER :

#### **5X TBE ( Tris Buffer EDTA) Stok Tampon Hazırlanışı :**

54gr Tris base (Sigma, T-8524) ve 27,5 gr. Borik asit (Sigma, B-6768) tartılarak 800 ml distile suda çözüldü. Üzerine 20 ml 0,5 M EDTA (pH :8,0) ilave edildikten sonra 1000 ml'ye tamamlandı .Elektforezde stok 5X TBE tamponundan hazırlanan 1 X TBE kullanıldı.

### **Yükleme Tamponu (Loading Buffer : 6X)**

Yükleme tamponu (loading buffer) olarak %40 sükröz + %0,25 bromfenol mavisi karışımı kullanıldı.

### **%2'lik Agaroz Jel Hazırlanması:**

- 4 gr. agaroz (Sigma) tartılarak erlen içine konuldu. Üzerine son hacim 200 ml. olacak şekilde 1X TBE tamponu eklenerek, mikrodalga fırında kaynatma yolu ile çözündürüldü.
- Erlenin sıcaklığı elle tutulabilecek sıcaklığa düştüğünde (50-55°C) çözülmüş agaroz jel içine 4,5 µl etidyum bromür (10mg/ml) ilave edildi.
- Hazırlanan jel yatay jel yatağı içine dökülerek, yüklemeye kuyucuklarının oluşması için tarak yerleştirilerek donmaya bırakıldı.
- Jel donduktan sonra tarak dikkatlice çıkarıldı ve jel örnek yüklenmesi için hazır duruma geldi.

#### **3.5.2.6.1. PCR Ürünlerinin %2'lik Jel'e Yüklenmesi:**

- %2'lik jel hazırlandıktan sonra 1X TBE tamponu içeren jel tankı içine uygun şekilde konuldu.
- Agaroz jelin üzerine 2-3 ml gelecek şekilde 1X TBE tamponu jel üzerine eklendi.
- 7 µl PCR ürününe, 3 µl yüklemeye tamponu (6X) eklenip pipetleme yapılarak karıştırıldı. 10 µl'lik örnek karışımı kuyucuklara sırasıyla yüklendi.
- Yüklemeye işleminden sonra jel tankının kapağı kapatıldı. Güç kaynağı (E-C apparatus Corporation, E-C4000P) 250 miliamper 120 volt elektrik gücüne ayarlanarak elektroforez jel yürütülmesi gerçekleştirildi.

#### **3.5.2.6.2. PCR Ürünlerinin Kontrolü:**

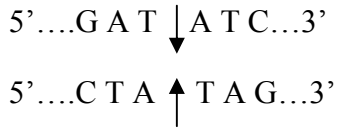
Ekzon 3 ve ekzon 4 bölgelerinin PCR ürünlerinin oluşup oluşmadığını kontrol etmek amacı ile PCR tüplerinden alınan 7 µl örnek 3 µl yüklemeye tamponu ile karıştırılarak yukarıda tanımlanan elektroforez sisteminde yürütüldü. Yürütme işleminden sonra jel UV ışık altında (304 nm dalga boyunda) PCR ürünleri incelendi ve fotoğrafı UV

transillüminator düzeneğinde çekildi. PCR reaksiyonları sonucu ekzon 3 bölgesinde 162 bp lık bir ürün ve ekzon 4 bölgesinde 357 bp lık bir ürün elde edilmesi beklendi.

### 3.5.3.EPHX GENİ EKZON 3 BÖLGESİNİN PCR ÜRÜNLERİNDE ECOR V ENZİM KESİMİ

#### 3.5.3.1. Eco R V Enzim Kesiminde Kullanılan Enzimler ve Kimyasal Maddeler:

Eco R V Kesim enzimi (10 U/μl): (Fermentas ERO301) Eco R V enzimi 10X Buffer R ile birlikte kullanıldı. Eco R V enziminin tanıdığı dizi ve kesim yeri:



#### 3.5.3.2. Eco R V Enzim Kesimi

PCR ürünü saptanmış örneklerden toplam hacmi 15 μl olacak şekilde restriksiyon enzim kesimi tabloda belirtilen çözeltilerin ve Eco R V enziminin sırasıyla eklenmesi ile gerçekleştirildi.

**Tablo 3-4 : Eco R V enzim kesiminde kullanılan kimyasal maddeler ve miktarları**

Malzemeler	İlk konsantrasyon	Son konsantrasyon	Eklenen hacim
PCR ürünü			10 μl
Distile su			2,5 μl
10X Buffer R Tamponu	10 X	0,8 X	2 μl
Eco R V enzimi	10 U/μl	5 U/μl	0,5 μl
			Toplam : 15 μl

### 3.5.3.3. Eco R V Enzim Kesim Ürünlerinin Değerlendirilmesi ve Kontrolü

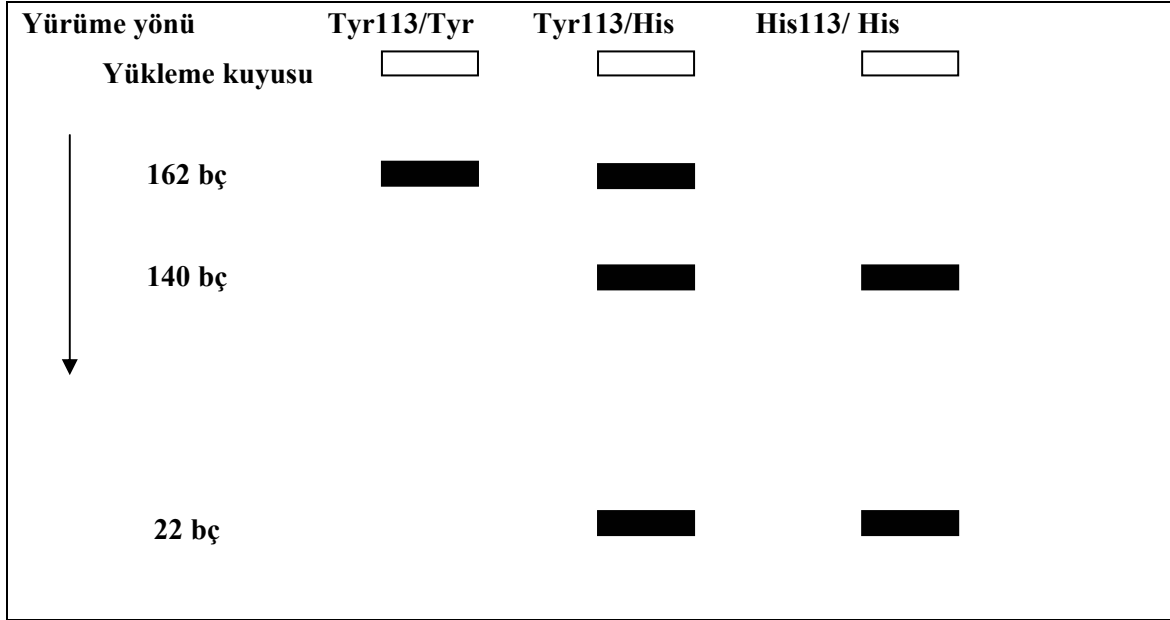
- %2'lik agaroz jel hazırlandı.
- Eco R V kesim enzimi ile kesilen PCR ürününden 8 µl ve yükleme tamponundan 2 µl alınarak karıştırılıp %2'lik agaroz jeldeki kuyulara yükleme yapıldı.
- Kesim ürünleri (Fermentas PUC 19, 50 bp marker veya 100 bp marker) DNA moleküler marker ile birlikte yürütüldü.
- Yürütme sonrası jel üzerindeki bantlar, UV ışık (304 nm) altında incelendi.

### 3.5.3.4. Eco R V Enzim Kesimi Değerlendirilmesi

Tyr 113/His mutasyonu varlığında Ekzon 3 bölgesinde Eco R V kesim bölgesi oluşur. Tyr113/ His mutasyonu içermeyen PCR ürünleri 162 bp büyüklüğünde tek bant verirken, Homozigot His113/His mutasyonu içeren PCR ürünleri, enzim kesimi sonrası 140 bp ve 22 bp olmak üzere iki bant verir. Heterozigot Tyr113/His mutasyonu içermeye durumunda ise PCR ürünleri 162, 140 ve 22 bp olmak üzere her üç bantı da içerir. Dolayısıyla Eco R V enzim kesim reaksiyonu sonucunda gözlenen 162 bp'lık tek bant Tyr 113/His mutasyonu taşımadığının kanıtıdır. 162, 140 ve 22 bp'lık üç bant heterozigot Tyr 113/His mutasyonun kanıtı iken, 140 ve 22 bp'lık iki bant ise homozigot His113/His mutasyonun kanıtıdır (Şekil3-1 ve Şekil3-2).



**Şekil 3-2: Eco R V enzim kesimi sonrası oluşabilecek DNA parçalarının %2 agaroz jelde çıkabilecek bant şeklinin şematik görüntüsü**



### 3.5.4. EPHX GENİ EKZON 4 BÖLGESİNİN PCR ÜRÜNLERİNDE RSA I ENZİM KESİMİ

#### 3.5.4.1. RSA I Enzim Kesiminde Kullanılan Enzimler ve Kimyasal Maddeler:

Rsa I Kesim Enzimi (10U/  $\mu$ l) : (Fermentas ER1121) Rsa I kesim enzimi 10X Buffer Tango ile birlikte kullanıldı. Rsa I enziminin tanıdığı dizi ve kesim yeri:

5'...GT ↓ AC...3'

5'...CA ↑ TG...5'

### 3.5.4.2. Rsa I Enzim Kesimi

PCR ürünü saptanmış örneklerden toplam hacmi 15 µl olacak şekilde restriksiyon enzim kesimi tabloda belirtilen çözeltilerin ve Rsa I enziminin sırasıyla eklenmesi ile gerçekleştirildi.

**Tablo 3-5: Rsa I enzim kesiminde kullanılan kimyasal maddeler ve miktarları**

Malzemeler	İlk konsantrasyon	Son konsantrasyon	Eklenen hacim
PCR ürünü			10 µl
Distile su			2,5 µl
10X Buffer R Tamponu	10 X		2 µl
Rsa I enzimi	10 U/µl	5 U/µl	0,5 µl

Toplam : 15 µl

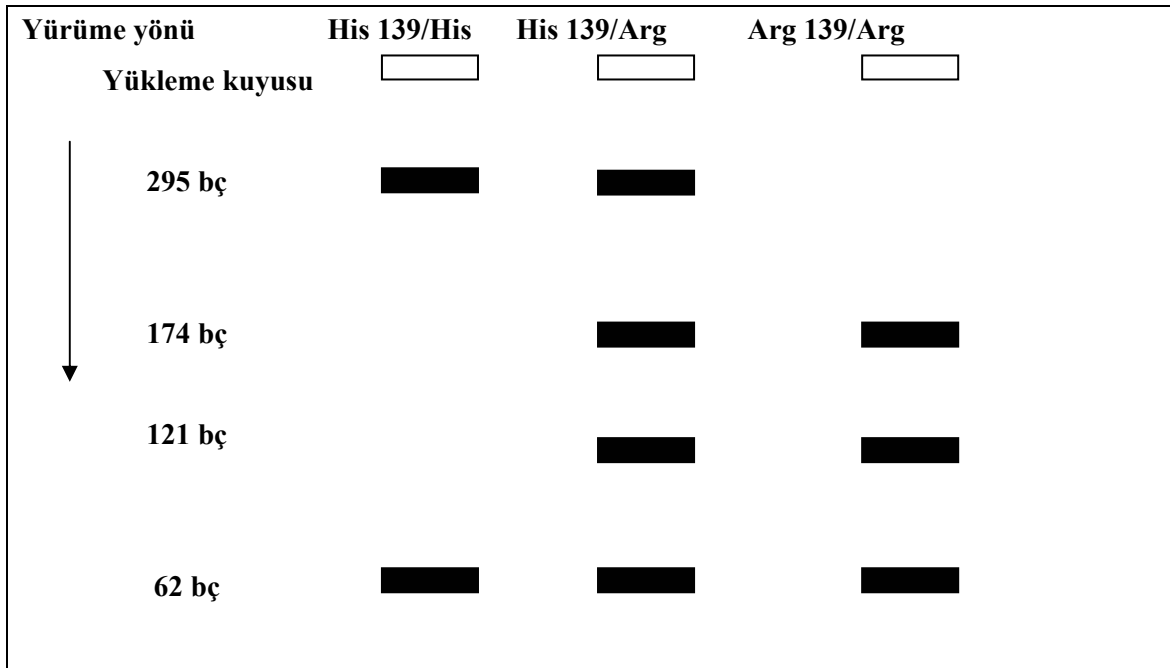
### 3.5.4.3. Rsa I Enzim Kesim Ürünlerinin Değerlendirilmesi ve Kontrolü

- %2'lik agaroz jel hazırlandı.
- Rsa I kesim enzimi ile kesilen PCR ürününden 8 µl ve yükleme tamponundan 2 µl alınarak karıştırılıp %2'lik agaroz jeldeki kuyulara yükleme yapıldı.
- Kesim ürünleri (Fermentas PUC 19, 50 bp marker veya 100 bp marker) DNA moleküler marker ile birlikte yürütüldü.
- Yürütme sonrası jel üzerindeki bantlar, UV ışık (304 nm) altında incelendi.

### 3.5.4.4. Rsa I Enzim Kesimi Değerlendirilmesi

His 139/ Arg mutasyonu varlığında Ekzon 4 bölgesinde birden fazla Rsa I kesim bölgesi oluşur. His 139/ Arg mutasyonu içermeyen PCR ürünleri tek kesim bölgesi ile 295 bp ve 62 bp büyüklüğünde iki bant verirken, Homozigot Arg 139/ Arg mutasyonu içeren PCR ürünleri, enzim kesimi sonrası 174, 121 ve 62 bp olmak üzere üç bant verir. Heterozigot His 139/ Arg mutasyonu içermeye durumunda ise PCR ürünleri 295, 174, 121 ve 62 bp olmak üzere her dört bantı da içerir. Dolayısıyla Rsa I enzim kesim reaksiyonu sonucunda gözlenen 295 ve 62bp'lık iki bant His 139/ Arg mutasyonu taşımadığının kanıtıdır. 295, 174, 121 ve 62 bp'lık dört bant heterozigot His 139/ Arg mutasyonunun kanıtı iken, 174, 121 ve 62 bp'lık üç bant ise homozigot Arg 139/ Arg mutasyonunun kanıtıdır. (Şekil3-3 ve Şekil3-4)

**Şekil 3-3 : Rsa I enzim kesimi sonrası oluşabilecek DNA parçalarının %2 agaroz jelde çıkabilecek bant şeklinin şematik görüntüsü**





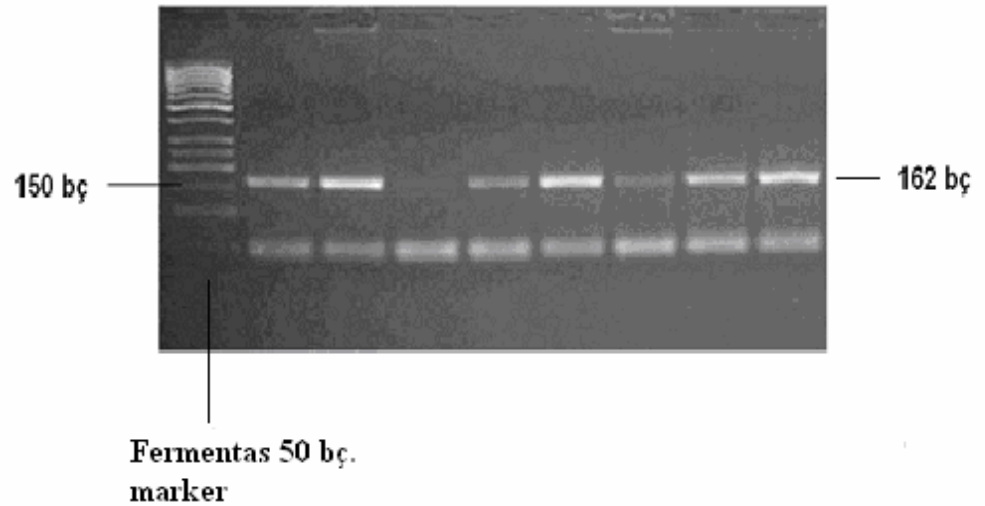
## 4. BULGULAR

### 4.1. PCR ÜRÜNLERİNİN KONTROLÜNE AİT BULGULAR

#### 4.1.1. EPHX Geni Ekzon 3 bölgesi PCR Ürünü ile ilgili Bulgular

Ekzon 3 bölgesinin PCR ürünleri %2'lik agaroz jelde yürütülerek kontrol edildi. Agaroz jelde 162 bç'lik özgül PCR ürününe ait bant elde edildiği gözlemlendikten sonra Eco R V enzim kesimi gerçekleştirildi (Şekil 4-1).

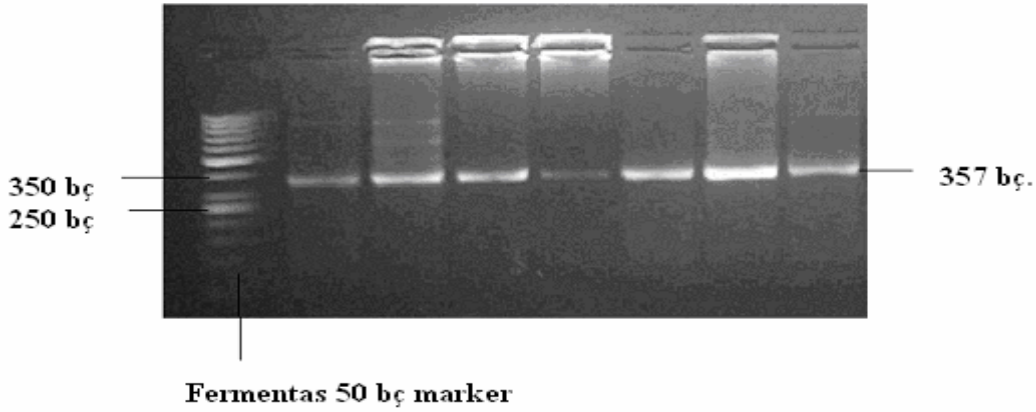
**Şekil 4-1: EPHX Geni Ekzon 3 primerleriyle çoğaltılan 162bç'lik PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü. (Marker: Fermentas 50 bç marker.)**



#### 4.1.2. EPHX Geni Ekzon 4 bölgesi PCR Ürünü ile ilgili Bulgular

Ekzon 4 bölgesinin PCR ürünleri %2'lik agaroz jelde yürütülerek kontrol edildi. Agaroz jelde 357 bç'lik özgül PCR ürününe ait bant elde edildiği gözlemlendikten sonra Rsa I enzim kesimi gerçekleştirildi (Şekil 4-2).

**Şekil 4-2: EPHX Geni Ekzon 4 primerleriyle çoğaltılan bölgenin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü. (Marker: Fermentas 50 bç marker)**

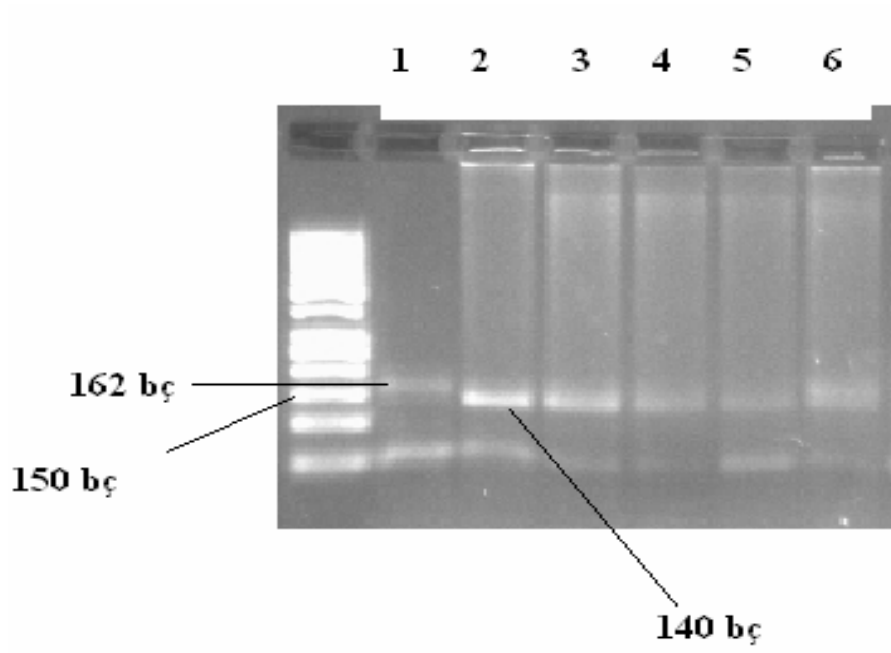


#### 4.2. KESİM ÜRÜNLERİNE AİT BULGULAR:

##### 4.2.1. Eco R V Enzim Kesimi ile Tyr113/His Mutasyon Taraması Bulguları

EPHX geni ekzon 3 bölgesinin ürünlerine Eco R V enzim kesimi uygulandı ve kesim ürünleri %2'lik agaroz jelde elektroforezde yürütüldü. Eco R V enzim kesimi sonrası agaroz jelde yürütülen örneklerde 162 bç'lik tek bant elde edilenler Tyr113/His mutasyonu bakımından EPHX geni homozigot normal-yabanıl tip (Tyr113/Tyr) değerlendirildi. Eco R V enzim kesimi olan ve agaroz jel elektroforezde 140 bç ve 22 bç'lik iki bant veren örneklerde Tyr113/His mutasyonu yönünden EPHX geni homozigot mutant (His113/His) olarak değerlendirildi. 162 bç, 140 bç ve 22 bç olmak üzere üç bant veren örnekler ise heterozigot mutant (Tyr113/His) olarak değerlendirildi. 22 bç'lik kesim ürünleri çok küçük olduğundan %2'lik agaroz jelde daha hızlı yürüyerek jelden çıktı ve bant görülemedi. Agaroz jelde bu nedenle 162 bç ve 140 bç'lik iki bant görülebildi (Şekil 4-3).

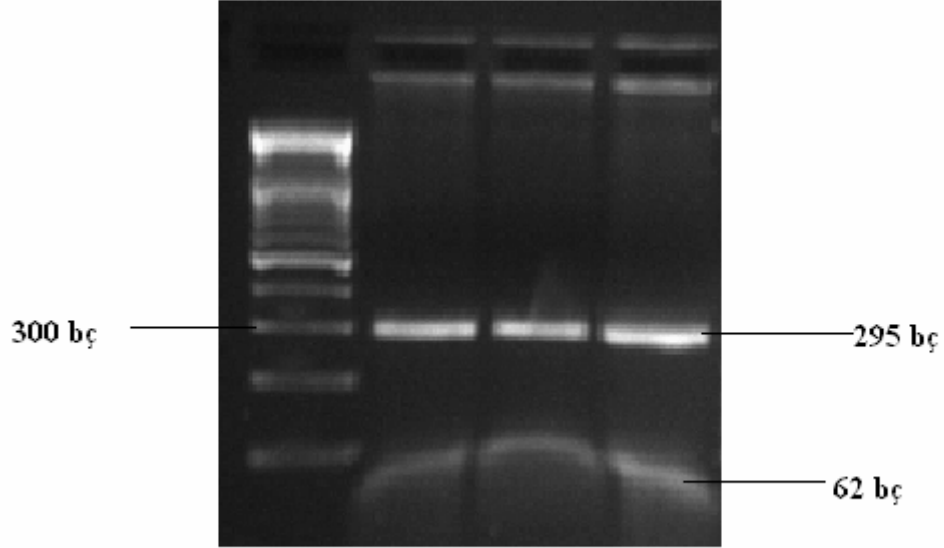
**Şekil 4-3: Eco RV enzim kesimi sonucunda ürünlerin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü. ( 1. kuyu 162 bç, Tyr113/Tyr-homozigot normal/yabanıl tip, 2.,3.,4. ve 5. kuyu 140 bç ve 22 bç, His113/His-homozigot mutant, 6. kuyu 162bç, 140 bç, 22 bç, Tyr113/His heterozigot mutant.)**



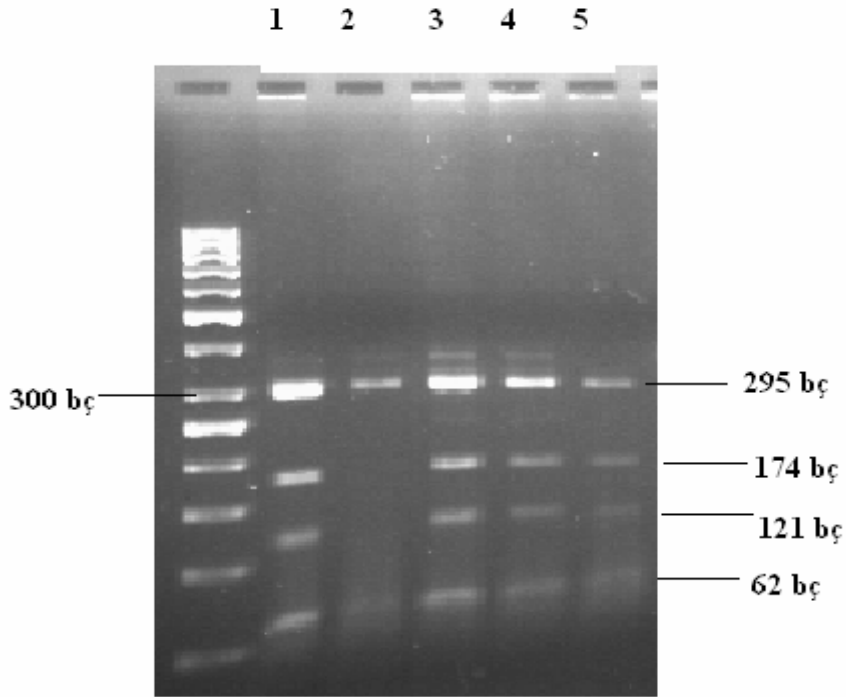
#### **4.2.2. Rsa I Enzim Kesimi ile His 139/Arg Mutasyon Taraması Bulguları**

EPHX ekzon 4 bölgesinin PCR ürünlerine Rsa I enzim kesimi uygulandı ve kesim ürünleri %2'lik agaroz jelde elektroforezde yürütüldü. Rsa I enzim kesimi sonrası agaroz jelde yürütülen örneklerde 295 bç ve 62 bç'lik ik bant elde edilenler His139/Arg mutasyonu bakımından EPHX geni homozigot normal-yabanıl tip (His139/His) değerlendirildi. Rsa I enzim kesimi sonrası agaroz jel elektroforezde 174 bç ,121 bç ve 62 bç'lik üç bant veren örneklerde His139/Arg mutasyonu yönünden EPHX geni homozigot mutant (Arg 139/Arg) olarak değerlendirildi. 295bç, 174bç , 121 bç ve 62 bç olmak üzere dört bant veren örnekler ise heterozigot mutant (His139/Arg) olarak değerlendirildi (Şekil 4-4).

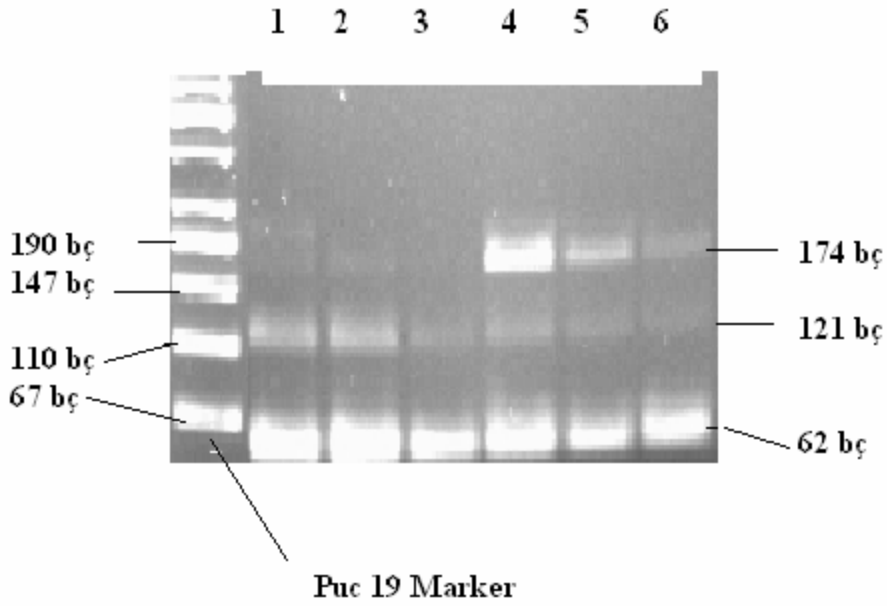
**Şekil 4-4: Rsa I enzim kesim ürünlerinin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü. (Marker:Fermentas 100 bç marker. Her üç kuyuda görülen örnek kesim sonrası 295 bç ve 62 bç olmak üzere iki bant veren His139/His homozigot normal-yabanıl tip.**



**Şekil 4-5: Rsa I enzim kesimi sonucunda ürünlerin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü. (Marker:Fermentas 50 bç marker.1., 3., 4. ve 5. kuyudaki örnekler 295 bç, 174 bç, 121 bç ve 62 bç olmak üzere dört bant veren His139/Arg heterozigot mutant. 2. kuyudaki örnek 295 bç ve 62 bç'lik iki bant veren His139/His homozigot-normal/yabanıl tip.**



**Şekil 4-6: Rsa I enzimi kesim ürünlerinin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü. (Marker:Fermentas Puc 19 marker. 4. 5. 6. kuyulardaki örnekler 174 bç, 121 bç ve 62 bç olmak üzere üç bant veren Arg139/Arg homozigot mutant.**



### **Sonuçların Değerlendirilmesinde Kullanılan İstatistiksel Hesaplar**

Bu çalışmanın istatistiksel analizleri SPSS 7.5 paket programı kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel anlamlılık sınırı  $p < 0.05$  olarak alınmış olup EPHX Ekzon 3 ve EPHX ekzon 4 genotip ile allellerinin görülme sıklığının, gruplar arası farklılıklarla beraber değerlendirilmesinde Ki kare ( $\chi^2$ ) testi kullanılmıştır.

### 4.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ SONRASINDA ELDE EDİLEN BULGULAR

Çalışmamıza dahil edilen akciğer kanserli hasta ve kontrol grubuna ait yaş ve cins özellikleri Tablo 4-1 'de verilmiştir. Buna göre akciğer kanserli hastalar ile kontrol grubu arasında yaş parametresi açısından istatistiksel anlamlılık mevcut değildir ( $p>0.05$ ).

**Tablo 4-1: Çalışma gruplarına ait bilgiler**

	<b>KONTROL</b> <b>n= 40</b>	<b>AKCİĞER</b> <b>KANSERLİ</b> <b>HASTALAR</b> <b>n= 56</b>
<b>Örnek Sayısı (Kadın/Erkek)</b>	20/20	6/50
<b>Yaş Ortalamaları (yıl)</b>	50.66±15.48	58,72±10.73

Tablodaki değerler  $X \pm SD$  olarak verilmiştir. Gruplararası önemlilik derecesi student t testi ile incelenmiştir

Akciğer kanserli hastaların tumor tiplerinin sigara içme durumuna göre dağılımını yaptığımızda; geçmişte veya bugün sigara içen hastaların %96,2'sinde skuamöz hücre kanseri ve %73,3'ünde skuamöz hücre dışı kanser tipi görülürken, asla sigara içmemiş olan hastalarda skuamöz hücre kanseri oranı %3,8'e düşerken skuamöz hücre dışı tumor oranı %26,7'e düşmüştür. Bu bulgular bize skuamöz hücreli tumor tipinin sigara içimi ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Sonuçlar istatistiksel olarak da anlamlılığa yakındır (Tablo 4-2) ( $p=0,051$  , (risk katsayısı) odds ratio :1,311 , %95 güvenirlilik aralığı (CI) 0,957-1,796).

**Tablo 4-2 .Akciğer kanserli hastalarda sigara içme durumuna göre tumor tipi dağılımı.**

Tümör tipi	Sigara içme		Toplam
	Asla içmemiş	Geçmiş veya bugün içiyor	
<b>Skuamöz hücre kanseri</b>	1 %3,8	25 %96,2	26 %100
<b>Skuamöz hücre dışı</b>	4 %26,7	11 %73,3	15 %100
<b>Toplam</b>	5 %12,5	36 %87,3	41 %100

Tablodaki değerler örnek sayısı ve yüzde olarak verilmiştir. Gruplar arasındaki farklılık Kikare ( $\chi^2$ ) testi ile gösterilmiştir ( $\chi^2 = 4,626$  ;  $p=0,051$  ,OR 1,311 ). %95 CI 0,957-1,796.

EPHX Ekzon 3 (E3) ve Ekzon 4 (E4) genotiplerinin akciğer kanserli hastalarda tümör tipleri üzerindeki dağılımında istatistiksel olarak anlamlı ve dikkat çekici bir bulguya ulaşılamamıştır. EPHX gen polimorfizmi sonuçları göz önüne alınarak, genotip dağılımı açısından çalışma grubumuz incelendiğinde, ekzon 3 genotiplerinin dağılımında kontrol grubu ve akciğer kanserli hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. ( $p<0.001$ ). Buna göre akciğer kanserli hastalarda. Ekzon 3 genotip analizinde, kontrol grubuna göre diğer genotiplere kıyasla en fazla oranda görülen genotip His113/His genotipidir (Tablo 4-3).

Çalışma grubumuzdaki EPHX genotiplerinin allel frekansını belirlemek için gen sayım metodunu kullandık. Buna göre, çalışma grubumuzdaki EPHX Ekzon 3 ve ekzon 4 allelik frekansları akciğer kanserli hasta ve kontrol grubunda sırasıyla şu şekildedir: Tyr 113 %33,93, His113 %66,07; Tyr 113 %67.5, His113 %32.5; His 139 %74,10 ve Arg 139 %25,89; His 139 %72.5, Arg 139 %27.5. (Tablo 4-3 ve 4-4'de gösterilmiştir.)

**Tablo 4-3: EPHX Ekzon 3 genotip dağılımının Akciğer kanserli hasta grubunda kontrol grubuna göre karşılaştırılması**

	Tyr113/Tyr	Tyr113/His	His113/His	Toplam
<b>Akciğer kanserli hastalar</b>	7 (%12,5 )	24(%42,9)	25 (%44,6)	56(%100,0)
<b>Kontrol</b>	21 (%52,5 )	12 (%30 )	7 (%17,5)	40 (%100,0)
<b>Toplam</b>	28 (%29,2 )	36 (%37,5 )	32 (%33,3)	96(%100,0)

Tablodaki değerler örnek sayısı ve yüzde olarak verilmiştir. Gruplar arasındaki farklılık Kikare testi ile gösterilmiştir ( $X^2= 18,986$  ;  $p<0,001$  ).

EPHX Ekzon 4 genotiplerinin akciğer kanserli hastalardaki dağılımında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığa ulaşılmamıştır (Tablo 4-4).

**Tablo 4-4: EPHX Ekzon 4 genotip dağılımının Akciğer kanserli hasta grubunda kontrol grubuna göre karşılaştırılması**

	His139/His	His139/Arg	Arg139/Arg	Toplam
<b>Akciğer kanserli hastalar</b>	30(%53,6)	23 (% 41,1 )	3 (% 5,4 )	56(% 100,0)
<b>Kontrol</b>	21(%52,5)	16 (% 40 )	3 (%7,5 )	40(% 100,0)
<b>Toplam</b>	51(%53,1)	39(%40,6 )	6(%6,3 )	96 (%100,0 )

Tablodaki değerler örnek sayısı ve yüzde olarak verilmiştir. Gruplar arasındaki farklılık Kikare testi ile gösterilmiştir ( $X^2=0, 183$  ).

EPHX Ekzon 3 gen polimorfizmine ait, His113 alleli taşıma açısından çalışma grubumuz incelendiğinde, akciğer kanserli hastalarda (%87,5) kontrol grubuna (%52,5) göre, Tyr113/Tyr genotipine kıyasla istatistiksel anlamlı olarak 1,667 kat artmış risk saptanmıştır( $p<0.001$ ) (Tablo 4-5).

**Tablo 4-5: EPHX His113 allelini taşımanın, akciğer kanserli hasta grubunda kontrol grubuna göre karşılaştırılması**

		<b>His113/His homozigot Tyr113/His</b>	<b>Tyr113/Tyr homozigot</b>	<b>Toplam</b>
<b>Akciğer hastalar</b>	<b>kanserli</b>	49(%87,5 )	7(%12,5 )	56(%100)
<b>Kontrol</b>		21(%52,5 )	19(% 47,5)	40(%100)
<b>Toplam</b>		70(% 72,9)	26(%27,1 )	96(%100)

Tablodaki değerler örnek sayısı ve yüzde olarak verilmiştir. Gruplar arasındaki farklılık Kikare testi ile gösterilmiştir ( $X^2=14,474$ ;  $p<0.001$ ; OR 1,667; %95 CI 1,221-2,275).

Ekzon 3 üzerinde His113/His genotipi taşıma oranı, akciğer kanserli hasta grubunda (% 44,6) kontrol grubuna (%15) göre, Tyr/His ve His/His genotiplerine kıyasla 2,551 kat artmış olup, (% 95 CI 1,225- 5.311) istatistiksel olarak anlamlılığa ulaşmıştır. ( $p=0,002$ ) (Tablo 4-6).

**Tablo 4-6: EPHX E3His/His genotipinin, akciğer kanserli hasta grubunda kontrol grubuna göre karşılaştırılması**

		<b>Tyr113/Tyr homozigot + Tyr113/His</b>	<b>His113/His homozigot</b>	<b>Toplam</b>
<b>Akciğer hastalar</b>	<b>kanserli</b>	31 (%55,4)	25 (%44,6)	56 (%100)
<b>Kontrol</b>		33 (%82,5)	7 (% 17,5)	40(%100)
<b>Toplam</b>		64 (%67,7)	32 (%33,3)	96 (%100)

Tablodaki değerler örnek sayısı ve yüzde olarak verilmiştir. Gruplar arasındaki farklılık Kikare testi ile gösterilmiştir ( $X^2=7.736$ ;  $p=0,005$ ; OR 2,551; %95 CI 1,225- 5.311)

Ekzon 4 His139/His ve His/Arg genotiplerinin dağılım oranı akciğer kanserli hasta grubunda (%94,6) kontrol grubuna (%92,5) göre, Arg139/Arg genotipine kıyasla 1,023 kat oranda artmış olup sonuç istatistiksel olarak anlamlılığa ulaşmamıştır( $p=0,691$ ) (%95 CI 0,918-1,140) (Tablo 4-7).

**Tablo 4-7: Ekzon 4His139 allelinin çalışma grubu üzerindeki dağılımı**

		<b>His139/His homozigot+ His139/Arg</b>	<b>Arg139/Arg</b>	<b>Toplam</b>
<b>Akciğer hastalar</b>	<b>kanserli</b>	53 (% 94,6 )	3 (% 5,4)	56 (% 100,0)
<b>Kontrol</b>		37(% 92,5)	3 (% 7,5)	40 (% 100,0 )
<b>Toplam</b>		90 (%93,8 )	6 (%6,3 )	96 (%100,0)

Tablodaki değerler örnek sayısı ve yüzde olarak verilmiştir. Gruplar arasındaki farklılık Kikare testi ile gösterilmiştir ( $X^2=0,183$ ;  $p=0,691$ ; OR 1,023 , %95 CI 0,918- 1,140)

Ekzon 4 His139/His genotiplerinin dağılım oranı akciğer kanserli hasta grubunda (%53.6) kontrol grubuna (%52.5) göre, Arg alleli taşıma durumuna göre 1,020 kat oranda artmış olup sonuç istatistiksel olarak anlamlılığa ulaşmamıştır. ( $p=0,691$ ) (%95 CI 0,918-1,140) (Tablo 4-8).

**Tablo 4-8: Ekzon 4His139 allelininin çalışma grubu üzerindeki dağılımı**

		<b>His139/Arg heterozigot+ Arg139/Arg</b>	<b>His139/His</b>	<b>Toplam</b>
<b>Akciğer kanserli hastalar</b>		26 (% 46.4 )	30 (% 53.6)	56 (% 100,0)
<b>Kontrol</b>		19(% 47.5)	21 (% 52.5)	40 (% 100,0 )
<b>Toplam</b>		45 (%46.9 )	51 (%53.1 )	96 (%100,0)

Tablodaki değerler örnek sayısı ve yüzde olarak verilmiştir. Gruplar arasındaki farklılık Kikare testi ile gösterilmiştir( $X^2=0,011$ ;  $p=0.917$ ; OR 1,020 , %95 CI 0,696- 1,496).

E3 Tyr/Tyr(+) ve E4 His/His (+) genotip kombinasyonunun dağılımı akciğer kanserli hasta grubunda %10,7 iken, kontrol grubunda %30 bulunmuş, böylece akciğer kanserli hasta grubunda E3 Tyr/Tyr (+) ve E4 His/His (+) kombine genotipli bireyler, kontrol grubuna göre düşük oranda saptanmıştır. E3 Tyr/Tyr (+) genotipi taşıyıp E4 His/His (-) taşımama durumu ise akciğer kanserli hasta grubunda (%89,3) kontrol grubuna (%70) kıyasla 1,276 kat artmış orandadır ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.  $p=0.017$  (Tablo 4-9).

**Tablo 4-9: E3 Tyr/Tyr + E4 His/His kombine genotipinin çalışma grubu üzerindeki dağılımı.**

	<b>E3 Tyr/Tyr (+) E4His/His (+) dışı genotipte olanlar</b>	<b>E3 Tyr/Tyr (+) E4His/His(+) genotipi taşıyanlar</b>	<b>Toplam</b>
<b>Akciğer kanserli hasta N %</b>	50%(89,3)	6(%10,7)	56(%100,0)
<b>Kontrol N %</b>	28 (%70)	12(%30)	40(%100,0)
<b>Toplam N %</b>	78(%81,3)	18(%18,8)	96(%100,0)

Tablodaki değerler örnek sayısı ve yüzde olarak verilmiştir. Gruplar arasındaki farklılık Kikare testi ile gösterilmiştir ( $X^2=5,697$ ;  $p=0,017$ ; OR 1,276 , %95 CI 1,021- 1,593).

E3 Tyr/His(+) ve E4 His/Arg(+) kombine genotipinin dağılımında akciğer kanserli hasta grubunda (%80,4) kontrol grubuna (% 90) göre artmış oran saptanmamış olup (%95 CI 0,674-5,727) istatistiksel olarak anlamlılığa da ulaşılammıştır.  $p=0,200$  (Tablo 4-10).

**Tablo 4-10: E3 Tyr/His + E4 His/Arg genotipinin çalışma grubu üzerindeki dağılımı.**

	<b>E3 Tyr/His (+) E4His/Arg(+) genotipi taşıyanlar</b>	<b>E3 Tyr/His (+) E4 His/Arg(+) dışı genotip taşıyanlar</b>	<b>Toplam</b>
<b>Akciğer kanserli hasta N %</b>	45(%80,4)	11(%19,6)	56 (%100,0)
<b>Kontrol N %</b>	36 (% 90)	4 (%10)	40 (%100,0)
<b>Toplam N %</b>	81(% 84,4)	15 (%15,6)	96(%100,0)

Tablodaki değerler örnek sayısı ve yüzde olarak verilmiştir. Gruplar arasındaki farklılık Kikare testi ile gösterilmiştir ( $X^2=1,646$ ;  $p=0,200$ ; OR 1,964 %95 CI 0,674- 5,727).

E3 Tyr/His (+) ve E4 His/His(+) genotipi, akciğer kanserli hasta grubunda ( %21,4) kontrol grubuna (%15) göre bu genotip kombinasyonu taşımayanlara göre 1,429 kat artmış oranda olup,fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. ( $p=0,426$ ; % 95 CI 0,585-3,486) (Tablo 4-11)

**Tablo 4-11: E3Tyr/His(+) ve E4His/His(+) genotipinin çalışma grubu üzerindeki dağılımı.**

	<b>E3 Tyr/His(+) E4His/His(+) dışı genotipte olanlar</b>	<b>E3 Tyr/His(+) E4 His/His (+)</b>	<b>Toplam</b>
<b>Akciğer kanserli hasta N %</b>	44(%78,6)	12(%21,4)	56 (%100)
<b>Kontrol N %</b>	34 (%85)	6 (% 15)	40 (%100)
<b>Toplam N %</b>	78(%81,3 )	18 (% 18,8)	96 (%100)

Tablodaki değerler örnek sayısı ve yüzde olarak verilmiştir. Gruplar arasındaki farklılık Kikare testi ile gösterilmiştir ( $X^2=0,633$   $p=0.426$ ; OR 1,429 %95 CI 0,585-3,486)

Son olarak yine E3 Tyr/Tyr (+) ve E4 His/Arg (+) genotipinin çalışma grubumuz üzerindeki dağılımına baktığımızda, bu genotipin dağılım oranı akciğer kanserli hasta grubunda %1,8 kontrol grubunda ise %20 olmak üzere düşük saptanmış olup, E3 Tyr/Tyr (+) ve E4 His/Arg(+) dışı genotip taşıma akciğer kanserli hastalarda 1.228 kat daha yüksek olarak saptanmış ve bu bulgu istatistiksel olarak da anlamlılığa ulaşmıştır.  $p=0,004$ ; %95 CI 1,047-1,439..(Tablo 4-12)

**Tablo 4-12: E3 Tyr/Tyr (+)E4 His/Arg(+) genotip kombinasyonunun çalışma grubu üzerindeki dağılımı.**

	<b>E3 Tyr/Tyr (+) E4His/Arg(+) dışı genotipte olanlar</b>	<b>E3 Tyr/Tyr (+) ve E4His/Arg(+) genotipi taşıyanlar</b>	<b>Toplam</b>
<b>Akciğer kanserli hasta N %</b>	55(%98,2)	1 (%1,8)	56(%100)
<b>Kontrol N %</b>	32 (%80,0)	8 (%20,0)	40 (%100)
<b>Total N %</b>	87(%90,6)	9 (% 9,4)	96 (%100)

Tablodaki değerler örnek sayısı ve yüzde olarak verilmiştir. Gruplar arasındaki farklılık Kikare testi ile gösterilmiştir ( $X^2=9,111$   $p=0,004$ ; OR 1,228 %95 CI 1,047-1,439.

Çalışma grubumuzda, E3 Tyr/Tyr ve E4 His/His genotipinin dağılımını, bu kombine genotipi taşımayanlarla kıyasladığımızda, bu genotipin akciğer kanserli hastalarda (%10.7) kontrol grubuna (%12) göre düşük olduğu, akciğer kanserli hastalarda bu combine genotipe sahip olamamanın ise kontrole göre 1.276 kat arttığını belirledik. Bu bulgu istatistiksel olarak da anlamlıdır.  $p=0,017$ . (Tablo 4-13)

**Tablo 4-13: E3 Tyr/Tyr (+) E4 His/His(+) Genotiplerin çalışma grubu üzerindeki dağılımı.**

	<b>E3Tyr/Tyr (+) E4His/His(+) dışı genotipi taşıyanlar</b>	<b>E3 Tyr/Tyr (+) E4His/His(+) genotipi taşıyanlar</b>	<b>Toplam</b>
<b>Akciğer kanserli hasta N %</b>	50 (%89.3)	6 (%10.7)	56(%100)
<b>Kontrol N %</b>	28 (%70)	12 (%30)	40 (%100)
<b>Toplam N %</b>	78 (%81.3)	18 (%50)	96 (%100)

Tablodaki değerler örnek sayısı ve yüzde olarak verilmiştir. Gruplar arasındaki farklılık Kikare testi ile gösterilmiştir ( $X^2=5.697$   $p=0,017$ ; OR 1.276 %95 CI 1.021-1.593)

E3 Tyr/His ve E4 His/Arg genotipinin dağılım oranını bu kombine genotipi taşımayanlarla kıyaslandığında akciğer kanserli hasta grubunda 11 (%19.6) kontrol grubuna göre 4 (%10) 1.964 kat artmış oranda saptanmıştır.  $X^2=1.646$   $p=0.200$ ; odds ratio 1.964 %95 CI 0.674- 5.727(Tablo 4-14).

**Tablo 4-14: E3 Tyr/His ve E4 His/Arg Genotiplerinin çalışma grubu üzerindeki dağılımı.**

	<b>E3 Tyr/His( +) E4His/Arg(+) genotipi taşımayanlar</b>	<b>E3 Tyr/His (+) E4His/Arg(+) genotipi taşıyanlar</b>	<b>Toplam</b>
<b>Akciğer kanserli hasta N %</b>	45 (%80.4)	11(%19.6)	56 (%100)
<b>Kontrol N %</b>	36(%90)	4 (%10)	40 (%100)
<b>Toplam N %</b>	81 (%84.4)	15 (%15.6)	96 (%100)

Tablodaki değerler örnek sayısı ve yüzde olarak verilmiştir. Gruplar arasındaki farklılık Kikare testi ile gösterilmiştir ( $X^2=1.646$   $p=0.200$ ; OR 1.964 %95 CI 0.674- 5.727).

E3 Tyr/His ve E4 His/His combine genotipinin dağılım oranını bu genotip kombinasyonunu taşımayanlarla kıyasladığımızda akciğer kanserli hasta grubunda (%21.4) kontrol grubuna kıyasla (%15) 1.429 kat artmış bulunmuş olup istatistiksel olarak anlamlı değildir.  $X^2=0.633$   $p=0,426$ ; odds ratio 1.429 %95 CI 0.585- 3.486. (Tablo 4-15)

**Tablo 4-15: E3 Tyr/His (+) ve E4 His/His(+) kombine genotipin çalışma grubu üzerindeki dağılımı**

	<b>E3 Tyr/His (+) E4His/His(+) genotipi taşımayanlar</b>	<b>E3 Tyr/His (+) E4 His/His(+)</b>	<b>Toplam</b>
<b>Akciğer kanserli hasta N %</b>	44 (%78.6)	12(%21.4)	56(%100)
<b>Kontrol N %</b>	34 (%85)	6 (%15)	40 (%100)
<b>Toplam N %</b>	78(%81.3)	18 (%18.8)	96 (%100)

Tablodaki değerler örnek sayısı ve yüzde olarak verilmiştir. Gruplar arasındaki farklılık Kikare testi ile gösterilmiştir.  $X^2=0.633$   $p=0,426$ ; OR 1.429 %95 CI 0.585- 3.486.

Çalışma grubumuzdaki akciğer kanserli hastaların cinsiyete göre genotip dağılımı sonucunda ekzon 3 genotiplerinin dağılımı kadınlarda; % 16,7 Tyr/Tyr, %50 Tyr/His, %33,3 His/His; erkeklerde %12 Tyr/Tyr, %42 Tyr/His, %46 His/His şeklindedir. Ekzon 4 genotiplerinin dağılımı kadınlarda; % 100 His/His, erkeklerde; %48 His/His, %46 His/Arg ve %6 Arg Arg şeklindedir(Tablo 4-16).

**Tablo4-16: Akciğer kanserli hasta grubumuzda cinsiyete göre EPHX Ekzon 3 ve Ekzon 4 genotip dağılımı**

GENOTİP	KADIN	ERKEK
	N %	N %
<b>Ekzon 3</b>		
Tyr113/Tyr	1 (%16,7)	6 (%12)
Tyr113/His	3 (%50)	21 (%42)
His113/His	2 (%33,3)	23 (%46)
<b>Ekzon 4</b>		
His 139/His	6 (%100)	24 (%48)
His139/Arg	0 (%0)	23 (%46)
Arg139/Arg	0 (%0)	3 (%6)
<b>Toplam</b>	<b>6 (%100)</b>	<b>50 (%100)</b>

Çalışma grubumuzdaki kadınları E4His/His genotipi taşımak bakımından erkeklerle kıyasladığımızda bu oran kadınlarda %100 iken erkeklerde %48 bulunmuştur. Kadınlarda oran 2,083 kat artmıştır, istatistiksel olarak anlamlıdır. %95 CI 1,561-2,780. p=0,025(Tablo 4-17).

**Tablo 4-17: Çalışma grubumuzdaki cinsiyetler üzerinde E4 His His genotipinin dağılımı.**

	<b>E4Arg/Arg homozigot + E4 His/Arg</b>	<b>E4 His/His</b>	<b>Toplam</b>
<b>Kadın N %</b>	0 (%0)	6 (%100)	6 (%100)
<b>Erkek N %</b>	26 (%52)	24 (%48)	50 (%100)
<b>Toplam N %</b>	26 (% 46,4)	30 (%53,6)	56 (%100)

Tablodaki değerler örnek sayısı ve yüzde olarak verilmiştir. Gruplar arasındaki farklılık Kikare testi ile gösterilmiştir ( $X^2=5,824$ ,  $p=0,025$ ; OR 2,083 %95 CI 1,561-2,780)

Çalışmamıza dahil edilen akciğer kanserli hastalara ait klinik parametrelere göre EPHX E3 ve E4 genotip analizi sonuçları Tablo 4-18'de verilmiştir.

**Tablo 4-18: Akciğer kanserli hasta grubunun EPHX E3 ve E4 genotip dağılımlarının klinik parametrelere göre değerlendirilmesi.**

	<b>E4His139 homozigot n(%)</b>	<b>E4His139Arg heterozigot n(%)</b>	<b>E4Arg139 homozigot n(%)</b>	<b>EH3Tyr113 homozigot n(%)</b>	<b>TyrHis heterozigot n(%)</b>	<b>HisHis homozigot n(%)</b>
<b>Cinsiyet</b>						
<b>Kadın</b>	6(100)	-	-	1(16.7)	3 (%50)	2(33.3)
<b>Erkek</b>	24(48)	23(46)	3(6)	6(12)	21(42)	23(46)
<b>Geçmişte akciğer hastalığı hikayesi</b>						
<b>Var</b>	1(50)	1(50)	-	1(50)	-	1(50)
<b>Yok</b>	6(37.5)	10 (62.5)	-	-	12(75)	4(25)
<b>Ailede1.derece ca hikayesi</b>						
<b>Var</b>	3 (37.5)	5 (62.5)	-	1 (12,5)	1 (12,5)	6 (75)
<b>Yok</b>	6 (42.9)	8 (57.1)	-	-	11 (78.6)	3 (21.4)
<b>Sigara</b>						
<b>Var</b>	18 (47.4)	19 (50)	1 (2,6)	4 (10,5)	19 (50)	15 (39,5)
<b>Yok</b>	4 (80)	1 (20)	-	1 (20)	2 (40)	2 (40)
<b>Sigara paket/yıl</b>						
<b>50 den fazla</b>	9 (36)	16 (64)	-	2 (8)	14 (56)	9 (36)
<b>50 den az</b>	10(71.4)	3 (21.4)	1 (7.1)	2 (14.3)	5 (35.7)	7 (50)

E3 Tyr/His(+) ve E4 His/His (+) genotipi, kadınlarda (%50) erkeklere göre (%18) , bu kombine genotip dışındaki genotiplere kıyasla 2,778 kat artmış orandadır. %95 CI 1,027-7,514. Ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlılığa ulaşamamıştır. p=0,105.

Çalışma grubumuzdaki kadınları E4His/His genotipi taşımak bakımından erkeklerle kıyasladığımızda bu oran kadınlarda %100 iken erkeklerde %48 bulunmuştur. Kadınlarda oran 2,083 kat artmıştır, istatistiksel olarak anlamlıdır. %95 CI 1,561-2,780. p=0,025.(Tablo 4-19).

**Tablo 4-19: Çalışma grubumuzdaki cinsiyetler üzerinde E4 His His genotipinin dağılımı.**

	<b>E4Arg/Arg homozigot + E4 His/Arg</b>	<b>E4 His/His</b>	<b>Toplam</b>
<b>Kadın N %</b>	0 (%0)	6 (%100)	6(%100)
<b>Erkek N %</b>	26(%52)	24 (%48)	50 (%100)
<b>Toplam N %</b>	26(% 46,4)	30 (%53,6)	56 (%100)

Tablodaki değerler örnek sayısı ve yüzde olarak verilmiştir. Gruplar arasındaki farklılık Kikare testi ile gösterilmiştir ( $X^2=5,824$ , p=0.025; OR 2,083 %95 CI 1,561-2,780).

Çalışma grubumuzdaki akciğer kanserli hastalarda tümör histolojik alt tiplerine göre genotip dağılımında , tümör alt tiplerini skuamöz hücreli ve skuamöz hücre dışı şeklinde sınıflandırdık.Buna göre genotip dağılımı tabloda verilmiştir. EPHX E3 ve E4 genotiplerinin akciğer kanserli hastalarda tümör tipleri üzerindeki dağılımında istatistiksel olarak anlamlı ve dikkat çekici bir bulguya ulaşamamıştır. (Tablo 4-20 ).

**Tablo 4-20:** Akciğer kanserli hastalarda skuamöz hücreli ve skuamöz hücre dışı tumor tiplerinde EPHX Ekzon 3 ve ekzon 4 genotip dağılımları

	<b>Skuamöz Hücreli N %</b>	<b>Skuamöz Hücre dışı N %</b>
<b>E3 Tyr/ Tyr</b>	2(%7,4)	2 (%12,5)
<b>E3 Tyr/His</b>	14(%51,9)	7 (%43,7)
<b>E3 His/His</b>	11(%40,7)	7 (%43,7)
<b>Toplam</b>	27(%100)	16 (%100)
<b>E4 His/His</b>	12(%44,4)	10 (%62,5)
<b>E4 His/Arg</b>	14 (%51,9)	6(%37,5)
<b>E4 Arg/Arg</b>	1 (%3,7)	0(%0)
<b>Toplam</b>	27 (%100)	16( %100)

Çalışma grubumuzdaki akciğer kanserli hastaların E3 genotip dağılımlarını ailede 1. dereceden kanser hikayesi var/yok parametresine göre değerlendirdiğimizde ailesinde 1. dereceden kanser hikayesi olan hastaların %75'inin His/His, %12,5'inin Tyr/His ve %12,5'inin Tyr/Tyr genotipi taşıdığını, ailesinde 1. dereceden kanser hikayesi olmayan hastaların ise %78,6'sının Tyr/His ve %21,4'ünün His/His genotipine sahipti ve arada istatistiksel olarak fark bulunmamaktaydı(Tablo 4-21).

**Tablo 4-21: Ailede 1.dereceden kanser hikayesi varlığında hasta grubu içerisindeki ekzon 3 genotip dağılımı.**

	<b>E3 Tyr/Tyr</b>	<b>E3 Tyr/His</b>	<b>E3 His/His</b>	<b>Toplam</b>
<b>Ailede 1. derece var N %</b>	1(%12,5)	1(%12,5)	6 (%75)	8 %100
<b>Ailede 1. derecede yok N %</b>	0(%0)	11(%78,6)	3 (%21,4)	14 %100
<b>Toplam N %</b>	1(%4,5)	12 (%54,5)	9(%40,9)	22 %100

Tablodaki değerler örnek sayısı ve yüzde olarak verilmiştir. Gruplar arasındaki farklılık Kikare testi ile gösterilmiştir ( $X^2=9,396$ )

Akciğer kanserli hasta grubunda E3 genotipi üzerinde Tyr alleli taşımak açısından ailesinde 1. dereceden kanser olan ve olmayan iki grup karşılaştırıldığında, ailesinde 1. dereceden kanser hikayesi olanlar (%75) olmayanlara (%21,4) göre 3,500 kat artmış oranda His/His homozigot genotipi taşımakta olup ( %95 CI 1,189-10,305) ,sonuç istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur (p=0,026) (Tablo 4-22).

**Tablo 4-22: Ailede 1.dereceden kanser hikayesi varlığında hasta grubu içerisinde ekzon 3 Tyr alleli taşıma durumuna göre genotip dağılımı.**

	<b>E3Tyr/Tyr homozigot + E3 Tyr/His</b>	<b>E3His/His homozigot</b>	<b>Toplam</b>
<b>Ailede 1. derece var N %</b>	2(%25)	6 (%75)	8 (%100)
<b>Ailede 1. derecede yok N %</b>	11(%78,6)	3 (%21,4)	14 (%100)
<b>Toplam N %</b>	13( %59,1)	9 (%40,9)	22 (%100)

Tablodaki değerler örnek sayısı ve yüzde olarak verilmiştir. Gruplar arasındaki farklılık Kikare testi ile gösterilmiştir ( $X^2=6,044$  , p=0,026, OR 3.5, %95 CI 1,189-10,305)

E3 Tyr113/His ve E4 His139/His kombine genotipi taşımanın oranı ailesinde 1. derecede kanser hastası olan akciğer kanserli hasta grubunda 1,400 kat azalmıştır. ( $X^2=2,794$ ; %CI 1.005-1.950). Ancak istatistiksel olarak anlamlı değildir(p=0,254).

E3 Tyr/His (+) E4 His/Arg (+ ) genotip kombinasyonunun ailesinde 1. dereceden kanser olan ve olmayan akciğer kanserli hasta grubundaki dağılımına baktığımızda,bu kombine genotipi taşımayan bireylerin, ailesinde 1. dereceden kanser vakası olan grupta (%87,5) ailesinde 1.dereceden kanser olmayanlara (%50) göre 1,750 kat artmış oranda bulunduğu belirlenmiştir. Ancak istatistiksel olarak anlamlı değildir.p=0,167. %95 CI 0,974-3,143(Tablo 4-23).

**Tablo 4-23: Ailede 1.dereceden kanser hikayesi varlığında hasta grubu içerisinde E3 Tyr/His (+) E4 His/Arg (+) genotip kombinasyonunun dağılımı.**

	<b>E3 Tyr/His(+) E4His/Arg(+) dışı taşıyanlar</b>	<b>E3Tyr/His(+) E4His/Arg(+) genotipi taşıyanlar</b>	<b>Toplam</b>
<b>Ailede 1. derece var N %</b>	7 (%87,5)	1 (%12,5)	8(%100)
<b>Ailede 1. derecede yok N %</b>	7(%50)	7 (%50,0)	14 (%100)
<b>Toplam N %</b>	14 (% 63,6)	8 (%36,4)	22 (%100)

Tablodaki değerler örnek sayısı ve yüzde olarak verilmiştir. Gruplar arasındaki farklılık Kikare testi ile gösterilmiştir. ( $X^2=3,094$  ,  $p=0,167$ . OR 1,750 %95 CI 0,974-3,143.

Çalışma grubumuzdaki akciğer kanserli hastaların genotip dağılımını değerlendirdiğimiz klinik parametrelerden bir diğeri sigara içme alışkanlığıdır.

Sigara içen akciğer kanserli hastalarda sigara içmeyenlere oranla E4 genotipinde en az bir Arg alleli taşıma ( His/Arg veya Arg/Arg) oranı 2,051 kat artmış bulunmuştur. %95 CI 0,366-11,510) Ancak istatistiksel olarak bu sonuç anlamlı değildir.  $p=0,607$  (Tablo 4-24).

**Tablo 4-24: E4 genotipinde Arg alleli taşıma durumunun akciğer kanserli hastalarda sigara içme durumuna göre dağılımı**

	<b>E4 His/Arg+ E4 Arg/Arg</b>	<b>E4 His/His</b>	<b>Toplam</b>
<b>Sigara var N % Geçmiş/bugün</b>	20 (%51,3)	19 (%48,7)	39(%100)
<b>Sigara yok N % Hiç</b>	1( % 25)	3 (% 75)	4 (%100)
<b>Toplam N %</b>	21(% 48,8)	22 (% 51,2)	43(%100)

Tablodaki değerler örnek sayısı ve yüzde olarak verilmiştir. Gruplar arasındaki farklılık Kikare testi ile gösterilmiştir ( $X^2=1,003$  ,  $p=0,607$ , OR 2,051 %95 CI 0,366-11,510).

Akciğer kanserli hasta grubu içerisinde sigara içen hastalar E3 genotipinde en az bir His alleli taşıma yönünden değerlendirildiğinde, sigara içenlerde Tyr/His veya His/His alleli

taşıma oranı sigara içmeyenlere göre Tyr/Tyr homozigot genotipine kıyasla 1,197 kat artmış bulunmuştur. %95 CI 0,673-2,128) Ancak sonuç istatistiksel anlamlılığa ulaşamamıştır.p=0,402(Tablo 4-25).

**Tablo 4-25: E3 genotipinde His alleli taşıma durumunun akciğer kanserli hastalarda sigara içme durumuna göre dağılımı**

	E3 Tyr/His+ E3 His/His	E3 Tyr/Tyr	Toplam
<b>Sigara var N %</b>			
<b>Geçmiş/bugün</b>	35 (%89,7)	4 (%10,3)	39 (%100)
<b>Sigara yok N %</b>			
<b>Hiç</b>	3 (%75)	1 (%25 )	4 (%100)
<b>Toplam N %</b>	38 (% 88,4)	5(%11,6)	43 (%100)

Tablodaki değerler örnek sayısı ve yüzde olarak verilmiştir. Gruplar arasındaki farklılık Kikare testi ile gösterilmiştir ( $X^2=0,767$  , p=0,402

OR 1,197 %95 CI 0,673-2,128).

Akciğer kanserli hasta grubu içerisinde sigara içen hastalar E3 genotipinde His homozigot genotip taşıma yönünden değerlendirildiğinde, sigara içenlerde His113/His genotipi taşıma oranı sigara içmeyenlere göre Tyr alleini taşıyanlara kıyasla 1,641 kat artmış bulunmuştur. %95 CI 0,288-9.336) Ancak sonuç istatistiksel anlamlılığa ulaşamamıştır.p=0,999 (Tablo 4-26).

**Tablo 4-26: E3 genotipinde His alleli taşıma durumunun akciğer kanserli hastalarda sigara içme durumuna göre dağılımı**

	<b>E3 Tyr/His+ E3 His/Tyr</b>	<b>E3 His/His</b>	<b>Toplam</b>
<b>Sigara var N % Geçmiş/bugün</b>	23(%59)	16 (%41)	39 (%100)
<b>Sigara yok N % Hiç</b>	3 (%75)	1 (%25 )	4 (%100)
<b>Toplam N %</b>	26 (% 60.5)	17(%39.5)	43 (%100)

Tablodaki değerler örnek sayısı ve yüzde olarak verilmiştir. Gruplar arasındaki farklılık Kikare testi ile gösterilmiştir ( $X^2=0,390$  ,  $p=0,999$ . OR 1,641 %95 CI 0,288-9.336).

E3 Tyr/His(+) E4 His/Arg (+) düşünüldüğünde, bu genotipin sigara içen akciğer kanseri hastalarındaki oranı %71,8 iken sigara içmeyen akciğer kanserli hastalardaki oranı %100 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara göre yine sigara içenlerde içmeyenlere göre bu genotipi taşımak bakımından artmış bir orandan söz edemezken sonuçları da istatistiksel olarak anlamlı bulamadık.  $p=0,558$  CI 0,590-0,874(Tablo 4-27).

**Tablo 4-27: E3 Tyr/His (+) E4 His/Arg (+) genotip kombinasyonunun sigara içme durumuna göre akciğer kanserli hasta grubundaki dağılımı.**

	<b>E3Tyr/His(+) E4 His/Arg (+) genotipi taşıyanlar</b>	<b>E3 Tyr/His(+) E4 His/Arg (+) dışı genotipi taşıyanlar</b>	<b>Toplam</b>
<b>Sigara var N % Geçmiş/bugün</b>	28 (%71,8)	11(% 28,2)	39(%100)
<b>Sigara yok N % Hiç</b>	4 (%100)	0 (%0 )	4(%100)
<b>Toplam N %</b>	32 (%74,4)	11 (%25,6)	43(%100)

Tablodaki değerler örnek sayısı ve yüzde olarak verilmiştir. Gruplar arasındaki farklılık Kikare testi ile gösterilmiştir ( $X^2=1,516$  ,  $p=0,558$  OR 0,718 %95 CI 0,590-0,874).

E3 His/His genotip dağılımının sigara içen akciğer kanseri hastalarındaki oranı (%41) sigara içmeyen hastalara (%25) oranla 1,641 kat artmıştır. %95 CI 0,288-9,336 ancak istatistiksel anlamlılık yakalanamamıştır.  $p=1$ .

E3 Tyr/His (+) ve E4 His/His (+) genotip kombinasyonunun akciğer kanserli hasta grubunda sigara içenler ve içmeyenler arasındaki dağılımına bakıldığında, bu genotipin dağılım oranları sigara içenlerde %20,5 iken sigara içmeyenlerde %50 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara bakılarak sigara içenlerde bu genotipi taşıma oranında artmış bir risk söz konusu değildi (Tablo 4-28).

**Tablo 4-28: E3 Tyr/His (+) ve E4 His/His (+) genotip kombinasyonunun akciğer kanserli hasta grubunda sigara içenler ve içmeyenler arasındaki dağılımı**

	E3Tyr/His(+) E4His/His(+) dışı genotipi taşıyanlar	E3Tyr/His(+) E4His/His(+) genotipi taşıyanlar	Toplam
<b>Sigara var N %</b> <b>Geçmiş/bugün</b>	31(%79,5)	8 (%20,5)	39 (%100)
<b>Sigara yok N %</b> <b>Hiç</b>	2 (%50)	2 (%50)	4% (100)
<b>Toplam N %</b>	33 (%76,7)	10 (%23,3)	43%(100)

Tablodaki değerler örnek sayısı ve yüzde olarak verilmiştir. Gruplar arasındaki farklılık Kikare testi ile gösterilmiştir ( $X^2=1,767$ ,  $p=0,226$ , OR 1,590 %95 CI 0,589-4,291).

E4 Arg/Arg genotipinin sigara içen akciğerli hasta grubundaki oranı %2,6 iken sigara içmeyen hasta grubunda %0 bulunmuştur ve istatistiksel olarak anlamlı değildir.  $p=1$ . Çalışmamıza katılan akciğer kanserli hasta grubunu sigara pkt/yıl sayılarına göre sigara pkt.yıl  $>50$  ve sigara pkt.yıl  $< 50$  şeklinde iki gruba ayırarak bunların üzerinde genotip dağılımını araştırdık(Tablo 4-29).

**Tablo 4-29: Akciğer kanserli hastalarda Sigara pkt.yıl $>50$  ve  $<50$  durumuna göre genotip dağılımı**

GENOTİP	Sigara pkt.yıl $>50$	Sigara pkt.yıl $<50$
	N %	N %
<b>Ekzon 3</b>		
Tyr113/Tyr	2 (%14,3)	3 (%10,3)
Tyr113/His	5 (%35,7)	16 (%55,2)
His113/His	7 (%50)	10 (%34,5)
<b>Ekzon 4</b>		
His 139/His	10 (%71,4)	12 (%41,4)
His139/Arg	3 (%21,4)	17 (%58,6)
Arg139/Arg	1 (%7,1)	0 (%0)
<b>Toplam</b>	14 (%100)	29 (%100)

Bu sınıflandırmaya göre anlamlılığa yakın sonuca ulaştığımız tek veri E4 His/His genotipinin dağılımı açısından saptanmıştır. Buna göre, yılda 50 paketten fazla sigara içen akciğer kanserli hastalarda E4 His/His genotipini taşıma oranı yılda 50 paketten az içen hastalara göre diğer E4 genotiplerine kıyasla 1,726 kat artmış oranda bulundu. İstatistiksel olarak anlamlılığa yakın bulundu.  $p=0,065$ .  $X^2=3,412$ . %95 CI 1,001-2,978(Tablo 4-30).

**Tablo 4-30: E4 His/His genotipinin sigara içenlerde ve içmeyenlerde dağılımı**

	<b>E4Arg139+His/Arg heterozigot</b>	<b>E4 His/His (+)</b>	<b>Toplam</b>
<b>Sigara var N %</b>	4 (%28.6)	10 (%71.4)	14
<b>Geçmiş/bugün</b>			(%100)
<b>Sigara yok N %</b>	17 (% 58.6)	12 (% 41.4)	29(%)
<b>Hiç</b>			100)
<b>Toplam N %</b>	21 (%48.8)	22(% 51.2)	43(%100)

Tablodaki değerler örnek sayısı ve yüzde olarak verilmiştir. Gruplar arasındaki farklılık Kikare testi ile gösterilmiştir ( $X^2=3,412$  ,  $p=0,065$  OR 1,726 %95 CI 1,001-2,978)

Akciğer kanserli hasta grubundan yılda 50 paketten fazla sigara içen hastalarda, E3 Tyr113/Tyr ve E4His139/His genotip kombinasyonunu taşıyan bireyler, taşımayanlara göre , 1,381 kat daha yüksek orandaydı ( $p=0,706$ .  $X^2=0,143$ ,Odds ratio:1.381 %95 CI 0,260-7,348. (Tablo 4-31).

**Tablo 4-31: Sigara pkt.yıl>50 ve <50 durumuna göre E3Tyr/Tyr veE4 His/His kombine genotip dağılımı**

	<b>E3Tyr/Tyr ve E4His/His genotipi taşımayanlar</b>	<b>E3Tyr/Tyr ve E4His/His genotipi taşıyanlar</b>	<b>Toplam</b>
<b>Sigara &gt;50 pkt/yıl N %</b>	12 (%85.7)	2 (%14.3)	14 (%100)
<b>Sigara &lt; 50 pkt/yıl N %</b>	26 (% 89.7)	3 (% 10.3)	29 (%100)
<b>Toplam N %</b>	38 (%88.4)	5 (% 11.6)	43 (%100)

Tablodaki değerler örnek sayısı ve yüzde olarak verilmiştir. Gruplar arasındaki farklılık Kikare testi ile gösterilmiştir ( $X^2=0,143$  ,  $p=0,706$  OR 1,381 %95 CI 0,260-7,348.

Sadece E3 üzerinde His113/His homozigot genotipini taşımak bakımından akciğer kanserli hastalarda bir değerlendirme yaptığımızda, yılda 50 paketten fazla sigara içen hastalarda bu genotipi taşıma oranı yılda 50 paketten az içen hastalara göre 1.450 kat artmıştır (p=0,329 , ods ratio 1,450, %95 CI 0,702-2,995) (Tablo 4-32)

**Tablo 4-32: Sigara pkt.yıl>50 ve <50 durumuna göre E3 His/His genotip dağılımı**

	<b>E3 His/His olmamak</b>	<b>sadece E3 His/His</b>	<b>Toplam</b>
<b>Sigara &gt;50 pkt.yıl N %</b>	7 (%50)	7 (%50)	14 (%100)
<b>Sigara &lt; 50 pkt.yıl N %</b>	19(% 65.5)	10 (%35.5)	29(% 100)
<b>Toplam N %</b>	26 (%60.5)	17( %39.5)	43 (%100)

Tablodaki değerler örnek sayısı ve yüzde olarak verilmiştir. Gruplar arasındaki farklılık Kikare testi ile gösterilmiştir ( $X^2=0,951$  , p=0,329 OR 1,450 %95 CI 0,702-2,995).

Çalışma grubumuzdaki akciğer kanserli hastaları tümör tipine göre skuamöz ve skuamöz dışı olarak sınıflandırmıştık.Yılda 50 paketten fazla sigara içen hastalarda skuamöz hücreli tümör oranı % 75, skuamöz dışı tümörlere göre %53,8 yüksek oranda görülmektedir.Skuamöz hücreli tümör tipi görülen akciğer kanserli hastaların %96,2'si geçmişte/bugün sigara içen, yalnızca %3,8'i ise hiç sigara içmemiş hastalardır.Skuamöz dışı tümör tipi görülen hastalarda bu oranlar sırası ile %73,3 ve %26,7'dir.

## 5. TARTIŞMA

Akciğer kanseri dünya genelindeki kanserden ölüm nedenleri arasında birinci sıradadır(6). Erkeklerde ikinci, kadınlarda ise üçüncü sırada sıklıkla görülen bir tümördür. 1996 yılında 177.000 yeni vaka, 159.000 ölüm tespit edilmiştir. Yeni kanser vakalarının %15'ini, tüm kanser ölümlerinin %18'ini oluşturmaktadır(85). Ülkemize ait istatistiksel veriler çok sağlıklı olmamakla birlikte, yılda 30.000-40.000 arasında akciğer kanserine bağlı ölüm olduğu tahmin edilmektedir(7,47). Sigara, akciğer kanserinin %90'ından sorumludur, ancak her sigara içen kişide akciğer kanseri gelişmemektedir(15). Sigara içenlerin %10-20'sinde akciğer kanseri gelişimi gözlenmektedir(41). Karsinogenleri aktif metabolitlerine dönüştüren enzimler ile, bunları detoksifiye eden enzimlerde meydana gelen genetik polimorfizmlerin bireylerin karsinogenlere duyarlılığını etkilediği düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda, bu enzimlerdeki polimorfizmlerin akciğer kanseri riskini çeşitli oranlarda değiştirdiği saptanmıştır(9,15,95). Akciğerler de dahil olmak üzere pek çok organda eksprese edilen mikrozomal epoksid hidrolaz enzimi vücuda çeşitli yollarla alınan toksik ve karsinogenik bileşiklerin metabolizmasında rol oynayan faz I biyotransformasyon enzimidir(76,92). EPHX, zenobiyotiklerin, karsinogenlerin, epoksidlerin ve endojen steroidlerin metabolizmasında, lipid peroksidasyonu da dahil olmak üzere çeşitli oksidatif hasarların tamirinde görev almaktadır, bu yönden düşünüldüğünde geniş bir substrat spesifitesine sahiptir(76). PAH'lar da dahil olmak üzere tütün kaynaklı karsinogenlerin EPHX aktivitesini indüklediği bilinmektedir(23, 69). EPHX, arenlerin, alkenlerin ve alifatik epoksidlerin daha az reaktif ve suda daha kolay çözünebilen formlara dönüşümünü katalizleyen dört ayrı epoksid hidrolazdan bir tanesidir(33, 63, 76,77). Bu hidroliz olayı genel anlamda bir detoksifikasyon reaksiyonu gibi görünmekle birlikte bazı metabolik ürünler giren ürünlerden çok daha toksik ve karsinogenik olabilirler.

Bu nedenle mikrozomal EPHX, sitokrom P450 enzimleri ile koordineli bir şekilde çalışarak(26)prokarsinogenlerin hem detoksifikasyonunda ve hem de aktivasyonunda rol oynadığı düşünülebilir. Buna göre karsinogenezdeki rolü ise karşılaştığı substrata bağlı olarak değişmektedir(92). EPHX biyoaktivasyon mekanizması dahilinde PAH'lar gibi moleküllerin sitokrom P450 aracılı reaksiyonlarla çok daha reaktif ve mutajen diol

epoksidlerine dönüşümünü katalizlerken, detoksifikasyon mekanizmasında ise epoksid türevi bileşiklerin suda daha kolay çözünebilen ve daha az reaktif dihidrodiollere hidrolizini gerçekleştirir. İnsan genomunda EPHX geni, kromozom 1q42.1 bölgesinde lokalizedir(17, 33, 57). EPHX proteini yaklaşık olarak 49kDa büyüklüğündedir(96). EPHX proteini ve nükleik asit dizisi yüksek derecede korunmuştur(48) ve sıçan mikrozomal epoksid hidrolaz geni ile %82 homoloji gösteren 455 nükleotidden oluşmuştur(44). Gen bölgesi 8 adet intron ile ayrılmış 9 adet ekzon içermektedir(35). EPHX geni üzerinde bulunan polimorfizmlerden üzerinde en fazla durulan iki polimorfizm, ekzon3 bölgesindeki Tyr113/His mutasyonu ve ekzon4 bölgesindeki His139/Arg mutasyonudur. Bu polimorfizmlerin enzim aktivitesini önemli oranda etkilediği, ekzon3 polimorfizminin enzim aktivitesini %40-50 oranında düşürürken ekzon4 polimorfizminin ise aktiviteyi %25 oranında arttırdığı düşünülmektedir(5, 24, 31, 33).

Çeşitli çalışmalarda ekzon3 ve ekzon4 üzerindeki EPHX genotiplerine bağlı olarak enzim aktivitesi, düşük, normal ve yüksek enzim aktivitesi şeklinde sınıflandırılmıştır(5, 57, 68, 102). Biz de çalışmamızda bu iki polimorfizmi esas aldık ve farklı genotipik varyantların enzim aktiviteleri ve detoksifikasyon/biyoaktivasyon metabolizması üzerine etkilerinden yola çıkarak akciğer kanseri riski üzerindeki muhtemel etkisini araştırdık.

EPHX üzerindeki polimorfizmlerin farklı hastalık türlerine yatkınlıkta artmış risk faktörü olduğu düşünülen pek çok çalışma yapılmıştır. Los Angeles'ta %96'sı sigara içen 182 hasta ile yapılan bir çalışmada ve İngiltere'de sigara içen 50 hasta ile yapılan bir çalışmada EPHX genotipi ile akciğer kanseri riski arasında önemli bir ilişkiye rastlanmamıştır.

EPHX geninin ekzon 4 His139/Arg polimorfizminin genotipik varyantlarının çalışma grupları üzerindeki dağılımı her çalışmada birbirinden farklılık sergilemektedir. Buna göre, Wu ve ark(95) Meksikalı-Amerikalı ve Afrikalı-Amerikalılardan oluşan bir populasyonda Meksikalı-Amerikalı 56 akciğer kanseri hastası ve 73 kontrolden oluşan birinci çalışma grubunda, E4 Arg139/Arg genotipini akciğer kanserli hastalarda tam 5,00 kat daha fazla saptamıştır. Afrikalı-Amerikalı 75 akciğer kanseri hastası ve 71 kontrolden oluşan ikinci çalışma grubunda ise yine E4 Arg139/Arg genotipini akciğer kanserli hastalarda 6.6 kat artmış oranda bulmuşlardır. Salazar ve çalışma ark(9) benzer bir şekilde akciğer kanseri üzerine beyaz ırkta 110 hasta ve 119 kontrol üzerinde

yaptıkları bir çalışmada yine E4 Arg139/Arg genotipini kontrol grubuna göre 6,26 kat artmış bulmuşlardır. Zhao ve ark(102) Amerikalı beyaz ırktan 166 akciğer kanseri hastası ve 157 kontrol üzerinde yaptıkları çalışmada ise Arg139/Arg genotipi akciğer kanserli hasta grubunda 1,86 kat artmış oranda bulunurken benzer şekilde Avusturya'da Gsur ve ark(25) 277 akciğer kanseri hastası ve 496 kontrol ile yaptıkları bir çalışmada Arg139/Arg oranı 1,83 kat artmış olarak belirlenmiştir. Akciğer kanseri dışında, Baxter ve ark (4) İngiltere'de 291 over kanserli hasta ve 257 kontrol ile yaptıkları çalışmada, ekzon 4 allellerinin ne kontrol grubunda  $p=0.99$  ne de over kanserli hasta grubundaki dağılımlarında istatistiksel açıdan anlamlılığa ulaşan farklı bir dağılım saptamamışlardır( $p=0,41$ ). Yüksek enzim aktivitesine neden olan E4 Arg139/Arg genotipinin over kanserli hastalar ile kontrol grubuna göre anlamlı bir fark görülmemiştir. Biz de benzer şekilde E4 Arg139/Arg genotipinin çalışma grubumuzdaki dağılımında akciğer kanserli hastalarda kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı farklı bir dağılım olmadığını gözlemledik. Bunun bir nedeni de çalışma grubumuzdaki Arg139/Arg genotipinin frekansının çok düşük olması olabilir. Lin ve ark(56). Tayvan'da 145 özafagus kanserli hasta ve 352 kontrol üzerinde yürüttükleri bir çalışmada da bizim çalışma grubumuzda olduğu gibi Arg139/Arg genotipinin frekansı oldukça düşük bulunmuştur. Baxter ve ark(4) İngiltere'de 291 over kanserli hasta ve 257 kontrol ile yaptıkları çalışmada, ekzon4 allellerinin dağılımında anlamlılığı yakalayamamışlardır. Bir başka çalışmada ise, %26'sı sigara içen 76 hastada ekzon4 heterozigot His139/Arg genotiplerinin artmış akciğer kanseri riski ile ilişkili olduğu bulunmuştur(66).

Bulgularımızda, E4Arg139/Arg genotipinin çalışma grubumuzdaki dağılımında akciğer kanserli hastalarda kontrol grubuna kıyasla 1,023 kat düşük bir oran belirledik. Ancak E4 genotiplerinin akciğer kanserli hasta ve kontrol grubu üzerindeki dağılımında anlamlı bir fark yakalayamadık. Yukarıda görüldüğü üzere bu genotip çeşitli çalışmalarda farklı etnik gruplar üzerinde çok farklı dağılım göstermektedir(50,65). Dolayısıyla bu genotipin dağılım oranındaki varyasyonun etnik farklılıklardan kaynaklandığı düşünülebilir.

EPHX geninin ekzon 3 üzerindeki Tyr113/His polimorfik genotipin varyantlarının çeşitli çalışmalardaki dağılımı oldukça farklılık sergilemektedir. Yin ve ark(99) Çin popülasyonunda 84 akciğer kanserli hasta ve 84 kontrol üzerinde yürüttükleri

çalışmada, E3 His113/His genotipinin akciğer kanserli hastalardaki oranı kontrol grubuna göre 1,71 kat artmış orandadır. Yine akciğer kanseri üzerine İsveç'te Persson ve ark(66) 74 hasta ve 122 kontrol üzerinde yaptıkları bir çalışmada, E3 His113/His genotipi akciğer kanserli hastalarda 1,76 kat oranında artmıştır. Smith ve ark(82) İngiltere'de 50 akciğer kanserli hasta ve 203 kontrol üzerinde yürüttükleri çalışmada da benzer şekilde His113/His genotipi akciğer kanserli hasta grubunda 1.6 kat oranında artmıştır. Baxter ve ark(4), over kanserli hastalarda ekzon3 genotipinin hem kontrol ve hem de hasta grubundaki dağılımında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yakalamışlardır(sırası ile  $p=0,007$  ve  $p=0,01$ ). Benzer şekilde bizim çalışma grubumuzdaki ekzon 3 genotiplerinden E3 His/His genotipinin dağılımı da anlamlı bir düzeyde farklı bulunmuştur (risk katsayısı (OR)= 2,551  $p=0,005$ ).

Tayvan'da Lin ve ark(56)145 özafagus kanserli hasta ve 352 kontrol üzerinde yürüttükleri bir çalışmada, sigara içen hastalarda kontrollere kıyasla, E3 Tyr113/Tyr genotipinde 3,52 kat, heterozigot Tyr113/His genotipinde 5,26 kat artmış risk bulunmuştur. His113/His genotipli hasta grubunda ise sigara içimi özafagus kanseri için önemli bir risk faktörü değilken aksine sigara içenlerde özafagus kanserine karşı koruyucu bir etki yaratmaktadır. Aynı çalışma grubunda sigara içen hastalarda kontrollere kıyasla E3Tyr113/Tyr genotipinin oranı 1,00 kat artmıştır. Bizim bulgularımızda sigara içenlerde içmeyenlere oranla Tyr113/Tyr genotipinin dağılımında önemli bir artış saptanmamıştır. Ancak çalışmamızda sigara pkt.yıl miktarı >50 olan hasta grubunda, yılda 50 paketten az sigara içen hasta grubuna göre E3His113 His genotipi oranı 1,45 kat artmıştır. Birkaç çalışmada da düşük enzim aktivitesine ait olduğu düşünülen E3His113 His genotipinin, metabolizasyon hızını yavaşlatarak ROS türevleri gibi karsinojenlerin oluşum hızını düşürdüğünden daha az düzeyde DNA ve serum albumin adduktları oluşturduğu ve daha az oranda üriner mutajeniteye yol açtığı ve çok fazla sigara içenlerde akciğer kanseri riskini düşürdüğü düşünülmektedir(50,65). Biz çalışma grubumuzdaki akciğer kanserli hastalarda His113/His genotipinin yaklaşık 3 kat artmış oranda risk taşıdığını belirledik (2,551 kat  $p=0,002$ ). Sigara içenlerde E3 His113/His genotipi taşıma oranı ise içmeyenlere göre 1,641 kat artmıştır.

Çalışma grubumuzda E4 His/His genotipini değerlendirdiğimizde, akciğer kanserli olup toplam 50 pkt.yıl'dan daha fazla sigara içen hastalarda, bu genotipin oranının 1,726 kat

artmış olduğunu belirledik ( $p=0,065$ ). Zhou ve ark(103) beyaz ırktan 974 akciğer kanseri hastası ve 1142 kontrol ile yaptıkları çalışmalarında, akciğer kanserli hasta grubunda sigara pkt.yıl miktarı arttıkça, çok düşük enzim aktivitesi taşıdığını düşündükleri E3 His113/His+ E4 His139/His+ kombine genotipinin frekansının azaldığını, kontrol grubunda ise aksine sigara miktarı arttıkça bu genotipin frekansının diğer genotiplere oranla arttığını belirlemişlerdir. Zhou ve ark.'nın çalışmalarında akciğer kanserli hastalarda pkt.yıl miktarı=0 iken, risk oranı 1,89(%95 Güvenilirlik aralığı, 1,08-3,28), sigarayı toplam 80 ve daha fazla pkt.yıl içenlerde risk katsayısı, 0,65 (%95 Güvenilirlik aralığı, 0,42-1,00) bulunmuştur(103). Bu bulgudan yola çıkarak Zhou ve ark(103) bu genotipin çok fazla sigara içenlerde akciğer kanserine karşı koruyucu bir faktör olabileceği hipotezini öne sürmüşlerdir. Ancak EPHX genotipleri ile akciğer kanseri riski arasında bir ilişki belirleyememişlerdir. Biz bulgularımızı irdeler iken böyle bir genotip kombinasyonunu araştırmadık. Ancak farklı bir genotip kombinasyonunun, düşük aktiviteli olduğu düşünülen E3 Tyr/Tyr ve E4 His/His kombine genotipinin dağılımının akciğer kanserli hastalarda kontrol grubuna kıyasla dikkat çekici şekilde 1.276 kat artmış oranda olduğunu belirledik ( $p=0,01$ , %95 Güvenilirlik aralığı 1,021- 1,593).

Zhou ve ark(103) çalışmasındaki dikkat çekici bir başka bulgu ise sigara içim miktarının EPHX genotiplerinin dağılımı üzerine etkisinin sadece skuamöz hücreli hasta grubunda istatistiksel olarak önemli bulunurken adenokarsinomlu hastalarda istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir farkın saptanmış olmasıdır( $p=0,18$ ). Bizim çalışmamızda da, dikkat çekici bir şekilde, sigara içenlerde skuamöz hücre karsinom, skuamöz dışı olarak sınıflandırılan diğer gruba kıyasla sigara içmeyenlere göre daha yüksek oranda bulunmuştur (katsayı 1,311,  $p=0,031$ ). EPHX'ın, adenokarsinomdan çok skuamöz hücreli karsinom oluşumu ile ilişkili olduğu düşünülen karsinojenlerin metabolizasyonunda rol oynadığı hipotezi bu bulguyu bir şekilde açıklayabilir.

Akciğer kanseri ile EPHX ilişkisi üzerine bir Çin popülasyonunda yapılan bir çalışmada EPHX polimorfik genotipleri, skuamöz hücreli akciğer kanseri ile ilişkili bulunmuştur. Tayvan'da %57'si sigara içen 132 hasta ile yapılan bir çalışmada yüksek aktiviteli EPHX genotipinin skuamöz hücreli akciğer kanseri açısından yüksek risk taşıdığı belirlenmiştir(56). Akciğer kanserinin farklı histolojik alt tiplerinin EPHX polimorfizmleri ile farklı ilişkiler sergiledikleri düşünülebilir.

Sonuç olarak, bulgularımızda E4 genotipi taşımak bakımından akciğer kanserli hasta ve kontrol grupları arasında önemli bir farklılık saptayamazken, E3 His113/His genotipinin, akciğer kanserli hastalarda kontrol grubuna kıyasla oranının 2.551 kat artmış olduğunu, sigara içen akciğer kanseri hastalarında bu genotipin oranının içmeyenlere göre 1.641 kat artmış olduğunu, yılda 50 paketten fazla sigara içen akciğer kanserli hastalarda His113His homozigot genotipinin oranının 1,450 kat oranında arttığını gösterdik. Ailesinde 1.dereceden kanser hikayesi olan akciğer kanserli hastalarda ise E3 His113/His genotipinin oranının dikkat çekici biçimde 3,500 kat arttığını bulgularımız arasında saptadık.

EPHX ekzon3 ve ekzon4 polimorfizmleri ile ilgili yapılan çalışmalarda farklı populasyonlarda farklı bulguların bulunmasında, ırklara bağlı farklılıklar ve dolayısı ile farklı onkogen ve anti-onkogenlerin polimorfik dağılımları etkin olabileceği gibi, farklı toplumlardaki farklı sigara içme oranları da rol oynuyor olabilir. Ülkemizdeki gibi yüksek sigara içiminin görüldüğü populasyonlarda, EPHX'in detoksifikasyon işlevinin karsinogenezde daha önce düşünülmesi gerektiği ortaya atılabilir. Bu konunun daha iyi aydınlanabilmesi için, çok farklı sigara içme alışkanlıklarına sahip farklı populasyonların katıldığı geniş çalışmalara gerek bulunmaktadır.

Biz bu çalışmamızda, temel parametre olarak sigara kullanımını başlıca risk faktörü olarak belirledik. Sigara kullanımı dışında allellerin dağılımındaki etnik farklılıklar, diet alışkanlıkları, ve de posttranskripsiyonel faktörler gibi diğer faktörler de göz önünde bulundurularak bir çalışma yapıldığında ortaya daha ileri yönde bir hipotez konulabilir.**(88)**

Kanser etyogenezinin tek bir risk faktörü ile açıklanamayacak kadar kompleks bir yapıya sahip olmasından dolayı EPHX polimorfizmleri de akciğer kanseri riskini etkileyen tek faktör olarak düşünülmemelidir. Karsinogenezin oluşumundaki çok basamaklı süreçte farklı metabolik genlerin veya diğer genlerin EPHX ile etkileşimi ve çevresel faktörler göz önünde bulundurularak yukarıda çeşitli çalışmalarda elde edilen bulgular ve bizim bulgularımız risk faktörü olabileceği düşünülen ancak bu konuda kesinlik arz etmeyen bulgular olarak değerlendirilmelidir.

## KAYNAKLAR

1. Akbulut H, Akbulut KG. Karsinogenez In: Içli F, ed. Tıbbi Onkoloji . Ankara, ANTIP Afi Tıp Kitapları ve Bilimsel Yayınlar 1997:23-38
2. Ames B.N. Ames. Dietary carcinogens and anticarcinogens. Oxygen radicals and degenerative diseases, Science 221 1983; 1256–1264.
3. Bartsch H, Hietanen E. The role of individual susceptibility in cancer burden related to environmental exposure. Environ Health Perspect 1996;104(suppl 3):569-77.
4. Baxter SW, Choong DY, Campbell I.G. Microsomal epoxide hydrolase polymorphism and susceptibility to ovarian cancer. Cancer Lett. 2002; 17775-81
5. Benhamou S, Reinikainen M, Bouchardy C, Dayer P, Hirvonen A. Association between lung cancer and microsomal epoxide hydrolase genotypes. Cancer Res 1998;58:5291–3.
6. Bethesda MD: National Institutes of Health; 2001. National Cancer Institute. SEER Cancer Statistics Review, 1973–1998.
7. Bilgel N. Türkiye’de Sigara içme Yaygınlığı. In: Özyardımcı N, ed. Sigara ve Sağlık. 1. Baskı. Bursa, 2002;59-73
8. Bouchardy C, Benhamou S, Dayer P. The effect of tobacco on lung cancer risk depends on CYP2D6 activity. Cancer Res 1996; 56:251
9. Cajas-Salazar N, Au WW, Zwischenberger JB, Sierra-Torres CH, Salama SA, Alparid SK, et al. Effect of epoxide hydrolase polymorphisms on chromosome aberrations and risk for lung cancer. Cancer Genet Cytogenet 2003;145:97—102.

10. Chao A, Thun MJ, Jacobs EJ, et al. Cigarette smoking and colorectal cancer mortality in the cancer prevention study II. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 1888–96.
11. Cho E, Smith-Warner SA, Ritz J, van den Brandt PA, Colditz GA, Folsom AR, Freudenheim JL, Giovannucci E, Goldbohm RA, Graham S, Holmberg L, Kim DH, Malila N, Miller AB, Pietinen P, Rohan TE, Sellers TA, Speizer FE, Willett WC, Wolk A, Hunter DJ. Alcohol intake and colorectal cancer: a pooled analysis of 8 cohort studies. *Ann Intern Med* 2004 Apr 20; 140(8):603-13
12. Cortessis V., Siegmund K. Chen Q., Zhou N., Diep A., Frankl H., Lee E. Zhu Q.S., Haile R., Levy D. A case-control study of microsomal epoxide hydrolase, smoking, meat consumption, glutathione S-transferase M3, and risk of colorectal adenomas. *Cancer Res.* 61 2001; 2381–2385.
13. D J de Jong, van der Logt E M J, Schaik A van , Roelofs H M J, Peters W H M and T H Ne haber J. Genetic polymorphisms in biotransformation enzymes in Crohn's disease: association with microsomal epoxide hydrolase. *Gut* 2003; 52; 547-551.
14. Doll R. Cancers weakly related to smoking. *BMJ* 1996; 52:35–49.
15. Eisen T. The biology of lung cancer. In: Spiro S.G, ed. *Lung Cancer: European Respiratory Monograph* 17. London, 2001;61-70
16. *Electronic Journal of Biotechnology* 2003; ISSN: 0717-3458 vol 6 no 3, Issue of December 15.
17. Elise M.J. van der L. , Saskia M. B. , Hennie M.J. Roelofs ,Ren´e H.M. te Morsche , Yvo van D. , Theo W. , Fokko M. N., Wilbert H.M. P. Role of epoxide hydrolase, NAD(P)H:quinone oxidoreductase, cytochrome P450 2E1 or alcohol dehydrogenase genotypes in susceptibility to colorectal cancer. *Mutation Research* 593 2006; 39–49.

18. Fandrich F., Degiuli B., Vogel Bindel U., Arand M., Oesch F.. Induction of rat liver microsomal epoxide hydrolase by its endogenous substrate 16 alpha, 17 alpha-epoxyestra-1,3,5-trien-3-ol. *Xenobiotica (Lond.)* 25 1995; 239-244.
19. Field JK. Selection and validation of new lung cancer markers for the molecular-pathological assessment of individuals with a high risk of developing lung cancer. In: Brambilla C, Brambilla E, eds. *Lung tumors fundamental biology and clinical management*. New York, Marcel Dekker Inc.1999; 287-302
20. Fong KM, Minna JD. Molecular biology of lung cancer: clinical implication. *Clinics In Chest Medicine* 2002;23:83-101.
21. Fretland A.J. , Omiecinski C.J. Epoxide hydrolases: biochemistry and molecular biology, *Chem. Biol. Interact.* 129 2000; 41–59.
22. Gaedigk A, Spielberg SP, Grant DM. Characterization of the microsomal epoxide hydrolase gene in patients with anticonvulsant adverse drug reactions. *Pharmacogenetics* 1994; 4:142–53.
23. Gielen, J. E., Goujon, F., Sele, J., and Van Canfort, J. Organ specificity of induction of activating and inactivating enzymes by cigarette smoke and cigarette smoke condensate. *Arch. Toxicol.*,2 (Suppl.): 1979; 239s–251s.
24. Gren V. J., Pirmohamed M., Kitteringham N. R. Gaedigk A., Grant D. M.,Boxer M., Burchell B., Park B. K. Genetic analysis of microsomal epoxide hydrolase in patients with carbamazepine hypersensitivity. *Biochem. Pharmacol.* 50 1995; 1353-1359.
25. Gsur A, Zidek T, Schnattinger K, Feik E, Haidinger G, Hollaus P, et al. Association of microsomal epoxide hydrolase polymorphisms and lung cancer risk. *Br J Cancer* 2003;89:702—6.

26. Guengerich, F.P., Davidson, N.K. Interaction between epoxide hydrolase with itself and other microsomal proteins. *Arch. Biochem. Biophys.* 215, 1982; 462–477
27. Guengerich FP, Johnson WW, Ueng YF, Yamazaki H, Shimada T. Involvement of cytochrome P450, glutathione S-transferase, and epoxide hydrolase in the metabolism of aflatoxin B1 and relevance to risk of human liver cancer. *Environ Health Perspect* 1996;104 (suppl 3) :557-62.
28. Guenther T.M., Cai D., Wallin R .. Co-purification of microsomal epoxide hydrolase with the warfarin –sensitive vitamin K1 oxide reductase of the vitamin K cycle. *Biochem. Pharmacol.* 55 1998;169-175
29. Habalova V., Salagovic J., Kalina I., Stubna J. Combined analysis of polymorphisms in glutathione S-transferase M1 and microsomal epoxide hydrolase in lung cancer patients. *Neoplasma*, 2004; 51, 5.
30. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100: 57-70.
31. Harrison. D.J , Hubbard A.L., Mac Millan J., Wyllie A.H. Smith C.A. Microsomal epoxide hydrolase gene polymorphism and susceptibility to colon cancer, *Br. J. Cancer* 79 1999; 168–171.
32. Hartsfield JK Jr, Sutcliffe MJ, Everett ET, et al. Assignment of microsomal epoxide hydrolase (EPHX1) to human chromosome 1q42.1 by in situ hybridization. *Cytogenet Cell Genet.* 1998; 83:44-45.
33. Hassett C, Aicher L, Sidhu JS, Omiecinski CJ. Human microsomal epoxide hydrolase: genetic polymorphism and functional expression in vitro of amino acid variants. *Hum Mol Genet* 1994; 3: 421-428.

34. Hassett C, Lin J, Carty CL, Laurenzana EM, Omiecinski CJ. Human hepatic microsomal epoxide hydrolase: comparative analysis of polymorphic expression. *Arch Biochem Biophys* 1997;337:275–83
35. Hassett, C.; Robinson, K. B.; Beck, N. B.; Omiecinski, C. J. : The human microsomal epoxide hydrolase gene (EPHX1): complete nucleotide sequence and structural characterization. *Genomics* 1994; 23:433-442.
36. Hastürk S, Yüksel M . Akciğer Kanseri, İstanbul 2000.
37. Heasley LE, Johnson GL. Signal transduction abnormalities in lung cancer. In: Kane MA, Bunn PA, eds. *Biology of lung cancer*. New York, Marcel Dekker Inc. 1998;371-390
38. Hecht SS. Tobacco smoke carcinogens and lung cancer. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91: 1194–210
39. Hecht S.S., Cigarette smoking and lung cancer: chemical mechanisms and approaches to prevention, *Lancet Oncol.* 3 2002; 461–469
40. Heckbert, S. R., Weiss, N. S., Hornung, S. K., Eaton, D. L., and Motulsky A. G. Glutathione *S*-transferase and epoxide hydrolase activity in human leukocytes in relation to risk of lung cancer and other smoking-related cancers. *J. Natl. Cancer Inst.* (Bethesda), 84: 1992; 414–422.
41. Hirvonen A. Genetic factors in individual responses to environmental exposures. *J Occup Environ Med* 1995;37:37–43.
42. Hoffmann D, Hoffmann I, El Bayoumy K. The less harmful cigarette: a controversial issue. A tribute to Ernst L Wynder. *Chem Res Toxicol* 2001; 14: 767–90.

43. International Agency for Research on Cancer. Tobacco smoking. IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, vol 38. Lyon: IARC, 1986: 127–35.
44. Jackson, M. R.; Craft, J. A.; Burchell, B. : Nucleotide and deduced amino acid sequence of human liver microsomal epoxide hydrolase. *Nucleic Acids Res.* 15: 1987; 7188 only.
45. Jacobson DR. Ras mutations in lung cancer. In: Brambilla C, Brambilla E, eds. Lung tumors fundamental biology and clinical management. New York, Marcel Dekker Inc.1999; 139-156
46. Jourenkova-Mironova, N., Mitrunen K., Bouchardy C., Dayer P., Benhamou S., and Hirnoven A. High activity microsomal epoxide hydrolase genotypes and the risk of oral, pharynx, and larynx cancers. *Cancer Res.* 60, 2000; 534-536.
47. Kanser bildirimlerinin değerlendirilmesi 1993-1994. Sağlık Bakanlığı Kanser Savaş Daire Başkanlığı. Yayın no: 582. 1997; Ankara.
48. Kitteringham, N. R., Davis, C., Howard, N., Pirmohamed, M., and Park, B. K. Interindividual and interspecies variation in hepatic microsomal epoxide hydrolase activity: studies with cis-stilbene oxide, carbamazepine 10,11-epoxide and naphthalene. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 278: 1996; 1018–1027.
49. Köktürk N, Erel Kırıçoğlu C., ÖZTÜRK C. Akciğer Kanseri Moleküler Biyolojisi Solunum 2003; Vol: 5 Sayı: 3 Sayfa: 127-138
50. Kuljukka-Rabb T., Nylund L., Vaaranrinta R., Savela K., Mutanen P., Veidebaum T., Sorsa M., Rannug A., Peltonen K. The effect of relevant genotypes on PAH exposure-related biomarkers, *J. Expo. Anal. Environ. Epidemiol.* 12 2002; 81–91.

- 51.** Lancaster JM, Brownlee HA, Bell DA, Futreal PA, Marks JR, Berchuck A, Wiseman RW, Taylor JA. Microsomal epoxide hydrolase polymorphism as a risk factor for ovarian cancer. *Mol Carcinog* 1996;17:160-2.
- 52.** Laurenzana FM, Hassett C, Omiecinski CJ. Postranscriptional regulation of human microsomal epoxide hydrolase. *Pharmacogenetics* 1998; 8: 157-167
- 53.** Lecture GFF. Molecular mechanisms of lung cancer. Interaction of environmental and genetic factors. *Chest* 1996;109 (Suppl): 14S-19S.
- 54.** Lee WJ, Brennan P, Boffetta P, London SJ, Benhamou S et al. Microsomal epoxide polymorphisms and lung cancer risk: a quantitative review. *Biomarkers* 2002, 7: 230-241.
- 55.** Legrand M, Stücker I, Marez D et al. Influence of a mutation reducing the catalytic activity of the cytochrome P450 CYP2D6 on lung cancer susceptibility. *Carcinogenesis* 1996; 17:2267.
- 56.** Lin, P., Wang, S. L., Wang, H. J., Chen, K. W., Lee, H. S., Tsai, K. J., Chen, C. Y., and Lee, H. Association of CYP1A1 and microsomal epoxide hydrolase polymorphisms with lung squamous cell carcinoma. *Br. J. Cancer*, 2000; 82: 852–857.
- 57.** London SJ, Smart J, Daly AK. Lung cancer risk in relation to genetic polymorphisms of microsomal epoxide hydrolase among African- Americans and Caucasians in Los Angeles County. *Lung Cancer* 2000;28:147–55.
- 58.** McGlynn, K.A., Rosvold, E.A., Lustbader, E.D., Hu, Y., Clapper, M.L., Zhou, T., Wild, C.P., Xia, X.-L., Baffoe- Bonnie, A., Ofori-Adjei, D., Chen, G.-C., London, W.T., Shen, F.-M., Buetow H. Susceptibility to hepatocellular carcinoma is associated with genetic variation in the enzymatic detoxification of aflatoxin B1. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92, 1995; 2384–2387.

- 59.** Miller S.A., Dykes D.D., Polesky H.F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988; 16:1215.
- 60.** Minna JD. The molecular biology of lung cancer pathogenesis. *Chest* 1993;103:445S-456S
- 61.** Newton A.C.S. Wong , Frances Rae , Andrew Bathgate , Christopher A.D. Smith , David J. Harrison Polymorphisms of the gene for microsomal epoxide hydrolase and susceptibility to alcoholic liver disease and hepatocellular carcinoma in a Caucasian population. *Toxicology Letters* 115 2000; 17–22.
- 62.** Omiecinski CJ, Aicher L, Holubkov R, Checkoway H. Human peripheral lymphocytes as indicators of microsomal epoxide hydrolase activity in liver and lung. *Pharmacogenetics* 1993;3:150–8.
- 63.** Omiecinski, C. J., Aicher, L., and Swenson, L. Developmental expression of human microsomal epoxide hydrolase. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 269: 417–423, 1994.
- 64.** Omiecinski CJ, Hassett C, Hosagrahara V. Epoxide hydrolase polymorphism and role in toxicology. *Toxicol Lett* 2000;112-113:365–70.
- 65.** Pastorelli R. , Guanci M., Cerri A., Negri E. , La C., Fumagalli F., Mezzetti M., Cappelli R., Panigalli T, Fanelli R., Airoidi L. Impact of inherited polymorphisms in glutathione S-transferase M1, microsomal epoxide hydrolase, cytochrome P450 enzymes on DNA, and blood protein adducts of benzo(a) pyrene- diolepoxide, *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 7 1998; 703–709.
- 66.** Persson, I., Johansson, I., Lou, Y. C., Yue, Q. Y., Duan, L. S., Bertilsson, L., and Ingelman-Sundberg, M. Genetic polymorphism of xenobiotic metabolizing enzymes among Chinese lung cancer patients. *Int. J. Cancer*, 1999 ; 81: 325–329.

67. Peter G., Jolanta G., Wojciech W. Polymorphism of selected enzymes involved in detoxification and biotransformation in relation to lung cancer. *Lung Cancer* 2007; 57, 1—25
68. Petra L M Zusterzeel, Wilbert H M Peters, Willy Visser, Kristel J M Hermsen, Hennie M J Roelofs, Eric A P Steegers. A polymorphism in the gene for microsomal epoxide hydrolase is associated with pre-eclampsia. *J Med Genet* 234 2001;38:234–237
69. Petruzzelli, S., Camus, A. M., Carrozzi, L., Ghelarducci, L., Rindi, M., Menconi, G., Angeletti, C. A., Ahotupa, M., Hietanen, E., Aitio, A., Saracci, R., Bartsch, H., and Giuntini, C. Long-lasting effects of tobacco smoking on pulmonary drug- metabolizing enzymes: a case-control study on lung cancer patients. *Cancer Res.*, 48: 4695–4700, 1988.
70. Pfeifer G.P., Denissenko M.F., Olivier M., Tretyakova N., Hecht S.S., Hainaut P. Tobacco smoke carcinogens, DNA damage and p53 mutations in smoking-associated cancers, *Oncogene* 21 2002; 7435–7451.
71. Pryor WA. Cigarette smoke damage to DNA and other biomolecules.in Pass HI, Mitchell JB, Johnson DH, Turrisi AT, Minna JD (eds).Lung cancer principles and practice.Philadelphia, Lippincott Williams&Wilkins 2<sup>nd</sup> Ed. 2000; 82.
72. Raaka S, Hassett C, Omiecinski CJ. Human microsomal epoxide hydrolase: 5'-flanking region genetic polymorphisms. *Carcinogenesis* 1998; 19: 387-393.
73. Sachse C., Smith G., Wilkie M.J., Barrett J.H., Waxman R.,Sullivan F., Forman D., Bishop D.T., Wolf C.R. A pharmacogenetic study to investigate the role of dietary carcinogens in the etiology of colorectal cancer, *Carcinogenesis* 23 2002; 1839–1849.

74. Salama S.A., Sierra-Torres C.H., Oh H.Y., Hamada F.A., Au W.W. Variant metabolizing gene alleles determine the genotoxicity of benzo[a]pyrene, *Environ. Mol. Mutagen.* 37 2001; 17–26.
75. Salama SA, Sierra-Torres CH, Oh H, Hama FA, Au WW. A multiplex-PCR/RFLP procedure for simultaneous CYP2E1, mEH and GSTM1 genotyping. *Cancer Lett* 1999;143:51-6.
76. Seidegard J, DePierre JW. Microsomal epoxide hydrolase. Properties, regulation and function. *Biochim Biophys Acta* 1983;695:251–70.
77. Seidegard, J., and Ekstrom, G. The role of human glutathione transferases and epoxide hydrolases in the metabolism of xenobiotic. *Environ. Health Perspect.*,105 (Suppl.) 1997; 791s–799s.
78. Sekido Y, Fong KM, Gadzar AF, Minna JD. Biology of lung cancer in Murray JF, Nadel JA, Mason RJ, Boushey HA (eds). *Textbook of Respiratory Medicine* WB Saunders Company, Philadelphia 2000; 1375.
79. Sellers, F.E. Speizer, W.C. Willett, A. Wolk, D.J. Hunter, Alcohol intake and colorectal cancer: a pooled analysis of eight cohort studies, *Ann. Int. Med.* 140 2004; 603–613.
80. Sierra-Torres, C.H., Au W.W., Arrastia C.D., Cajas-Salazar N., Robazetti S.C., Payne D.A., Tying S.K. Polymorphisms for chemical metabolizing genes and risk for cervical neoplasia, *Environ. Mol. Mutagen.* 41 2003; 69–76.
81. Skoda, R. C.; Demierre, A.; McBride, O. W.; Gonzalez, F. J.; Meyer, U. A. : Human microsomal xenobiotic epoxide hydrolase: complementary DNA sequence, complementary DNA-directed expression in COS-1 cells, and chromosomal localization. *J. Biol. Chem.* 263: 1988;1549-1554.

- 82.** Smith, C.A.D., Harrison, D.J. Association between polymorphisms in gene for microsomal epoxide hydrolase and susceptibility to emphysema. *Lancet* 350, 1997; 630–633.
- 83.** T.C. Sağlık Bakanlığı Kanser Kayıt Merkezi  
Thun MJ, Lally CA, Flannery JT et al. Health, cigarette smoking and changes in the histopathology of lung cancer. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89:1580
- 84.** Tiemersma E.W., . Bunschoten A., Kok F.J., Glatt H., Boer S.Y. deKampman E. Effect of SULT1A1 and NAT2 genetic polymorphism on the association between cigarette smoking and colorectal adenomas, *Int. J. Cancer* 108 2004; 97–103.
- 85.** Topuz E., Aydiner A. İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Yayınları: 06 Klinik Onkoloji, Akciğer Kanseri .
- 86.** To-Figueras J, Gene M, Gomez-Catalan J, Pique E, Borrego N, Corbella J. Lung cancer susceptibility in relation to combined polymorphisms of microsomal epoxide hydrolase and glutathione S-transferase P1. *Cancer Lett* 2001;173:155—62.
- 87.** To-Figueras J, Gene M, Gomez-Catalan J, Pique E, BorregoN, Caballero M, et al. Microsomal epoxide hydrolase and glutathione S-transferase polymorphisms in relation to laryngeal carcinoma risk. *Cancer Lett* 2002;187:95—101.
- 88.** Tsai YY, McGlynn KA, Hu Y, Cassidy AB, Arnold J et al. Genetic susceptibility and dietary patterns in lung cancer. *Lung Cancer* 2003; 41: 269-281.
- 89.** Wang P, Meijer J, Guengerich FP. Purification of human liver cytosolic epoxide hydrolase and comparison to the microsomal enzyme. *Biochemistry* 1982;21:5769–76.
- 90.** Wang X, Wang M, Niu T, Chen C, Xu X. Microsomal epoxide hydrolase polymorphism and risk of spontaneous abortion. *Epidemiology* 1998;9:540-4

- 91.** Wei Q, Spitz MR. The role of DNA repair capacity in susceptibility to lung cancer: A review. *Cancer and Metastasis Reviews* 1997;16:295-307
- 92.** Wei Z, Sally W. T., Geoffrey L., Li Lian X., David P.M., John C. W., Thomas J. L., Li Su, and David C. C.. The Interaction between Microsomal Epoxide Hydrolase Polymorphisms and Cumulative Cigarette Smoking in Different Histological Subtypes of Lung Cancer. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* May 2001; Vol. 10, 461–466.
- 93.** World Cancer Research Fund, American Institute for Cancer Research. Food, nutrition and the prevention of cancer: a global perspective. Washington, DC: American Institute for Cancer Research 1997; 37 145
- 94.** Wormhoudt L. W., Commandeur J. N., Vermeulen N. P. Genetic polymorphisms of human N-asetiltransferase, cytochrome P450, glutathione S-transferase, and epoxide hydrolase enzymes: relevance to xenobiotic metabolism and toxicity, *Crit. Rev. Toxicol.* 29 1999; 59-124
- 95.** Wu X, Gwyn K, Amos CI, Maken N, Hong WK, Spitz MR. The association of microsomal epoxide hydrolase polymorphisms and lung cancer risk in African-Americans and Mexican-Americans. *Carcinogenesis* 2001; vol 22 no 6 923-928.
- 96.** Vinayak P. Hosagraha, Allan E. Rettie, Christopher Hassett, Curtis J. Omiecinski. Functional analysis of human microsomal epoxide hydrolase genetic variants. *Chemico-Biological Interactions* 150 2004; 149-159.
- 97.** Von Dippe P., Amoui M., Stellwagen R. H., Levy D.. The functional expression of sodium-dependent bile acid transport in Madin-Darby canine kidney cells transfected with the c DNA for microsomal epoxide hydrolase. *J. Biol. Chem.* 271 1996; 18176-18180.
- 98.** Vogelstein B., Kinzler K.W. The Genetic Basis of Human Cancer. Chapter 41, Lung Cancer Mack Marby, Barry D. Nelkin, Stephen B. Baylin.

- 99.** Yin L., Pu L., Liu TY. Genetic polymorphisms of NAD(P)H quinone oxidoreductase, CYP1A1 and microsomal epoxide hydrolase and lung cancer risk in Nanjing, China. *Lung Cancer*.2001; 33:133-141.
- 100.** Ying-Chu L., Deng-Chyang W., Jang-Ming L., Hon-Ki H.,Ein-Long K., Chien-Hui Y., Ming-Tsang W. The association between microsomal epoxide hydrolase genotypes and esophageal squamous-cell-carcinoma in Taiwan: Interaction between areca chewing and smoking. *Cancer Letters* 237 2006; 281–288.
- 101.** Yoshikawa M, Hiyama K, Ishioka S, Maeda H, Maeda A,Yamakido M. Microsomal epoxide hydrolase genotypes and chronic obstructive pulmonary disease in Japanese. *Int J Mol Med* 2000;5:49—53.
- 102.** Zhao H, Spitz MR, Gwyn KM,Wu X. Microsomal epoxide hydrolase polymorphisms and lung cancer risk in non-Hispanic whites. *Mol Carcinog* 2002;33:99–104.
- 103.** Zhou W., Thurston S.W., Liu G., Xu L.L., Miller D.P., Wain J.C., Lynch T.J., Su L., Christiani D.C. The interaction between microsomal epoxide hydrolase polymorphisms and cumulative cigarette smoking in different histological subtypes of lung cancer, *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 10 2001; 461–466.
- 104.** Zhu, Q.; Xing, W.; Qian, B.; von Dippe, P.; Shneider, B. L.; Fox, V. L.; Levy, D. : Inhibition of human m-epoxide hydrolase gene expression in a case of hypercholanemia. *Biochim. Biophys. Acta* 2003; 1638: 208-216.
- 105.** [http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/GC\\_EPHX1.html](http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/GC_EPHX1.html).Erişim tarihi :12.12.07
- 106.** <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP>.Erişim tarihi 06.12.07
- 107.** <http://herkules oulu.fi/isbn9514270398/html/x203.html>. Erişim tarihi 12.12.07

**EK-7 Çalışmanın niteliğine göre hazırlanacak hasta takip formu örneği-1**  
**AKCİĞER TÜMÖRÜ ARAŞTIRMA FORMU**

Form No:	Protokol No :	Tarih :
Adı-Soyadı :		
Yaş :	Cinsiyet :	Boy / Kilo :
Meslek :	(petrokimya, tekstil, boya ve kimya sanayi vb.) mesleklili olma/olmama	
Kan Grubu:		
Memleket:	Yaşadığı yer:	

**Öyküsü:**

**Yakınmanın başlangıç zamanı:**

**Öz geçmişi:**

Sigara tüketimi (süre, miktar)	var( )	yok( )
İlaç kullanımı	var( )	yok( )
Transfüzyon	var( )	yok( )
Karsinojene maruz kalma	var( )	yok( )

İskemik kalp hastalığı	( )	Diabetes Mellitus	( )
Kronik Böbrek Yetersizliği	( )	Malign hastalık	( )
Steroid kullanımı	( )	Kemoterapi	( )
Kronik Karaciğer Hastalığı	( )	Radyoterapi	( )
Diğer			

Meyve tüketimi	az(≤100g/gun)	orta(100-200 g)	bol(≥ 200g)
Sebze tüketimi	az	orta	bol

**Öz geçmişinde akciğer ile ilgili yakınma / hastalık:**

KOAH:	var( )	yok( )
Tüberküloz:	var( )	yok( )
Diğer akciğer problemi:	var( )	yok( )

**Soy geçmişi:**

Herhangi bir kanser türü :	var( )	yok( )
Akciğer kanseri :	var( )	yok( )
Diabetes Mellitus:	var( )	yok( )
Kronik Akciğer Hastalığı :	var( )	yok( )

**Ameliyat öncesi Kan Biyokimyası:**

Glukoz	BUN	Prot	Alb
ALT	AST	ALP	GGT
LDH	T Kolest	Trig	
LDL	HDL	Ca	P
Hb	Htc	Löko	Tromb

**Ameliyat öncesi tanı :**

**Yapılan Ameliyat :**

**Tümörün diferansiasyonu ( İyi / orta / kötü )**

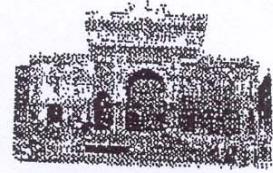
**Metastaz durumu ( adet, boyut)**

**Lenf Nodu metastazı ( yerleşim, adet, boyut)**

**Tümörün Evresi:**



T.C.  
**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ**  
**İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ**  
**DEKANLIĞI**  
 Yerel Etik Kurulu



Sayı : 764

Tarih : 26/04/2006

konu : Doç.Dr.İlhan YAYLIM

Sayın, Doç.Dr.İlhan YAYLIM  
 Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü  
 Moleküler Tıp Anabilim Dalı  
 İlgilendiği : 24.03.2006 tarih, 10502 sayılı yazı.

Sorumlu Araştırmacılığını üstlendiği, Yüksek Lisans Öğrencisi E.Zetal ERKİŞİ'nin yürüteceği 2006502 dosya no.lu "Akciğer Kanseri Hastalarda Epoxide hidrolaz His139/Arg ve Tyr113/His Gen Polimorfizmlerinin İncelenmesi" başlıklı tez çalışması Kurulumuzun 12.04.2006 tarihli toplantısında onaylanmış olup, tutanakları ilişikte sunulmuştur.

Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

Prof.Dr. Zafer ARI  
 İstanbul Tıp Fakültesi  
 Etik Kurul Başkanı

Eki: Tutanak

**İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ**  
**YEREL ETİK KURUL TUTANAĞI**

Toplantı Tarihi : 12/04/2006  
Toplantı Yeri : Behçet Kütüphanesi Pembe Salon  
Toplantı Sayısı : 04

Sorumlu Araştıncılığını Üniversitemiz Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Öğretim Üyesi Doç.Dr.İlhan YAYLIM ERALTAN'ın üstlendiği, Yüksek Lisans Öğrencisi E.Zelal ERKİŞİ'nin yürüteceği 2006502 dosya no.lu "Akciğer Kanseri Hastalarda Epoxide hidrolaz His139/Arg ve Tyr113/His Gen Polimorfizmlerinin İncelenmesi" başlıklı tez çalışması Kurulumuzda incelendi etik yönden bir sakınca taşımadığı görüldü, uygulamaya konulabileceğine karar verildi.

**Prof.Dr. Zafer ARI**  
Etik Kurul Başkanı ( Dekan Yardımcısı)

**Prof.Dr. Aykan CANBERK**  
Farmakoloji ve Kli.F. A.D

**Prof.Dr. Ahmet GÜL**  
İç Hastalıklar, Ramotoloji Bilim Dalı

**Prof.Dr. Berrin UMMAN**  
Kardiyoloji Anabilim Dalı

**Prof.Dr. Cahide GÖKKUŞU**  
Biokimya Anabilim Dalı

**Prof.Dr. Kamil PEMBEÇİ**  
Anesteziyoloji A.D.

**Prof.Dr. Mübeccel DEMİRKOL**  
Çocuk Sağ. ve Hast. A.D

**Prof.Dr. Nuran YILDIRIM**  
Deontoloji ve Tıp Tarihi A.D

**Prof.Dr. Oğuzhan ÇOBAN**  
Nöroloji Anabilim Dalı

**Prof.Dr. Pınar SAİP**  
İ.Ü.Onkoloji Enstitüsü

**Prof.Dr. Selim BADUR**  
Mikrobiyoloji ve Kli.Mik

**Prof.Dr. Ümit TÜRKÖĞLU**  
Biokimya Anabilim Dalı

**Prof.Dr. Veli UYSAL**  
Patoloji AD.

**Prof.Dr. Yeşim ERBİL**  
Genel Cerrahi AD.

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

<b>Adı</b>	EMEL ZELAL	<b>Soyadı</b>	ERKİŞİ
<b>Doğ.Yeri</b>	GAZİANTEP	<b>Doğ.Tar.</b>	25.03.1982
<b>Uyruğu</b>	T.C.	<b>TC Kim No</b>	63472086590
<b>Email</b>	zelalerkisi@gmail.com	<b>Tel</b>	05358509060

### Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
<b>Doktora</b>		
<b>Yük.Lis.</b>	İST. TIP FAK. SAĞ. BİL. ENST. MOLEKÜLER TIP	2008
<b>Lisans</b>	T.C.HALİÇ ÜNİVERSİTESİ FEN FAK. MOL. BIY.	2004
<b>Lise</b>	G.ANTEP VEHBİ DİNÇERLER FEN LİSESİ	2000

### İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Araştırma Görevlisi	T.C. Haliç Üniversitesi Fen Fak.	-2006.-...
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜD S Puanı	(Diğer) Puanı
<b>İngilizce</b>	Çok İyi	İyi	İyi	83,7	

\*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
<b>LES Puanı</b>	75,846	78,272	81,266
<b>(Diğer) Puanı</b>			