

AYÇİN ERDENAY

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İSTANBUL-2015

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

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**METİYONİN SENTAZ (MTR) VE METİYONİN SENTAZ
REDÜKTAZ (MTRR) GEN POLİMORFİZMLERİ VE
AKCİĞER KANSERİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN TÜRK
TOPLUMUNDA BELİRLENMESİ**

AYÇİN ERDENAY

**DANIŞMAN
DOÇ. DR. PINAR AKSOY SAĞIRLI**

**BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
BİYOKİMYA PROGRAMI**

İSTANBUL-2015

TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programında Ayçin ERDENAY tarafından hazırlanan "Metiyonin Sentaz (MTR) ve Metiyonin Sentaz Redüktaz (MTRR) Gen Polimorfizmleri ve Akciğer Kanseri Arasındaki İlişkinin Türk Toplumunda Belirlenmesi" başlıklı Yüksek Lisans tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

13 / 07 / 2015

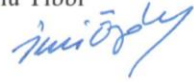
Tez Sınav Jürisi

Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı) _____ İmzası

1.Prof.Dr. Ayşe CAN (İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biokimya Anabilim Dalı)



2.Prof.Dr. İnci ÖZDEN (Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Biokimya Anabilim Dalı)



3.Doç.Dr. Pınar AKSOY SAĞIRLI (İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biokimya Anabilim Dalı)



4.

5.

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 haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Ayçin Erdenay



İTHAF

Aileme ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın konusunu belirleyen, tez çalışmalarım süresince ve tezimin yazılışında yardımını esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, beni her zaman teşvik eden ve destekleyen saygıdeğer danışman hocam Doç. Dr. Pınar Aksoy Sağırlı'ya,

Çalışmalarım sırasında destek ve yardımları için Sayın Prof. Dr. Ayşe Can'a, Sayın Prof. Dr. Nuriye Akev'e, Sayın Doç. Dr. Nurten Özsoy'a, deneysel çalışmalarına katkıları olan, fikirlerini ve tecrübelerini benden esirgemeyen, Yrd. Doç. Dr. Özlem Kurt Şirin'e ve her zaman yardımlarını gördüğüm Yrd. Doç. Dr. Tuğba Yılmaz Özden'e,

Akciğer kanserli hasta örneklerini toplanmasında yardımlarını esirgemeyen ve bu çalışmaya izin veren İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitü Müdürü Prof. Dr. Ahmet Kızır'e ve Baş Hekimi Sayın Prof. Dr. Esra Kaytan Sağlam'a,

Materyal toplama çalışmalarında yardımcı olan, bilgi ve görüşlerini sunan İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü saygıdeğer doktorlarına ve arşiv çalışmalarında yardım ve ilgilerini eksik etmeyen değerli arşiv çalışanlarına,

Yüksek Lisans Eğitimim boyunca birlikte olduğum, bana her zaman moral veren, sevgili arkadaşım Biol. Gülsüm Altıparmak'a, önerileri ve yardımcı fikirleri ile bana destek olan, Uzman Biol. Gözde Hasbal'a ve ayrıca Anabilim Dalı sekreterimiz Ali Kemal Demir'e,

Lisans öğrenimim boyunca yol arkadaşım olan beraber girdiğimiz bu yolda desteğini ve yardımlarını esirgemeyen sevgili arkadaşım Uzman Biol. Şule İbişoğlu'na,

Tez çalışmalarım boyunca her zaman destek ve yardımlarını benden esirgemeyen, ilgi ve anlayışları için Kızıltoprak Eğitim Merkezi Müdürü Sayın Adem Aysune'ye ve tüm çalışma arkadaşlarıma,

Bilim alanında yolumu aydınlatan, fikirleriyle, görüşleriyle ve her zaman desteğiyle eğitim hayatıma katkı sağlayan, laboratuvar alanında tecrübeler kazandığım şu an aramızda olmayan manevi babam, sevgili hocam merhum Uzm. Dr. Barlas Dingilyan'a,

Her zaman yanımda olan destek ve yardımlarını benden hiç esirgemeyen ve bu yolda yürümemde bana her türlü olanakları sağlayan, özgüven veren aileme en içten teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 40575

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	Vİİ
TABLolar LİSTESİ.....	X
ŞEKİLLER LİSTESİ	Xİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİİ
ÖZET	XİV
ABSTRACT.....	XV
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Akciğerler	4
2.2. Akciğer Kanseri	5
2.3. Akciğer Kanserin Moleküler Biyolojisi.....	5
2.4. Akciğer Kanseri Tümör Tipleri	6
2.5. Akciğer Kanseri Evreleme	8
2.6. Akciğer Kanseri Epidemiyolojisi.....	11
2.7. Akciğer Kanseri Etiyolojisi	15
2.7.1. Sigara	15
2.7.2. Mesleki ve Çevresel Maruziyetler	16
2.7.3. Yaş, Cinsiyet ve Etnik Farklar	17
2.7.4. Diyet.....	17
2.7.5. Alkol.....	17
2.7.6. Sosyoekonomik Durum.....	18
2.7.7. Akciğer Hastalıkları	18
2.7.8. Genetik Yatkınlık.....	18
2.8. Folat Metabolizması.....	18
2.8.1. Metiyonin Sentaz (MTR), Metiyonin Sentaz Redüktaz Enzimleri (MTRR) ve Gen Polimorfizmleri	21

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	23
3.1. Örneklerin Toplanması	23
3.2. Kullanılan Gereçler	23
3.3. Kullanılan Kimyasal Malzemeler	24
3.3.1. Kimyasal Maddeler	24
3.3.2. Kullanılan Enzimler	24
3.3.3. Kullanılan Primerler	24
3.3.4. Kullanılan Diğer Malzemeler	25
3.4. Kullanılan Çözeltiler	25
3.4.1. DNA İzolasyon Çözeltileri	25
3.4.1.1. Eritrosit Parçalama Tamponu (Red Blood Cell Lysis buffer)	25
3.4.1.2. Disodyum Etilendiamintetraasetat Çözeltisi, EDTA _{Na} ₂ (0.5 M, pH: 8.0) ..	25
3.4.1.3. Sodyum Klorür Çözeltisi, NaCl (4 M)	25
3.4.1.4. Lökosit Parçalama Tamponu (White Blood Cell Lysis Buffer)	25
3.4.1.5. Stok Tris-HCl Tamponu (1 M)	25
3.4.1.6. Tris-EDTA Tamponu, TE	26
3.4.1.7. Amonyum Asetat Çözeltisi (9,5 M)	26
3.4.1.8. Sodyum Dodesil Sülfat Çözeltisi, SDS (% 10)	26
3.4.1.9. Proteinaz K (20 mg/mL)	26
3.4.2. Agaroz Jel Elektrophorezinde Kullanılan Çözeltiler	26
3.4.2.1. Tris-Borik Asit -Etilendiamintetraasetat (TBE) (5X)	26
3.4.2.2. Etidyum Bromür Çözeltisi, EtBr	26
3.5. Yöntemler	27
3.5.1. Periferik Kandan DNA İzolasyonu	27
3.5.1.1. Elde Edilen DNA'nın Konsantrasyon ve Kalitesinin Tayini	27
3.5.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)	28
3.5.2.1. MTR 2756 A>G Genotiplerinin Saptanması	30
3.5.2.2. MTRR 524 C>T Genotiplerinin Saptanması	31
3.5.2.3. MTRR 66 A>G Genotiplerinin Saptanması	32
3.6. İstatistiksel Değerlendirmeler	33
4. BULGULAR	34
5. TARTIŞMA	46
KAYNAKLAR	52

FORMLAR	62
ETİK KURUL KARARI	66
ÖZGEÇMİŞ	71

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: TNM sınıflandırılması.....	9
Tablo 2-2: Küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde TNM tanımlamasına göre.....	10
Tablo 2-3: Küçük hücreli akciğer kanserinde evreleme	11
Tablo 4-1: Kontrol ve hasta grupları içindeki demografik dağılımlar.....	35
Tablo 4-2: <i>MTR</i> ve <i>MTRR</i> genotiplerinin kontrol ve akciğer kanserli hasta gruplarındaki dağılımları.....	36
Tablo 4-3: Allellerin hasta ve kontrol grupları içindeki dağılımları.....	37
Tablo 4-4: Hasta ve kontrol gruplarındaki minör allel frekansları	37
Tablo 4-5: <i>MTR</i> ve <i>MTRR</i> genlerinin hasta ve kontrol gruplarındaki haplotip frekansları	38
Tablo 4-6: <i>MTR</i> ve <i>MTRR</i> genotiplerinin sigara kullanımlarına göre kontrol ve hasta grupları içindeki dağılımı.....	39
Tablo 4-7: Hasta ve kontrol gruplarında <i>MTR</i> ve <i>MTRR</i> genotiplerinin 25 pkyıl'dan az ve çok sigara kullanımlarına göre dağılımları	40
Tablo 4-8: 25 pkyıl'dan az ve çok sigara kullanan bireylerde, <i>MTR</i> ve <i>MTRR</i> genotiplerinin kontrol ve hasta gruplarına göre dağılımları	41
Tablo 4-9: Akciğer kanserinin erken ve ileri evrelerindeki <i>MTR</i> ve <i>MTRR</i> genotip dağılımları.....	42
Tablo 4-10: Sigara kullanımlarına göre erken ve ileri evredeki <i>MTR</i> ve <i>MTRR</i> genotip dağılımları.....	43
Tablo 4-11: <i>MTR</i> ve <i>MTRR</i> genotiplerinin akciğer kanserinin alt tiplerine göre dağılımı	44

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: İnsan akciğerlerinin yapısı.	4
Şekil 2-2: Erkek ve kadınlarda en sık görülen kanserlerin yüzde dağılımları.	11
Şekil 2-3: Kanser sebepli ölümlerin yüzde dağılımları.	12
Şekil 2-4: Tüm yaş grupları içinde erkeklerde en sık görülen ilk 10 kanserin yüzde dağılımları.	13
Şekil 2-5: Tüm yaş grupları içinde kadınlarda en sık görülen ilk 10 kanserin yüzde dağılımları.	13
Şekil 2-6: Akciğer kanseri evrelerinin yüzde dağılımları.	14
Şekil 2-7: Sigara ve akciğer kanseri arasındaki ilişki şeması.	16
Şekil 2-8: Folik asidin moleküler yapısı (pteroil glutamik asit).	18
Şekil 2-9: Homosisteinin ve metiyoninin moleküler yapısı.	19
Şekil 2-10: Folat metabolizması.	19
Şekil 2-11: MTRR ve homosisteinin metiyonine dönüşümü.	21
Şekil 3-1 : PZR uygulamasının şematik gösterimi	29
Şekil 3-2: <i>MTR</i> 2756 A>G genotiplerinin agaroz jel elektroforezinde görüntülenmesi.	30
Şekil 3-3: <i>MTRR</i> 524 C>T genotiplerinin agaroz jel elektroforezinde görüntülenmesi.	31
Şekil 3-4: <i>MTRR</i> 66 A>G genotiplerinin agaroz jel elektroforezinde görüntülenmesi.	32
Şekil 4-1: <i>MTR</i> ve <i>MTRR</i> allellerinin ikili “Linkage Disequilibrium (LD)” plot'ları.	38
Şekil 4-2: <i>MTRR</i> 66 GG genotipinin kontrol ve hasta bireylerdeki yüzde dağılımı.	45

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

Asp	: Aspartik asit
DHF	: Dihidrofolat
DHFR	: Dihidrofolat redüktaz
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DNMT	: DNA metil transferaz
dTMP	: Deoksitimidin
dUMP	: Deoksiüridin
GA	: Güvenlik aralığı
Gly	: Glisin
Ile	: İzolösin
KHAK	: Küçük hücreli akciğer kanseri
KHDAK	: Küçük hücre dışı akciğer kanseri
KSDB	: Kanser Savaş Daire Başkanlığı
Leu	: Lösin
Met	: Metiyonin
MTHFD	: Metilen tetrahidrofolat dehidrojenaz
MTHFR	: Metilen tetrahidrofolat redüktaz
MTHFS	: Metilen tetrahidrofolat sentaz
MTR	: Metiyonin sentaz
MTRR	: Metiyonin sentaz redüktaz
NNK	: 4-metilnitrozamino-1-3-piridil-1-bütanon
PAH	: Polinükleer aromatik hidrokarbon
PZR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
RFLP	: Restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi
RO	: Risk Oranı
SAH	: S-adenosil homosistein
SAM	: S-adenosil metiyonin
SDS	: Sodyumdodesil sülfat

Ser	: Serin
SNP	: Tek nükleotid polimorfizmi
TBE	: Tris borik asid etilendiamintetra asetat
THF	: Tetrahidrofolat
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

ÖZET

Erdenay, A. (2015). Metiyonin Sentaz (MTR) ve Metiyonin Sentaz Redüktaz (MTRR) Gen Polimorfizmleri ve Akciğer Kanseri Arasındaki İlişkinin Türk Toplumunda Belirlenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.

Folat metabolizması DNA sentezi ve DNA metilasyonunda önemli rol oynamaktadır. Folat metabolizmasında yer alan gen polimorfizmleri enzim fonksiyonlarını etkileyerek akciğer karsinogenezi için risk faktörü oluşturmaktadır. Metiyonin sentaz (MTR) ve Metiyonin sentaz redüktaz (MTRR) folat metabolizmasında yer alan iki önemli enzimdir. Bu çalışmada, Türk toplumunda MTR ve MTRR üzerindeki genetik değişiklikler ve akciğer kanserine olası yatkınlık arasındaki ilişki incelenmiştir. Çalışmaya, 193 akciğer kanser teşhisi konulmuş hasta ve 199 kanser olmayan kontrol dahil edildi. DNA, lökositlerden yüksek saflıkta polimeraz zincir reaksiyon (PZR) kalıp hazırlama kiti kullanılarak izole edildi. MTR A2756G (rs1805087), MTRR C524T (rs1532268), and A66G (rs1801394) genotipleri polimeraz zincir reaksiyonu-restriksiyon fragman uzunluk polimorfizmi (PZR-RFUP) kullanılarak belirlendi. Genotip ve haplotip analizleri sırasıyla SPSS 21 ve HaploView 4.2 programları kullanılarak yapıldı. MTRR 66 A>G gen polimorfizmi ile akciğer kanseri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulundu (p: 0,042). Ayrıca, MTRR 66 A>G polimorfizminin sigara içen hasta grubunda sigara içen kontrol grubuna göre daha sıklıkla gözlemlendiği bulundu (p: 0,030). Kontrol ve hasta gruplarında MTR 2756 A>G ve MTRR 524 C>T allel sıklığı benzerlik göstermektedir. Sonuç olarak, bu çalışma, Türk toplumunda MTRR A66G gen polimorfizmlerinin akciğer kanser riski ile ilişkili olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Akciğer kanseri, Metiyonin sentaz, Metiyonin sentaz redüktaz, Polimorfizm, Folat döngüsü.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No:40575.

ABSTRACT

Erdenay, A. (2015). Identification of The Relationship Between Methionine Synthase (MTR) and Methionine Synthase Reductase (MTRR) Gene Polymorphisms and Lung Cancer in the Turkish Population. Istanbul University, Institute of Health Science, Faculty of Pharmacy, Department of Biochemistry. Master of Science Thesis, Istanbul.

Folate metabolism plays a critical role in DNA methylation and DNA synthesis. Situated gene polymorphism in folate metabolism is a risk factor for lung carcinogenesis by affecting the enzyme function. Methionine synthase (MTR) and methionine synthase reductase (MTRR) are critical enzymes for folate cycle. In this study, possible associations between genetic variabilities in MTR, MTRR and susceptibility to lung cancer were investigated in a Turkish population. A case- control study with 193 lung cancer cases and 199 non-cancer controls was conducted. DNA was extracted from leukocytes using high pure polymerase chain reaction (PCR) template preparation kit. The MTR A2756G (rs1805087), MTRR C524T (rs1532268), and A66G (rs1801394) genotypes were determined by using polymorphism chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) assay. The genotype and haplotype analyses of these polymorphisms were performed using SPSS 21 and HaploView 4.2, respectively. Association between MTRR A66G polymorphism and lung cancer (p : 0.042) was found. Besides, this allele was observed more frequently in smoker-patient compared to smoker-control group (p : 0,030). The distribution of MTR 2756A>G and MTRR 524 C>T allele frequency was similar in cases and controls. In conclusion, the present study suggests an association between the MTRR 66 A>G gene polymorphisms and lung cancer risk in a Turkish population.

Key Words: Lung cancer, Methionine synthase, Methionine synthase reductase, Polymorphism, Folate cycle.

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No:40575

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Dünya çapında sıklıkla meydana gelen ve mortalitesinin en sık görüldüğü kanserlerden biri akciğer kanseridir. (Ferlay ve ark. 2015; Torre ve ark. 2015). Akciğer kanseri bütün kanser tanılarının %15'ini ve kanserden ölümlerin %28'ini oluşturmaktadır (Swartz ve ark. 2013).

Akciğer kanser risk faktörleri arasında, akciğer kanserine sebep olan çevresel risk faktörlerinden en büyük riskin sigara olduğu tespit edilmiştir (Hecht 2012; Torre ve ark. 2015). Sigara bileşimindeki karsinojenler DNA'yı etkileyerek karsinogeneze sebep olmaktadır, nitrozamin 4-metilnitrozamino-1-3-piridil-1-bütanon (NNK; nicotine-derived nitrosamine ketone) akciğerde güçlü karsinojen etkiye sahip olan maddelerden biridir. Özellikle akciğer kanseri altplerinden en sık görülen adenokarsinom için güçlü bir tetikleyecidir (Akopyan and Bonavida 2006).

Sigara dışında başka çevresel faktörler (yaş, beslenme şekli, alkol tüketimi ve fiziksel aktivite vb.) ve genetik faktörler de karsinogenezi geliştirmektedir (Alberg ve ark. 2005; Wiseman 2008; Sakoda ve ark. 2011). İnsanlardaki kalıtsal genetik kusurlar (mutasyonlar), kimyasalları aktive eden ve detoksifiye eden enzimlerin yapısal değişimi, gen ifade edilme düzeyini (karsinojen metabolizmasını) etkileyen bireysel genetik farklılıklar, DNA hasarının onarım kapasitesini etkileyen polimorfik/genetik değişiklikler kanser riskini arttırabilen başlıca genetik faktörlerdir. Yapılan çalışmalarda genetik polimorfizmler (allel değişimi/noksanlığı) bir hastalık riskini arttırırken bazıları azaltabilmekte (koruyucu allel), bazı polimorfik alleller ise yalnızca çevresel bir faktörün etkisi altındayken riski etkileyebilmektedir. Kanser gelişimi ya da kansere yatkınlıkla ilgili genlerin ve polimorfizmlerinin bilinmesi, hiç şüphesiz pek çok kanserin erken tanısı ve tedavisinde yararlı olabilecektir (Ekmekçi ve ark. 2008).

Tek karbon metabolizması, folat metabolizması denilerek de tanımlanan folat döngüsü, DNA metilasyonunda ve DNA sentezinde önemli rol oynamaktadır. Folat metabolizmasındaki gen polimorfizmlerinin çeşitli insan kanserleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Kim 1999). Bu metabolizmada görev alan genlerdeki varyasyonların enzim fonksiyonlarını etkileyerek anormal DNA metilasyonuna (hipermetilasyon veya hipometilasyon) veya DNA sentezinin inhibisyonuna neden olabileceğine dair çeşitli

alışmalar yapılmıştır (Kim 1999; Davis ve Uthus 2004) ve bu fonksiyonel polimorfizmlerin tümör supressör genlerine veya DNA onarım bölgelerine etki ederek tümör oluşumuna ve progresyonuna neden olabileceği belirtilmiştir (Esteller ve ark. 2000).

MTR (Metiyonin sentaz) ve MTRR (Metiyonin sentaz redüktaz) folat metabolizmasında yer alan iki önemli enzimdir. Tek karbon atomu metabolizması için oldukça kritik bir öneme sahip olan folik asit, DNA, histon ve diğer proteinlerin metilasyonunda ve nükleik asit sentezinde koenzim olarak görev almaktadır (Xu ve ark. 2004; Zhou ve ark. 2012). Folik asit bir seri reaksiyon sonucu 5-tetrahidrofolat formuna dönüşmekte ve MTR, 5-tetrahidrofolatı metil vericisi olarak kullanarak homosisteinden metiyoninin sentez edilmesini sağlamaktadır. MTR bu görevini B12 vitamini varlığında gerçekleştirmektedir. MTRR ise B12 vitamininin redüktif metilasyonunu katalize ederek MTR'nin aktivasyonuna neden olmaktadır (Leclerc ve ark. 1998).

Guangfu ve arkadaşlarının (2010) alışmalarında tek karbon metabolizması yolağında fonksiyonel genlerdeki polimorfizmlerin küçük hücre dışı akciğer kanseri tanısında biyolojik belirteç adayı olabileceğini ileri sürülmektedir. Sigara içimi, alkol alımı ve tek karbon metabolizması gen polimorfizmlerinin akciğer kanser riski ile ilişkili olduğu belirtilmektedir (Matakidou ve ark. 2007; Suzuki ve ark. 2007; Swartz ve ark. 2013).

MTR geni üzerindeki en yaygın polimorfizm aspartik asidin glisine dönüşümüne neden olan rs 1805087 A>G'dir. Yapılan çalışmalarda bu polimorfizmin düşük enzim aktivitesi ile yakından ilişkili olduğu saptanmıştır (Matsuo ve ark. 2001). *MTRR* geni üzerinde ise yer alan en yaygın polimorfizmlerden biri izolösinin metiyonine dönüşümüne neden olan rs1801394 A>G; (Gaughan ve ark. 2001) diğeri ise histidinin treonine dönüşümüne neden olan rs10380 C>T polimorfizmidir (Pardini ve ark. 2011).

Folik asidin DNA onarımı ve nükleik asit sentezi üzerindeki etkileri göz önünde bulundurulduğunda folat metabolizmasında yer alan enzimlerdeki herhangi bir fonksiyon değişikliğinin kanser riski ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Suzuki ve ark. 2007; Zhao ve ark. 2013; Zhang ve ark. 2013). Farklı toplumlarda yapılan çalışmalarda *MTR* ve *MTRR* genleri üzerinde yer alan polimorfizmlerin meningioma (Bethke ve ark. 2008; Cai ve ark. 2010), prostat kanseri (Shi ve ark. 2005), akciğer kanseri (Goode ve ark. 2004; Matakidou ve ark. 2007; Zhang ve ark. 2013), kolorektal

kanser (Zhang ve ark. 2007; Guimaraes ve ark. 2011; Zhou ve ark. 2012), sindirim sistemi kanseri (Zhao ve ark. 2013) gibi değişik kanser tipleri ile ilişkili olduğu saptanmıştır.

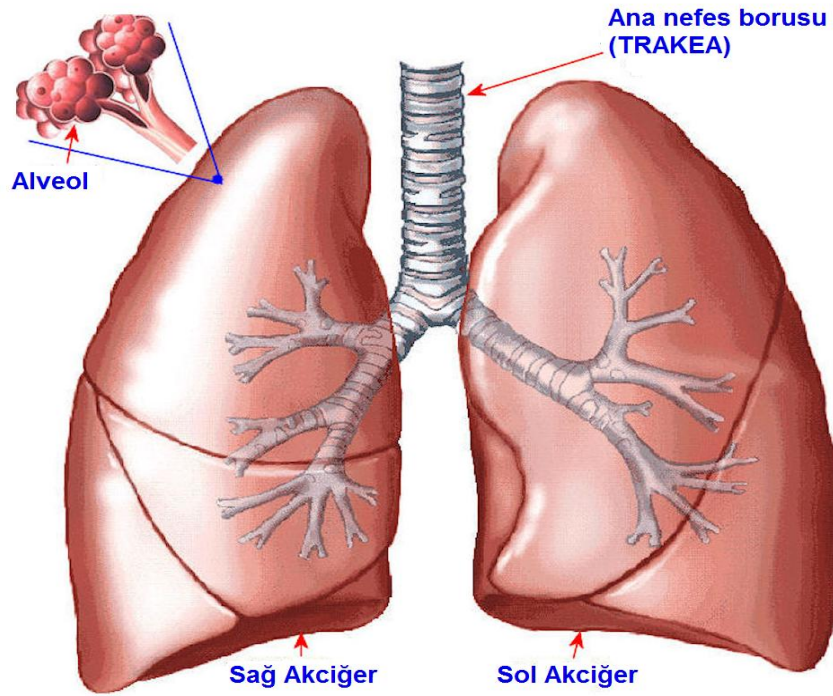
Bu güne kadar *MTR* ve *MTRR* gen polimorfizmlerinin akciğer kanseri ile ilişkisi Türk toplumunda incelenmemiştir. Çalışmamızda ilk kez Türk toplumunda *MTR* A2756G polimorfizmi ve *MTRR* C524T, A66G polimorfizmlerinin akciğer kanseri ile ilişkisi, sağlıklı bireylerden ve hasta bireylerden elde edilmiş kan örneklerinde PCR (Polimeraz zincir reaksiyonu), RFLP (Restriksiyon parçaları uzunluk polimorfizmi) ve agaroz jel elektroforezi teknikleri kullanılarak araştırılacaktır.

Bu çalışmada, ilgili gen polimorfizmleri ve akciğer kanseri arasındaki ilişki Türk toplumunda incelenerek, olası ilişkilerin belirlenmesi ve böylelikle bulgularımızın hastalıklara yatkınlıkların saptanması için bir veri tabanı oluşturmasının yanında akciğer kanseri tanısına katkı sağlayacak biyolojik belirteçlerin geliştirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Akciğerler

Akciğerler göğüs boşluğuna yerleşmiş, solunumla ilgili, süngerimsi yapıya sahip bir çift organdır. Sağ akciğer daha geniş ve kısa, sol akciğer daha ince ve uzun yapıya sahiptir. Sağ akciğer, birbirinden iki derin hat ile ayrılmış üst (lobus superior), orta (lobus medius) ve alt lob (lobus inferior) şeklinde üç lobtan oluşur. Sol akciğerde ise tek yarı ve iki lob vardır; bunlar üst (lobus superior) ve alt (lobus inferior) loblardır. Loblar arasında bulunan bu yarıklar, akciğer loblarının birbirleri üzerinde kayarak hareket etmesini sağlar (Şekil 2-1) (Süzen 2011). Her bir akciğerin ince yapısında bronşlar, bronşçuklar, kan damarları, elastik doku, lenf damarları ve sinirler vardır (Solakoğlu ve Aytekin 2009).



Şekil 2-1: İnsan akciğerlerinin yapısı.

(<http://www.medgadgget.com/2015/05/global-lung-cancer-therapeutics-market-grow-cagr-3-83-2015.html> değiştirilerek alınmıştır)

2.2. Akciğer Kanseri

Akciğer kanseri, akciğer dokusundaki hücrelerin mutajenik faktörlerle uyarılarak DNA yapısının değişmesi ve kontrolsüz hücre çoğalmasıyla akciğer dokularında tümör oluşumudur. Tümör ilk oluştuğu yerde gelişerek daha ileriki aşamalarda çevre dokulara veya dolaşım yoluyla uzak organlara yayılmaktadır. Bu yayılmaya metastaz adı verilmekte ve karaciğer, kemik, beyin vb. gibi organlarda hasara yol açabilmektedir (Çevikbaş 2003 pp.171-180).

Dünya çapında kanser teşhislerinin ve kanser sebepli ölümlerin başında akciğer kanseri yer almaktadır. 2010 yılında yapılan araştırmalarda kanser tanılarının %15'ini ve kanserden ölümlerin %28'ini akciğer kanseri oluşturmaktadır (ACS 2010).

Kansere yol açan çevresel ve genetik faktörler, bir çok mutajen veya karsinojenler DNA'da hasara sebep olarak somatik hücrelerde bir dizi mutasyona neden olmaktadır (Ekmekçi ve Erbaş 1991).

2.3. Akciğer Kanserin Moleküler Biyolojisi

Karsinogenezin başlangıcını genetik hasarlar (mutasyonlar) oluşturmaktadır. DNA'da meydana gelen genetik hasarlar; kimyasal karsinojenlerin, radyasyon gibi mutajenlerin veya virüslerin etkisiyle meydana gelmektedir. Protoonkogenler, tümör supressör genler ve DNA hasarı onarımını düzenleyen genler genetik hasarın asıl hedefidir (Futreal ve ark. 2001). Bununla beraber hücre büyümesinde, apoptozda ya da ksenobiyotik metabolizmasında etkili proteinleri kodlayan genlerdeki yapısal değişiklikler de kanser riskini etkileyebilmektedir (Sarasin 2003). Hastalık ile yakından ilişkili olan bu genetik değişiklikler, kromozom yapısının değişmesi, kromozom sayısının değişmesi ve gen (nokta) mutasyonları şeklinde olabilmektedir (Bütün ve Kantarcı 2006). Genler üzerinde meydana gelen bu tip değişiklikler de ilgili proteinin işlev kazanmasına, kaybetmesine veya yeni bir özellik kazanmasına neden olabilir ve bunun sonucu hastalık gelişebilir (Sarasin 2003).

Onkogenlerin aktivasyonu, tümör baskılayıcı genlerin aktivasyon kaybı, hücre döngüsü ve düzenlenmesinde yer alan genlerdeki hasarlar ve DNA onarımında görev alan genlerde oluşan genetik farklılıklar, diğer hastalıkların gelişiminde olduğu gibi akciğer karsinogenezinde de büyük önem taşımaktadır (Fong ve Minna 2002). Ayrıca, akciğer kanseri üzerine yapılan çalışmalarda tek nükleotid değişimleri (polimorfizmler) DNA sentezi ve DNA metilasyonunda görev alan bölgelerde meydana geldiğinde

enzimlerin fonksiyonel ve yapı değişimlerine sebep olarak tümör oluşumuna ve gelişimine etki ettiği belirtilmiştir (Matakidou ve ark. 2007; Guangfu ve ark. 2010; Zhou ve ark. 2012).

2.4. Akciğer Kanseri Tümör Tipleri

Primer akciğer tümörlerinin %95'i bronşial epitel doku hücrelerinin karsinojenезinden (bronkojenik karsinomlar), %5'lik kısmı bronşial karsinoidler, bronşial gland kanserleri (adenoid kistik ve mukoepidermoid karsinomlar), mezenkimal malingniteler (örneğin fibrokarsinomlar), lenfomalar ve birkaç iyi huylu lezyon kapsamaktadır (Çevikbaş 2003).

Akciğer kanserinde, histolojik hücre tipi ve tümör evreleri prognoz ile ilgili en önemli etmenlerdir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), 2004 yılında malign epitelyal akciğer tümörlerini şu şekilde sınıflandırmıştır (Beasley ve ark. 2005);

1. Skuamöz hücreli karsinom
2. Küçük hücreli karsinom
3. Adenokarsinom
4. Büyük hücreli karsinom
5. Adenoskuamöz karsinom
6. Sarkomatoid karsinomlar
7. Karsinoid tümör
8. Tükürük bezi karsinomu

Başka bir sınıflandırmada ise akciğer kanseri, küçük hücreli akciğer kanseri (KHAK) ve küçük hücreli olmayan/dışı akciğer kanseri (KHOAK/KHDAK) olarak ikiye ayrılmaktadır (Travis 2011a).

Epidermoid karsinom diğer adıyla skuamöz karsinom akciğer kanserleri arasında en çok görülen tiptir. Akciğer karsinomları arasında % 25-40 oranında görülür. Bu karsinomlar genellikle santral yerleşmekle birlikte periferik de olabilirler; en sık kavitasyon gösteren tümördür. Epidermoid karsinom, sigara kullanımı ile en fazla ilişki gösteren (%90) ve erkeklerde daha sık görülen bir tümördür; diğer tiplere göre daha geç metastaz yapmaktadır ve genellikle lokal yayılma eğilimindedir. Akciğer kanserleri

içerisinde p53 mutasyonlarını en sık gösteren epidermoid karsinomlardır. Bu karsinomun tipleri: Papiller, berrak hücreli, küçük hücreli ve bazaloiddir (Travis 2011b; Yıldızhan ve Candaş 2012 pp. 20-23).

Küçük hücreli karsinomlar nöroendokrin hücrelerden orijin alır; santral hava yollarında oluşma eğilimindedir ve tüm akciğer kanserlerinin %20-25'ini oluştururlar. Küçük hücreli karsinom, akciğer kanserlerinin en hızlı seyreden tipidir ve oldukça agresif seyirli bir tümördür. Erkeklerde ve sigara içenlerde daha sık gözlenen bu tümörlerin ortalama görülme yaşı 60'dır. Küçük hücreli karsinomlar hızlı büyüme fraksiyonu, erken sistemik yayılım gösterme ve ileri evrelerde bile kemoterapiye iyi yanıt vermeleri gibi klinik, biyolojik ve genetik özellikleri ile diğer akciğer kanserlerinden ayrılırlar. Küçük hücreli karsinomlarda p53 ve retinoblastoma (rb) genleri sıklıkla mutasyona uğramıştır. Tek varyantı kombine küçük hücreli Karsinom'dur (Travis 2011b; Yıldızhan ve Candaş 2012 pp. 20-23).

Adenokarsinomlar %25-40 oranında görülür. Son yıllarda adenokarsinom oranı yükselmiş olup, skuamöz hücreli karsinoma yaklaşmıştır. Sigara içmeyen kadınlarda daha sık görülmektedir. Tümör genellikle periferik yerleşir ve mezotelyoma ile karışabilir; clara hücrelerinden veya tip 2 pnömositlerden köken alır. K-ras mutasyonları akciğer kanserleri arasında en çok adenokarsinomlarda tesbit edilir. Alttipleri; asiner, papiller, bronkioloalveoler karsinom (non-müsinöz, müsinöz, mikst), müsin içeren solid adenokarsinom, karışık alttipler içeren adenokarsinomdur. Tipleri: iyi diferansiye fokal adenokarsinom, müsinöz adenokarsinom, müsinöz kistadenokarsinom, taşlı yüzük hücreli karsinom, berrak hücreli karsinomdur (Travis 2011b; Yıldızhan ve Candaş 2012 pp. 20-23).

Büyük hücreli karsinom; kötü diferansiye hücrelerden meydana gelmiştir. Büyük hücreli karsinom terimi herhangi bir kategoriye sokulamayan tümörleri tanımlamak için kullanılmıştır. Akciğer karsinomlarının %9'unu oluşturur. Tipleri: büyük hücreli nöroendokrin karsinom, bazaloid karsinom, lenfoepitelyoma benzeri karsinom, berrak hücreli karsinom, rabdoid fenotipli büyük hücreli karsinom (Travis 2011b; Yıldızhan ve Candaş 2012 pp. 20-23).

Adenoskuamöz karsinom; adeno ve skuamöz karsinomun birlikte yer aldığı tümörlerdir. Komponentlerden birisi baskın olabilir, ancak diğerinin oranı %10'dan az olmamalıdır (Travis 2011b; Yıldızhan ve Candaş 2012 pp. 20-23).

Sarkomatoid karsinom; sarkom veya sarkoma benzer diferansiyasyon gösteren az diferansiye küçük hücreli dışı karsinomlardır. Bu grup tümörler, akciğer tümörleri arasında % 0,3-1,3 oranında görülürler. Tipleri; pleomorfik karsinom, iğsi hücreli karsinom, dev hücreli karsinom, karsinosarkom, pulmoner blastomdur (Travis 2011b; Yıldızhan ve Candaş 2012 pp. 20-23).

Karsinoid tümörler tipik karsinoid ve atipik karsinoidlerden oluşan karsinoid tümörler tüm akciğer tümörlerinin %1-2'sini oluştururlar; normal hava yollarında bulunan nöroendokrin hücrelerden köken alan düşük ve orta dereceli nöroendokrin tümörlerdir. Karsinoid tümörler genellikle 45-55 yaş grubu arasında görülmektedir. Tipik karsinoidler, atipik olanlara göre daha erken yaş grubunda görülme eğilimi gösterirler (Travis 2011b; Yıldızhan ve Candaş 2012 pp. 20-23).

Tükrük bezi tipi karsinom; akciğerde görülen tükrük bezi tipi karsinomlar olarak bilinen; mukoepidermoid karsinom, adenoid kistik karsinom ve epitelyal-miyoepitelyal karsinom oldukça nadir görülen tümörlerdir (Travis 2011b; Yıldızhan ve Candaş 2012 pp. 20-23).

2.5. Akciğer Kanseri Evreleme

Son yıllarda akciğer kanseri evrelemesinde önemli gelişmeler olmuştur. Evreleme, kanserin boyutlarının ve metastazının belirlenmesi için kullanılan sınıflandırma işlemidir. KHOAK evrelemesinde primer tümörün büyüklüğü ve yayılımına (T), bölgesel lenf düğümü metastazına (N), uzak metastaz varlığına (M) göre TNM evrelendirmesi yapılmaktadır. Yeni evreleme (IASLC) Uluslararası Evreleme Komitesi çalışması sonrasında, Eylül 2007'de Güney Kore'de gerçekleştirilen 12. Dünya Akciğer Kanseri Konferansı'nda tartışılmış ve Temmuz 2009'da San Francisco'da kabul edilmiştir (Tablo 2-1), (Travis 2009; Yıldızhan ve Candaş 2012 pp. 25-27).

Tablo 2-1: TNM sınıflandırılması

T (Primer Tümör)	
T_x	Primer tümör belirlenememekte, balgam ve bronş lavajında malign hücrelerin tespit edilip görüntüleme teknikleri ya da bronkoskopi ile gösterilememekte
T₀	Primer tümöre ait hiçbir kanıt bulunamamakta
T_{is}	<i>In situ</i> karsinom
T₁	Tümör büyüklüğü ≤ 3 cm, akciğeri veya plevrayı saran loblara ait bronşlardan daha çok proksimal (ana bronşlara değil) invazyonu ile ilgili bronkoskopik bir kanıt bulunmayan tümörlerdir.
T_{1a}	En büyük tümör çapı ≤ 2 cm
T_{1b}	$2 \text{ cm} < \text{En büyük tümör çapı} \leq 3 \text{ cm}$
T₂	$3 \text{ cm} < \text{En büyük tümör çapı} \leq 7 \text{ cm}$, ana bronşlar tutulmuş ve karinaya uzaklık 2 cm veya daha distal. Visseral plevra invazyonu, tümörün hiler bölgeye yayılarak tüm akciğeri kaplamayan atelektazi ya da obstrüktif pnömoniye neden olmakta
T_{2a}	$3 \text{ cm} < \text{En büyük tümör çapı} \leq 5 \text{ cm}$
T_{2b}	$5 \text{ cm} < \text{En büyük tümör çapı} \leq 7 \text{ cm}$
T₃	En büyük çapı 7 cm'den büyük olan tümör, göğüs duvarı (superior sulkus tümörleri dahil), diyafragma, frenik sinir, mediastinal plevra, pariyetal perikard gibi yapılardan herhangi birine direk invazyon gösteren tümör, karinaya 2 cm'den daha yakın ancak karinayı tutmayan tümör, bütün akciğeri kaplayan atelektazi veya obstrüktif pnömoni ile birlikte olan tümör, tümörle aynı lobda farklı tümöral nodül(ler) mevcut
T₄	Tümör herhangi bir büyüklükte olup; mediasten, kalp, büyük damarlar, trakea, rekürren larengeal sinir, özofagus, vertebra korpusu ve karinadan herhangi birini invaze eden tümör, tümörle aynı akciğerde farklı bir lob içinde farklı tümöral nodül(ler) bulunmakta
N (Lenf Bezleri)	
N_x	Bölgesel lenf bezleri değerlendirilememekte
N₀	Bölgesel lenf bezi metastazı yok
N₁	Peribronşiyal ve/veya aynı tarafta hiler lenf bezlerine metastaz ve primer tümörün direkt yayılması ile intrapulmoner bezlerin tutulması
N₂	Mediastinal ve/veya subkarinal lenf düğümleriyle aynı tarafta metastaz
N₃	Kontralateral mediastanel, kontralateral hilus bölgesi, ipsilateral ve kontralateral skalen veya supraklavikular lenf düğümü metastazları
M (Uzak metastaz)	
M_x	Uzak metastaz varlığı değerlendirilememekte
M₀	Uzak metastaz yok
M₁	M_{1a} : Karşı taraftaki akciğerde farklı tümöral nodül(ler); plevral nodüller veya malign plevral veya perikardiyal efüzyon ile birlikte olan tümör M_{1b} : Uzak metastaz

Hastalık prognozuna göre TNM tanımlamalarının çeşitli kombinasyonları oluşturulmaktadır. Bu kombinasyonlar kapsamında evre 0, IA, IB, IIA, IIB, IIIA, IIIB, IV ve gizli evre olmak üzere dokuz evre bulunmaktadır (Tablo 2-2). Evre numaralarındaki artış kötü prognoz ile ilişkilendirilmektedir (Rami-Porta ve ark. 2009; Travis 2009).

Tablo 2-2: Küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde TNM tanımlamasına göre belirlenen dokuz evre

KHOAK için Evre	TNM alt tipi
Gizli karsinom	$T_x N_0 M_0$
Evre 0	$T_{is} N_0 M_0$
Evre I A	$T_{1a} N_0 M_0$ $T_{1b} N_0 M_0$
Evre I B	$T_{2a} N_0 M_0$
Evre II A	$T_{1a} N_1 M_0$ $T_{1b} N_1 M_0$ $T_{2a} N_1 M_0$ $T_{2b} N_0 M_0$
Evre II B	$T_{2b} N_1 M_0$ $T_3 N_0 M_0$
Evre III A	$T_1 N_2 M_0$ $T_2 N_2 M_0$ $T_3 N_1 M_0$ $T_3 N_2 M_0$ $T_4 N_0 M_0$ $T_4 N_1 M_0$
Evre III B	$T_4 N_2 M_0$ $T \text{ (herhangi)} N_3 M_0$
Evre IV	$T \text{ (herhangi)} N \text{ (herhangi)} M_{1a}$ $T \text{ (herhangi)} N \text{ (herhangi)} M_{1b}$

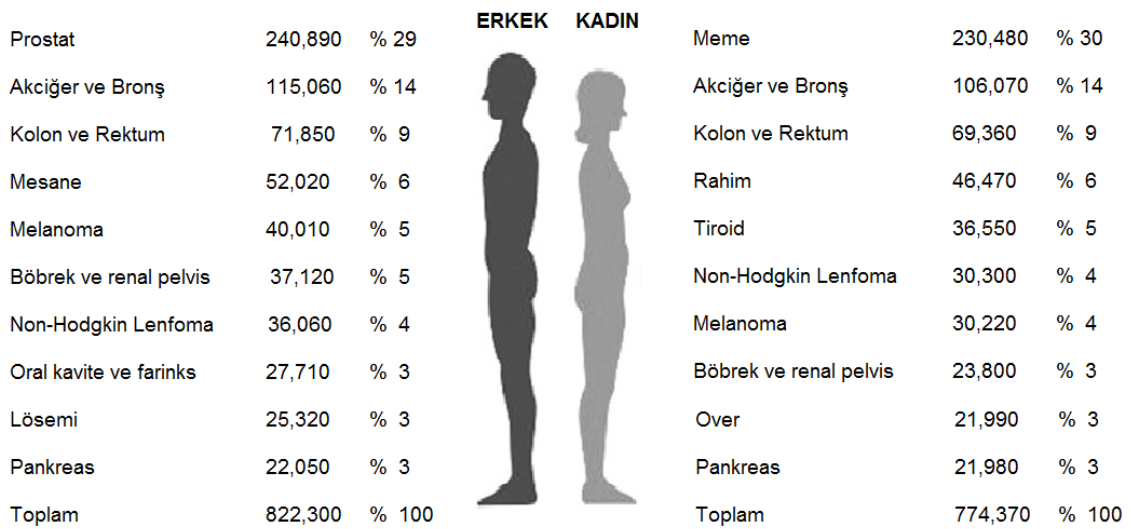
Küçük hücreli kanserli hastalarda ise TNM sistemi yerine VALG (Veterans Administration Lung Cancer Group) tarafından önerilen evreleme sistemi kullanılmaktadır. Bu sisteme göre tümör oluşmu hemitoraks bölgesinde meydana gelmiş ise ‘sınırlı’ hemitoraksın dışında daha geniş alana yayılmış ise ‘yaygın’ olarak sınıflandırılmaktadır (Tablo 2-3) (Mountain 1997).

Tablo 2-3: Küçük hücreli akciğer kanserinde evreleme

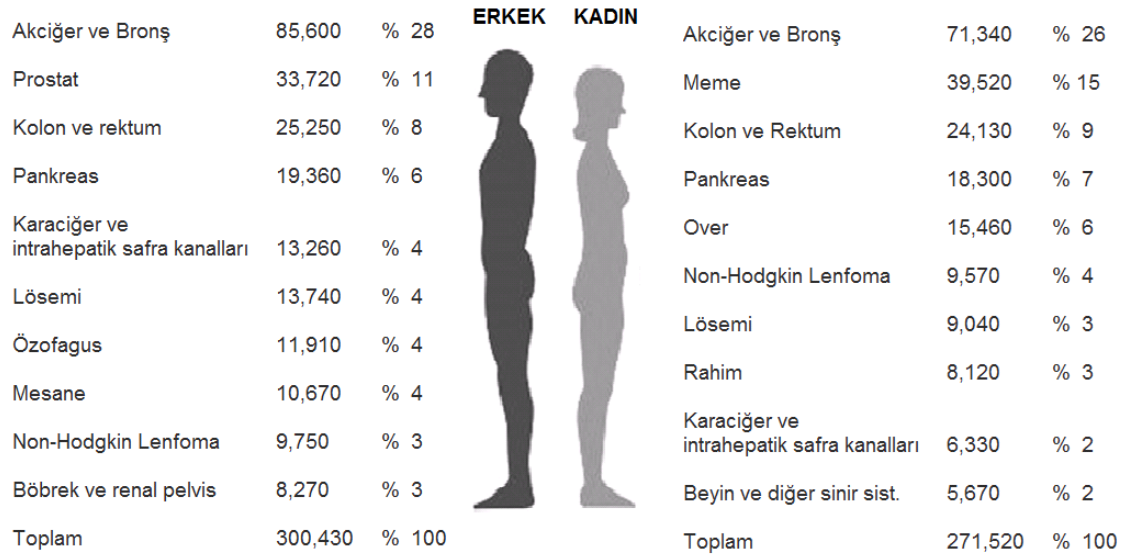
KHAK için evre	
Sınırlı	Primer tümör hemitoraksı da içine alarak hilusa ait lenf düğümleri ile aynı yöndedir. Supraklavikular lenf düğümleri ile aynı ve zıt yönde, mediastanel lenf düğümleri ile aynı ve zıt yönde olabilmekte
Yaygın	Akciğere zıt yöndeki metastatik lezyonlar, uzak metastazlar (beyin, kemik, karaciğer, adrenal bezler), plevral efüzyon görülür

2.6. Akciğer Kanserinin Epidemiyolojisi

Akciğer kanseri 20. yüzyılın başlarında az görülmekteyken zaman içerisinde sıklıkla görülen önemli bir hastalık halini almıştır (Greenlee ve ark. 2001). 2001 yılında akciğer kanseri bir milyondan fazla ölüme neden olarak dünyada mortalitesi en yüksek kanserler arasında başı çekmektedir (Spiro ve Porter 2002). Dünya genelinde akciğer kanserinin görülme sıklığı erkeklerde prostat kanserinden sonra ikinci sırada (%14), kadınlarda ise meme kanserinden sonra ikinci sırada (%14) yer almaktadır (Şekil 2-2). Akciğer kanseri; kanser sebepli ölümler arasında erkeklerde %28 ve kadınlarda %26 oranla ilk başta yer almaktadır (Şekil 2-3), (Cruz ve ark. 2011). Doğu Avrupa ülkelerinde ve ülkemizde erkeklerin yanında kadınlar arasında da sigara içme sıklığının yaygınlaşması ile akciğer kanseri ölümleri giderek artmaktadır (Özsu ve Özlü 2013).

**Şekil 2-2: Erkek ve kadınlarda en sık görülen kanserlerin yüzde dağılımları.**

(Cruz ve ark. 2011 'den değiştirilerek alınmıştır)

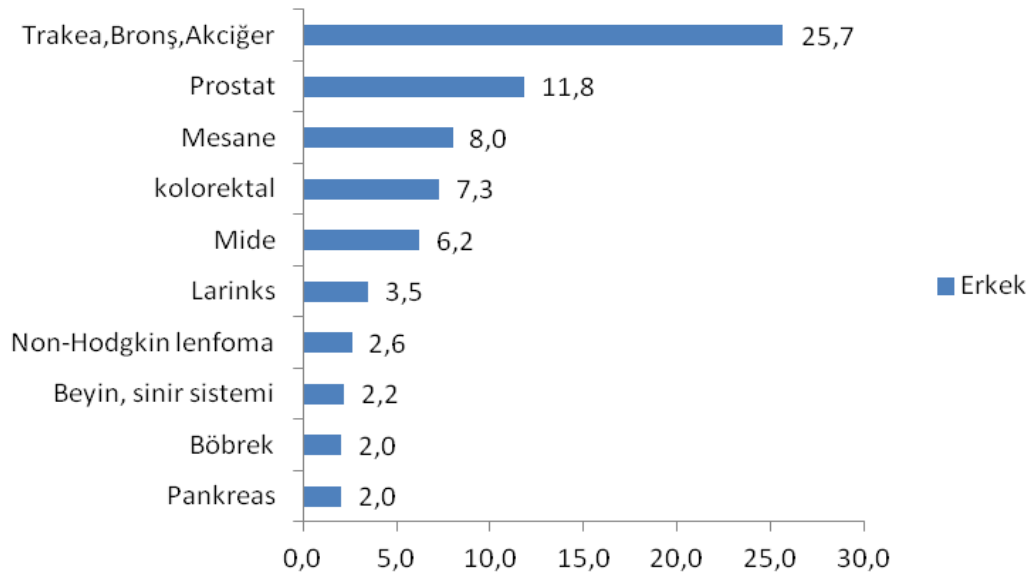


Şekil 2-3: Kanser sebepli ölümlerin yüzde dağılımları.

(Cruz ve ark. 2011 'den değiştirilerek alınmıştır)

Türkiye’de özellikle erkeklerde akciğer kanserine sık rastlanmaktadır. Bin dokuz yüzü yıllarda kanserli hastalara ait veri toplamada eksikler ve sıkıntılar yüzünden geçmişe ait gerçek anlamda istatistiksel sonuçlara ulaşılamamaktadır. Ülkemizde Kanser Savaş Daire Başkanlığı (KSDB) 1983 yılında kurulmuştur. Bu dönemde kanser sıklığı üzerine çalışmalar yapılmıştır. 1992 yılında kanser kayıtçılığı başlamış, ancak 81 ilde aktif olarak kanser kaydı tutulamamakta ve dolayısıyla ülke genelinde kanser insidansı tam anlamıyla ölçülememekteydi. 2013 yılında elektronik olarak kurulan ölüm bildirim sistemi ile ilk defa ulusal çapta kanser tiplerine özel yaşam süreleri analizleri de başlatılmıştır. 2014 yılına gelindiğinde tam anlamıyla 81 ilde kanser kayıtçılığı sistemi oluşturulmuştur. Böylece ulusal çapta güvenilir ve güncel istatistiksel veriler elde edilecektir (Gültekin ve Bozdaş 2014).

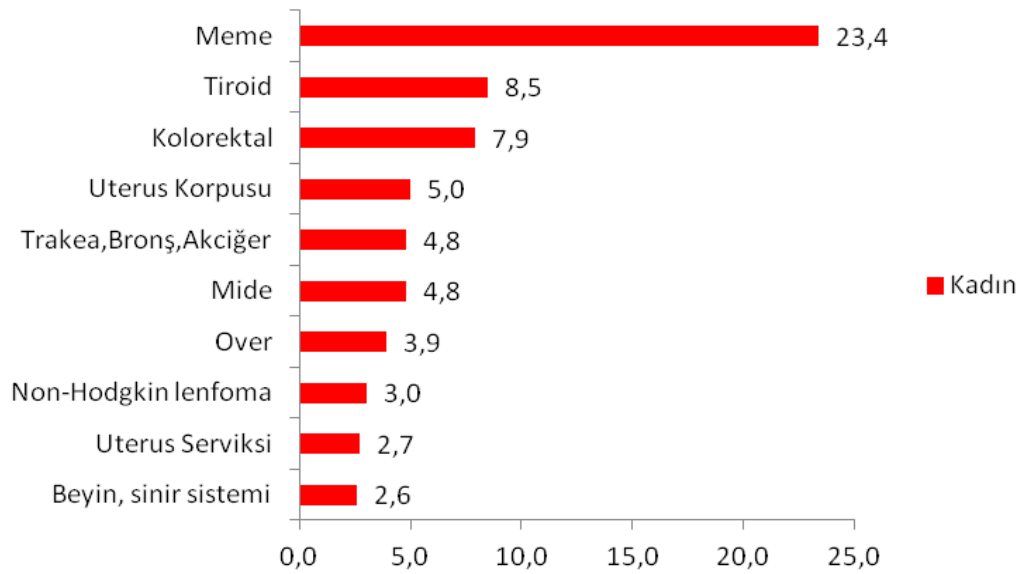
KSDB 2002 yılında yayınladığı ilk raporda yaşa bağlı kanserler gruplandırıldığında, 50-70 yaşlarında akciğer kanserinin en sık görülen kanser tipi olduğu bildirilmiştir. 2009 yılı kanser insidansı raporunda Türk toplumunda erkeklerde en sık görülen 10 kanser tipi arasında akciğer kanseri ve solunum yolu kanserlerinin birinci sırada yer aldığı gözlenmektedir (Şekil 2-4).



Şekil 2-4: Tüm yaş grupları içinde erkeklerde en sık görülen ilk 10 kanserin yüzde dağılımları.

(Gültekin ve Bozdaş 2014)

Kadınlarda ise en sık görülen 10 kanser tipi içinde 5. sırada akciğer kanseri ve solunum yolları kanserinin olduğu bildirilmiştir (Şekil 2-5). İstatistik sonuçlarına göre Türkiye’de akciğer kanserinin şu an ve gelecekte de ciddi bir halk sağlığı sorunu olarak kalacağı görülmektedir (Gültekin ve Bozdaş 2014).

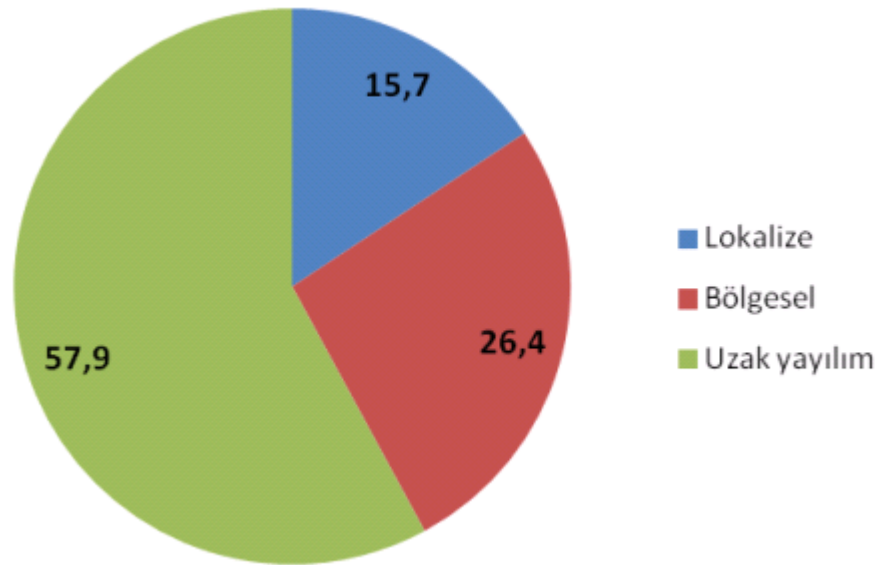


Şekil 2-5: Tüm yaş grupları içinde kadınlarda en sık görülen ilk 10 kanserin yüzde dağılımları.

(Gültekin ve Bozdaş 2014)

Dünya kanser istatistiklerinde ise Uluslararası Kanser Ajansı (IARC) tarafından yayınlanan Globocan 2012 güncel verilerine göre, Türkiye’de erkeklerde en sık görülen beş kanser tipi içinde, akciğer kanserinin birinci sırada, kadınlarda beşinci sırada yer aldığı bildirilmektedir (WHO 2013; Ferlay ve ark. 2015).

Akciğer kanserinin evreleri incelendiğinde % 57,9’unun uzak metastaz yaptığı görülmüştür (Şekil 2-6). Akciğer kanserinin teşhisi geç yapıldığından, genellikle hastalık ileri evrede teşhis edilmektedir ve sağ kalım süresi diğer kanserlere göre düşüktür. 2009 yılında yapılan kanser türleri arasında sağ kalım süreleri incelendiğinde, akciğer kanserinin ortalama sağ kalım süresi 16,9 ay olarak belirtilmiştir (16,4-17,4 arasında alt ve üst sınır değişebilmekte). Ancak bu veriler hasta özelinde hastanın yaşı, hastalığın evresi, ek hastalık yükleri, tümörün histolojisine göre değişkenlik gösterebilir (Gültekin ve Bozdaş 2014).



Şekil 2-6: Akciğer kanseri evrelerinin yüzde dağılımları.

(Gültekin ve Bozdaş 2014)

2.7. Akciğer Kanserinin Etiyolojisi

2.7.1. Sigara

Akciğer kanserine sebep olan risk faktörleri oldukça fazladır. En önemli risk faktörü ise sigaradır. Akciğer kanserinin en büyük nedeninin sigara olduğuna dair ilk çalışmalar 1962 yılında yayınlanmıştır (Spiro ve Porter 2002). Sigara %80-90 gibi büyük bir oranda akciğer kanseri oluşumundan sorumludur, diğer risk faktörleri arasında yaş, etnik farklılık, cinsiyet, genetik yatkınlık, beslenme, mesleki ve çevresel etkiler, radyasyon gibi etkenler sayılabilir (Cruz ve ark. 2011).

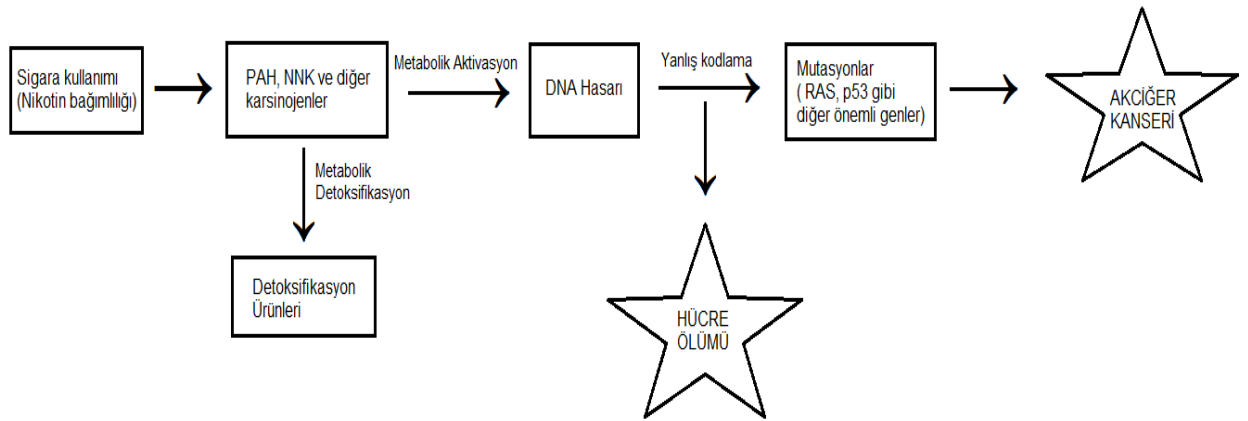
Sigara içenlerde akciğer kanserine yakalanma riski içmeyenlere kıyasla 20-30 kat daha fazladır. Her sigara içen kişi kanser olacak denemez ancak akciğer kanseri olma sebebinin en büyük nedeni sigaradır denilebilir. Aktif olarak sigara içmek kanser riskini büyük oranda arttırmasının yanında pasif içicilikte de kanser riski % 3,5'tir. Ayrıca sigaraya başlama yaşı, sigara içme süresi, içilen sigaranın adedi, tütün ve sigara tipi (filtreli, filtresiz, puro ve nikotin içeriği) gibi faktörler akciğer kanseri gelişimi riskini etkilemektedir (Alberg ve Nonemaker 2008).

Dünya genelinde erkeklerde % 47-52, kadınlarda %10-12 oranında sigara kullanımı olduğu tahmin edilmektedir. Genel olarak erkeklerin kadınlara göre daha uzun süreli, yüksek zifir içerikli ve derin solunumlu sigara içme alışkanlıkları vardır (Akciğer Kanseri Tanı ve Tedavi Rehberi 2006; Spiro ve Porter 2002). Türkiye'de ise sigara içme prevalansları kadınlarda %24, erkeklerde %63'tür. Bu yüksek oranlar göz önüne alınarak toplumumuzun sağlığı için sigara konusunda önlemler alınması gereklidir (Müsellim 2007).

Sigarada yaklaşık 40000 kadar kimyasal bileşik belirlenmiştir bunların büyük bir çoğunluğu karsinojendir. Sigarada bulunan en güçlü karsinojen bileşikler arasında polinükleer aromatik hidrokarbonlar (PAH), N-nitrozaminler, aromatik aminler ve heterosiklik aminler yer almaktadır. Akciğer kanseri açısından ise iki grup karsinojen oldukça önemlidir bunlar benzo(a)piren gibi PAH ve tütüne özgü 4-metilnitrozamin-1-3-pridil-1-bütanondur (NNK) (Hecht 1999; Akopyan ve Bonavida 2006).

Akciğerde karsinojenez bir dizi metabolik olaylar sonrası başlamaktadır. NNK ve PAH gibi karsinojenler hücre içinde metabolik olarak aktiflendikten sonra DNA hasarına neden olmaktadır. Hasarlı DNA'ya sahip olan hücrelerin iki yolu vardır; apoptozis ile yok edilebilir veya DNA'da meydana gelen hasar onkogen ve tümör

baskılayıcı gen bölgelerinde mutasyona sebep olarak onkogenlerin aktivasyonuna veya tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonuna neden olabilir. Bu gibi olaylar kontrolsüz hücre çoğalmasını tetikleyerek akciğerde karsinogenezi başlatabilmektedir (Şekil 2-6) (Hecht 1999; Akopyan ve Bonavida 2006).



Şekil 2-7: Sigara ve akciğer kanseri arasındaki ilişki şeması.

(Hecht 1999'dan değiştirilerek alınmıştır)

2.7.2. Mesleki ve Çevresel Maruziyetler

Türkiye'de akciğer kanserinin oluşumunda rol oynayan diğer önemli bir faktör akciğerlerin asbest karsinojenine maruz kalmasıdır. Hava yoluyla taşınan, küçük partiküllü toz halinde bir mineral bileşiği olan asbest ile karşılaşan kişilerde akciğer kanseri riski artmaktadır. Sigara içen kişilerde asbest ile temas kanser riskini doksan kat arttırmaktadır. Akciğer kanserlerinin %3-4 kadarının asbeste maruz kalınmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Aydiner ve ark. 2010).

Radyasyona maruz kalanlarda da akciğer kanseri riski artmaktadır. Radon gazı akciğer kanseri etiolojisinde rol oynayan bir radyoaktif maddedir ve doğada değişik bölgelerde yüksek oranda bulunabilmektedir. Radon gazına madenlerden ve ev içi havasından maruz kalmak mümkündür; fakat madendeki radon konsantrasyonu ev içindeki konsantrasyondan 50-100 kat daha fazladır. Dolayısıyla madenciler radon gazı açısından daha büyük risk altındadır (Choi ve Mazzone 2014). Kişilerin başka kanserojen maddelere; uranyum, arsenik, berilyum, vinil klorid, nikel, krom, kömür, mustard gazı, klorometil eter, gazlar, dizel ürünleri vb. maruziyeti akciğer kanseri için risk faktörü oluşturmaktadır. Hava kirliliği, kükürt dioksit (SO₂) ve azot dioksit (NO₂)

gazlarının varlığı da akciğer kanser riskini arttırabilmektedir (Yıldızhan ve Candaş 2012 p 21).

2.7.3. Yaş, Cinsiyet ve Etnik Farklar

Akciğer kanseri gelişiminde en büyük etken olan sigaranın dışında yaş, ırk, cinsiyet, hava kirliliği ve karsinojenlere maruziyet, radyasyon, diyet, viral enfeksiyon gibi faktörler de bulunmaktadır.

Akciğer kanseri yaşa bağlı olarak artmaktadır, en sık görülme yaş aralığı 50-70'li yaşlardır, aynı şekilde akciğer kanseri mortalitesi yaşla beraber artmaktadır. Kadınlara kıyasla ülkemizde ve dünyada erkeklerde akciğer kanseri görülme oranı daha fazladır. Buna sebep erkeklerin sigara içiciliğinin daha fazla ve uzun olması olabilir (Ferlay ve ark. 2015). Tüm dünyada erkekler arasında akciğer kanseri insidans oranı en yüksek Orta ve Doğu Avrupa'da görülmektedir. Kadınlarda ise Kuzey Amerika'da insidans oranı en yüksek görülmektedir (Cruz ve ark. 2011).

2.7.4. Diyet

Diyetteki eksiklikler akciğer kanseri gelişiminde etkili olabilmektedir. A vitamini, beta karoten, C vitamini ve E vitamini gibi antioksidanların serbest radikalleri inhibe ederek DNA'yı oksidatif hasardan koruduğu bildirilmiştir (Steinmetz ve ark. 1993). Turunçgiller, yeşil sebzeler ve balıkta bol bulunan, A vitamini öncülü olan beta karotenden fakir beslenmenin hayvan modellerinde akciğer kanseri riskini arttırdığı gösterilmiş ve insanlardaki çalışmalarda da diyetinde betakaroten/retinol miktarı yüksek olanlarda akciğer kanseri riskinin %40 azaldığı tespit edilmiştir. Sarı-yeşil sebze ve meyvelerde bulunan C vitamininin yeterli alımı da riski azaltmaktadır (Müsellim 2007).

2.7.5. Alkol

Alkolün folat metabolizması ve DNA onarımı için enzim kodlayan gen polimorfizmlerine etki ettiği söylenmektedir. Alkol tüketimi ile ağız boşluğu, farinks, larinks, karaciğer, kolon ve meme kanseri arasında ilişki kurulmuş, fakat akciğer kanseri için alkolün etkisi kesin olarak belirlenememiştir. Alkol tüketimi ve akciğer kanseri arasında ilişki olduğu ileri sürülmektedir ancak tam olarak açıklanamamıştır (Boffetta ve Hashibe 2006).

2.7.6. Sosyoekonomik Durum

Sigardan bağımsız akciğer kanserini de içeren pek çok hastalık riskinin, düşük sosyal statüdeki bireylerde 2-3 kat daha fazla olduğu bilinmektedir (Cruz ve ark. 2011).

2.7.7. Akciğer Hastalıkları

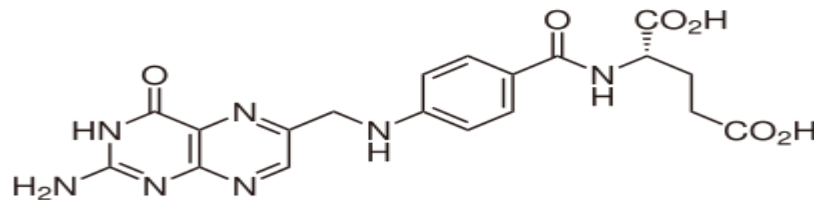
Daha önceden geçirilmiş astım, tüberküloz, kronik bronşit, amfizem ve obsrükatif akciğer hastalıkları akciğer kanseri riskini arttırmaktadır. Kronik obsrükatif akciğer hastalığında tekrarlanan akciğer inflamasyonu ve akciğerdeki skar dokularında (örneğin tüberküloza bağlı) kanser girişimi artmaktadır (Littman ve ark. 2004).

2.7.8. Genetik Yatkınlık

Sigara içenlerde ailesel genetik yatkınlık akciğer kanseri riskini arttırmaktadır. Ayrıca hücre döngüsü, apoptozis, hücre farklılaşması, DNA sentezi ve onarımı gibi hücresel olaylarda enzim kodlayan genlerde meydana gelen polimorfizmler akciğer kanseri de olmak üzere birçok kanser riskini arttırmaktadır (Cruz ve ark. 2011).

2.8. Folat Metabolizması

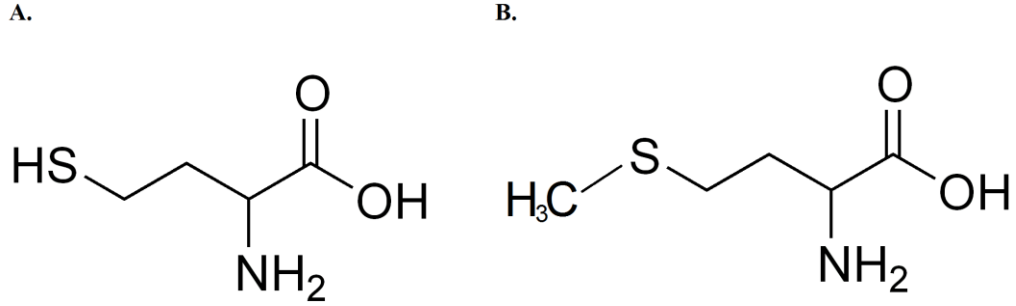
Folik asit (folat) kimyasal adı pteroil glutamik asit olan suda çözünen bir vitamindir (B9 vit.), (Şekil 2-8). Folik asit ve türevleri DNA sentezi, DNA metilasyonu, homosistein ve metiyonin amino asitlerinin metabolizması gibi önemli biyokimyasal yollarda görev almaktadır. Embriyonun gelişmesi gibi, DNA yapım ve yıkımının hızlı olduğu dokularda esansiyel bir maddedir. Folat guanin, adenin, timin sentezi ve DNA metilasyonunu da içine alan metilasyon tepkimelerinde S- adenosil metiyonin (SAM) ve metiyonin sentezi için bir karbon (metil) sağlamaktadır (Keser ve ark. 2014).



Şekil 2-8: Folik asidin moleküler yapısı (pteroil glutamik asit).

(https://en.wikipedia.org/wiki/Folic_acid)

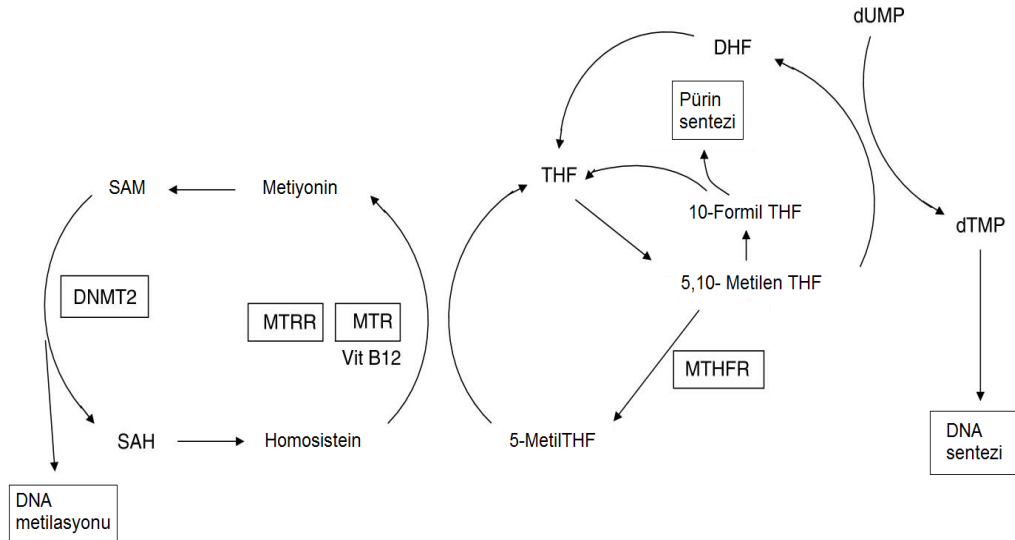
Homosistein, metiyonin metabolizmasıyla oluşan sülfür içeren bir amino asittir. (Şekil 2-9A). Metiyonin, diyetle alınan veya homosisteinin remetilasyonu sonucu oluşan esansiyel bir amino asittir (Şekil 2-9B), (Stipanuk 2004).



Şekil 2-9: Homosisteinin ve metiyoninin moleküler yapısı.

A: Homosistein; B: Metiyonin (<https://en.wikipedia.org/wiki/Homocysteine>, <https://en.wikipedia.org/wiki/Methionine>)

DNA metilasyonu DNA metil transferazlarla gerçekleştirilen enzimatik bir modifikasyondur. Homosistein ve metiyonin DNA metilasyonunda ve sentezinde rol alan önemli iki amino asittir. DNA metilasyonunda metiyonin enzimatik olarak SAM'a dönüşmektedir. DNA metilasyonunda SAM'ın metil grubu DNA metiltransferaz ile koparılıp S-adenozil homosistein (SAH) formuna dönüşür. SAH yapısının adenozil kısmı adenozil homosisteinaz aracılığıyla homosisteine dönüşür (Şekil 2-10), (Das ve Singal 2004).



Şekil 2-10: Folat metabolizması.

MTHFR: Metilentetrahidrofolat redüktaz, MTR: Metiyonin sentetaz, MTRR: Metiyonin sentaz redüktaz, DNMT2: DNA Metil transferaz, SAM: S-adenozil metiyonin, SAH: Sadenozil homosistein, THF: Tetrahidrofolat, DHF: Dihidrofolat, dUMP: Deoksiüridin monofosfat, dTMP: Deoksitimidin monofosfat (Matakidou ve ark. 2007'den değiştirilerek alınmıştır).

Vücuttaki homosisteinin metabolize olma yollarından biri remetilasyonla (yeniden metilasyon geçirerek) homosisteinden metiyonin sentezidir. Homosisteinden metiyonine dönüşüm mekanizmasında; 5-10 metilen tetrahidrofolat, metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) enzimi ile 5-metil tetrahidrofolata dönüştürülür. Metiyonin sentaz redüktaz enzimi (MTRR) ile aktive olan B12 vitaminine bağlı metiyonin sentaz (MTR) enzimi 5-metil tetrahidrofolatın bir metil grubunu homosisteine aktararak metiyonin oluşturulur. 5-metil tetrahidrofolat ise tetrahidrofolata (THF) dönüşür. Tetrahidrofolat tekrar 5-10 metilen tetrahidrofolata dönüşür. Döngü 5-10 metilen tetrahidrofolattan 10-formil tetrahidrofolat sentezi basamağıyla devam ederek DNA sentezine geçer (Şekil 2-10), (Fowler 2001).

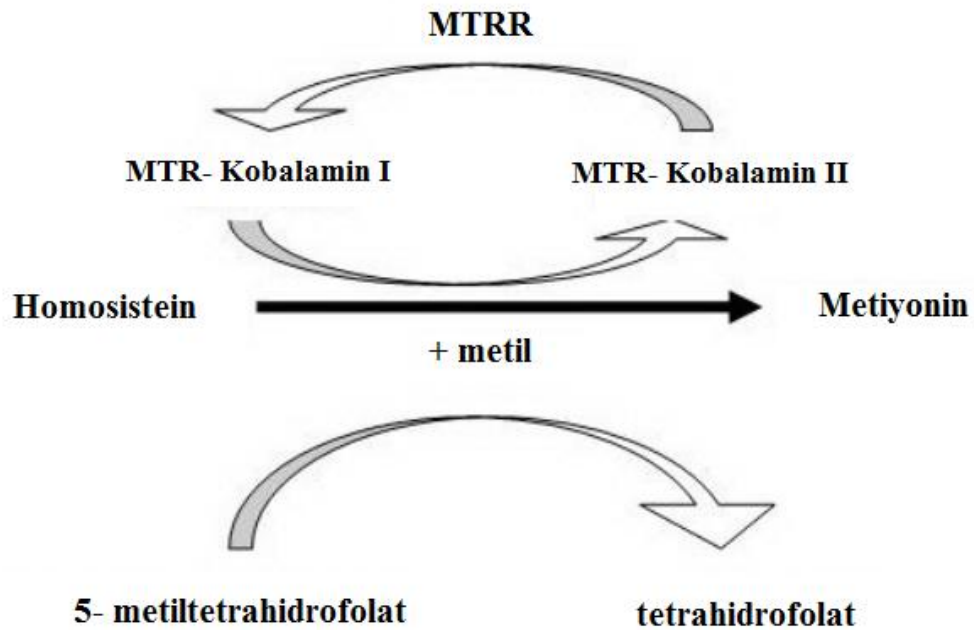
Tümör oluşumunun nedenleri arasında anormal DNA metilasyonu olduğu bilinmektedir. Hücredeki anormal DNA metilasyonu akciğer kanserinin progresyonun ve metastazının sebepleri arasına dahil edilir (Nakamura ve ark. 2003; Shimamoto ve ark. 2004). Folat metabolizmasında yer alan genlerdeki fonksiyonel polimorfizmler DNA metilasyonunu ve tümör supressör genlerini etkilemektedir (Kamiya ve ark. 1998; Paz ve ark. 2002). Böylece bu genlerde meydana gelen polimorfizmler tümör gelişimine potansiyel oluşturmaktadır.

Folat metabolizmasındaki polimorfizmlerde metil eksikliği sağlayarak maligniteyi etkileyebileceği düşünülen iki mekanizma ileri sürülmektedir; 1) DNA hipometilasyonuna sebep olarak protoonkogenlerin aktivasyonu veya tümör supressör genlerinin inaktivasyonu 2) DNA sentezi sırasında yanlış nükleotid yerleştirme ile DNA'ya urasil bağlanması ve bunun sonucu olarak katastrofik DNA onarımı, DNA zincir kırıkları, kromozom hasarlarının ve karsinogenesizin oluşması (Duthie 1999; Choi ve Mason 2000; Ames 2001). Ayrıca folat metabolizmasında rol alan enzimlerin hatalı veya eksik sentezlenmesi plazma homosistein seviyesinin değişmesine ve dolaylı olarak folat metabolizmasının olumsuz etkilenmesine sebep olmaktadır (Akar ve ark. 2001).

Bu sebeplerle kanser teşhisinde ve tedavilerinde folat metabolizması enzimleri dikkate alınmış ve çeşitli çalışmalar yapılmıştır (Walling 2006; Gronberg ve ark. 2009). Folat metabolizmasında enzim kodlayan genlerdeki genetik varyasyonlar enzimlerin fonksiyonlarını etkileyerek anormal metilasyona ve DNA sentezinin inhibisyonuna neden olabilmektedir. Ayrıca bu varyasyonlar tümör oluşumunu ve progresyonunu da etkilemektedir (Kim 1999; Davis ve Uthus 2004).

2.8.1. Metiyonin Sentaz (MTR), Metiyonin Sentaz Redüktaz Enzimleri (MTRR) ve Gen Polimorfizmleri

Folat metabolizmasında 5-metil tetrahidrofolatın metil grubunu homosisteine aktaran metiyonin sentaz enzimi (MTR) (EC: 2.1.1.13), kromozom 1q43'e lokalize olan metiyonin sentaz (*MTR*) geni (gen ID: 4548) tarafından kodlanmaktadır. Metiyonin sentazın metil grubunu aktarması kobalamine (vit B12) bağımlı olarak gerçekleşen bir reaksiyondur (Olteanu ve Banerjee, 2001). Kobalamin metiyonin sentazın kofaktörüdür. Metiyonin sentaz inaktif durumdayken kobalamin-II formundandır. Metiyonin sentazın aktiflenmesinde kromozom 5p15.3-p15.2'de yerleşmiş metiyonin sentaz redüktaz (*MTRR*) (gen ID: 4552) gen ürünü olan metiyonin sentaz redüktaz (*MTRR*) (EC: 1.16.1.8) rol alır. *MTRR* tarafından kobalamin II, kobalamin I formuna indirgenir ve *MTR* aktiflenir (Şekil 2-11); (Olteanu ve Banerjee, 2001; Zeng ve ark., 2011).



Şekil 2-11: MTRR ve homosisteinin metiyonine dönüşümü.

(Zeng ve ark. 2011'den değiştirilerek alınmıştır)

Folat metabolizmasında meydana gelen polimorfizmlerin plazma homosistein düzeyini değiştirerek karsinogenezi etkileyebileceği yapılan çalışmalarda belirtilmektedir. *MTR* geninde meydana gelen en sık polimorfizmlerden biri 2756. pozisyonda A allelinin G allele dönüşümü ile (A>G) aspartik asidin glisin amino

asidine dönüşmesidir (rs: 1805087, Asp919Gly), (Chen ve ark. 1997). Bu polimorfizmin B12 kofaktörünün reaktivasyonunda ve metilasyonda rol alan domainde meydana geldiği için enzimin aktivitesini düşürdüğü ve MTR eksikliğine neden olduğu ileri sürülmektedir (Ma ve ark. 1999; Skibola ve ark. 2002). MTR eksikliği hipometilasyon ve homosistein artışıyla DNA metilasyonunu ve sentezini etkilemektedir. *MTR* 2756 A>G dönüşümü üzerine yapılan birçok çalışmada; G alleli taşıyanlarda plazma homosistein seviyesi A alleli taşıyanlara kıyasla daha düşük bulunmuştur (Ma ve ark. 1999; Anwar ve ark. 2001; Silaste ve ark. 2001). Fakat bir başka çalışmada ise GG varyant genotipi taşıyanlarda daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Chen ve ark. 2001). Folat metabolizmasında rol alan enzimlerdeki genetik bozukluklar plazma homosistein ve metiyonin seviyesinin değişmesine ve dolaylı olarak folat metabolizmasının olumsuz etkilenmesine sebep olmakta ve bu durum anormal metilasyon ve DNA sentezinin inhibisyonuyla sonuçlanmaktadır (Davis ve Uthus 2004).

MTRR geninde meydana gelen polimorfizmler MTR'ın aktiflenmesini etkilemektedir. *MTRR* geninin yaygın varyasyonlarından ve üzerinde en çok çalışılan 66. pozisyonda A>G transpozisyonu ile izolösinin metiyonin amino asidine dönüşmesini sağlayan tek nükleotid değişimidir (rs: 1801394, Ile 22 Met). A>G değişimi *MTRR* enzim eksikliğine neden olmaktadır (Wilson ve ark. 1999). A66G varyant enziminin aktivitesi, değişime uğramamış enzime göre 4 kat daha düşük bulunmuştur (Olteanu ve ark. 2002). Bu durum *MTRR*'ın MTR'a olan affinitesini azaltıp MTR'ın aktiflenmesinde azalmaya neden olarak DNA hipometilasyonuna yol açar. DNA hipometilasyonu bölünme sırasında kromozomların hatalı ayrılması ve hatalı gen ekspresyonu vb gibi hatalara neden olur (Olteanu ve ark. 2002; Zijno ve ark. 2003).

MTRR geni üzerinde meydana gelen diğer polimorfizm 524. bölgede C>T dönüşümü ile serin amino asidinin lösin amino asidine dönüşmesidir (rs: 1532268, Ser175 Leu). 524 C>T polimorfizmi *MTRR*'ın afinitesini azaltarak MTR'ın aktiflenmesini etkilemektedir (Olteanu ve ark. 2002).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Örneklerin Toplanması

Çalışmaya aralarında akrabalık ilişkisi bulunmayan, 199 sağlıklı gönüllü ile İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü'nde akciğer tanısı konmuş olan 193 hasta birey dahil edildi. Sağlıklı ve hasta bireyler ile karşılıklı görüşülerek anamnez raporları tutuldu ve aile fertlerinin geçirmiş oldukları kanser bilgileri ayrıntılı olarak toplanarak hastalara ait formlar oluşturuldu. Kronik bronşit ve tüberküloz geçirmiş sağlıklı bireyler çalışmamızın güvenilirliği açısından çalışmaya dahil edilmedi. Ayrıca, çalışmamıza Türkiye'nin her bölgesinden eşit sayıda örneğin dahil edilmesine dikkat edildi. Akciğer kanserli hastalara ait hastalık bilgileri ve hastalığın prognozu hakkında bilgiler ise İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü arşivinde bulunan dosyalar incelenerek elde edildi.

199 sağlıklı ve 193 akciğer kanserine yakalanmış hastaya ait, toplam 392 DNA örneğinde folat metabolizmasında yer alan metiyonin sentaz ve metiyonin sentaz redüktaz enzimlerini kodlayan *MTR* ve *MTRR* genleri üzerindeki 3 polimorfik bölge incelendi.

3.2. Kullanılan Gereçler

1. Görüntüleme sistemi (Viber Lourmat, Fusion FX5)
2. Hassas terazi (METTLER AE 200)
3. Isı bloğu (Heat Block) (VMR)
4. Isıtıcı manyetik karıştırıcı (Kermanlar)
5. Karıştırıcı (Kermanlar)
6. Mikrosantrifuj (Eppendorf)
7. PCR aleti (Biorad)
8. pH metre (Corning)
9. Pipet takımı (Eppendorf)
10. Soğutmalı santrifüj (Sorvall – 1001, Bausch – Lomb)
11. Spektrofotometre (UVmini-1240, UV/VIS, Shimadzu)
12. Su banyosu (Kermanlar)
13. Yatay elektroforez sistemi (E-C Apparatus Corporation)

3.3. Kullanılan Kimyasal Malzemeler

3.3.1. Kimyasal Maddeler

1. Agaroza (Sigma A-9539)
2. Amonyum asetat (Sigma A-8920)
3. Amonyum klorür (Sigma A-5666)
4. Asetik asit (Glasiyal) (Sigma A-6284)
5. Borik asit (Sigma B-3269)
6. dNTP Set 4x100 µmol (ThermoScientific)
7. Etilendiamintetraasetik asit dihidrat (EDTA – dihidrat) (Sigma E- 5134)
8. Etanol (%95) (Merk – 986)
9. Etidyum bromür (Sigma E-7637)
10. Potasyum bikarbonat (Sigma P-4913)
11. Sodyum dodesil sülfat (SDS) (Sigma L-4340)
12. Sodyum hidroksit (Sigma S- 5881)
13. Sodyum klorür (Sigma S- 3014)
14. Tris baz (Sigma T-8524)

3.3.2. Kullanılan Enzimler

1. Proteinaz – K (Boehringer Mannheim 1000144)
2. DreamTaq DNA Polymerase 500U (ThermoScientific)
3. Nde I, 4000U-20 U/ µl (Promega)
4. Xho I, 3000U-10U/µL (Promega)
5. Hae III, 2500U-10U/µL (Promega)

3.3.3. Kullanılan Primerler

MTR A2756G (Asp 919 Gly) polimorfizmini saptamak için kullanılacak primer dizileri:

(5'- 3'): İleri- 5'-TGTTCCCAGCTGTTAGATGAAAATC-3'

Geri- 5'-GATCCAAAGCCTTTTACACTCCTC-3'

MTRR C524T (Ser175Leu) polimorfizmini saptamak için kullanılacak primer dizileri:

(5'- 3'): İleri-5'-GTCAAGCAGAGGACAAGAG-3'

Geri- 5'-AGAGACTCCTGCAGATGTAC-3'

MTRR A66G (Ile 22 Met) polimorfizmini saptamak için kullanılacak primer dizileri:

(5'-3'): İleri-5'-CAGGCAAAGGCCATCGCAGAAGACAT-3'

Geri- 5'-CACTTCCCAACCAAAATTCTTCAAAG-3'

3.3.4. Kullanılan Diğer Malzemeler

1. DNA size marker (MBI Fermentas)
2. Örnek yükleme tamponu (MBI Fermentas)

3.4. Kullanılan Çözeltiler

3.4.1. DNA İzolasyon Çözeltileri

3.4.1.1. Eritrosit Parçalama Tamponu (Red Blood Cell Lysis buffer)

1. NH_4Cl : 8,74 g, KHCO_3 : 1g, EDTA: 200 μL (0.5 M'lık EDTA'dan alınır) tartımları yapılarak balon jojede distile su ile 1 L'ye tamamlandı.
2. pH'sı 1 N NaOH ile 7.4'e ayarlandı.
3. 120°C de, 20 dakika otoklavda sterilize edilerek +4°C'de saklandı.

3.4.1.2. Disodyum Etilendiamintetraasetat Çözeltisi, EDTANa_2 (0.5 M, pH: 8.0)

1. 186,1 g EDTA tartılarak üzerine 800 mL ddH₂O eklenip manyetik karıştırıcı yardımıyla çözüldü.
2. 1 N NaOH çözeltisi ile pH'sı 8.0'e ayarlanarak ddH₂O ile 1 L'ye tamamlandı.
3. 120°C'de 1 atm basınçta 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi.

3.4.1.3. Sodyum Klorür Çözeltisi, NaCl (4 M)

1. 233,6 g sodyum klorür tartılarak üzerine 800 mL ddH₂O ilave edildi.
2. Manyetik karıştırıcı yardımıyla iyice çözüldükten sonra balon jojeye aktarılarak 1 L'ye tamamlandı.
3. 120°C'de 1 atm basınçta 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi.

3.4.1.4. Lökosit Parçalama Tamponu (White Blood Cell Lysis Buffer)

1. 25 mL NaCl (4 M) ve 50 mL EDTA (0,5 M) çözeltisi balon jojeye konuldu.
2. ddH₂O ile 1 L'ye tamamlandı.
3. 120°C'de 1 atm basınçta 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi ve oda ısısında saklandı.

3.4.1.5. Stok Tris-HCl Tamponu (1 M)

1. 121,1 g trisma baz tartılıp bir behere alındı.
2. 42 μL HCl ile 800 mL ddH₂O eklendi.

3. Manyetik karıştırıcı yardımıyla iyice çözüldükten sonra balon jojeye aktarıldı ve 1 L'ye tamamlandı.
4. 120°C'de 1 atm basınçta 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi.

3.4.1.6. Tris-EDTA Tamponu, TE

1. 10 mL 1 M Tris-HCl ve 20 mL 0,5 M EDTA balon jojeye aktarılıp ddH₂O ile 1 litreye tamamlandı.
2. 120°C'de 1 atm. basınçta 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi.

3.4.1.7. Amonyum Asetat Çözeltisi (9,5 M)

1. 73,22 g amonyum asetat tartılarak beher içinde bir miktar ddH₂O ile çözülp balon jojeye aktarıldı ve ddH₂O ile 100 mL'ye tamamlandı.
2. 0,22 mikronluk filtreden geçirilerek sterilize edildi ve +4°C'de saklandı.

3.4.1.8. Sodyum Dodesil Sülfat Çözeltisi, SDS (% 10)

1. 10 g sodyum dodesil sülfat tartılarak beher içine alındı.
2. Üzerine 80 mL ddH₂O eklendi.
3. pH'sı 7,2'ye ayarlandı.
4. 0,22 mikronluk filtreden geçirilerek sterilize edildikten sonra oda ısısında saklandı.

3.4.1.9. Proteinaz K (20 mg/mL)

1. 20 mg proteinaz K tartılarak steril bir tüp içinde steril ddH₂O ile 1 mL'ye tamamlandı.
2. -20°C'de saklandı.

3.4.2. Agaroz Jel Elektforezinde Kullanılan Çözeltiler

3.4.2.1. Tris-Borik Asit -Etilendiamintetraasetat (TBE) (5X)

1. 54 g trisma baz ve 27,5 g borik asit tartıldı.
2. 20 mL EDTA (0,5 M, pH: 8.0) ve 800 mL ddH₂O ile manyetik karıştırıcıda çözüldükten sonra balon jojeye aktarılaraq ddH₂O ile 1 L'ye tamamlandı.
3. 120°C'de 1 atm basınçta 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi.

3.4.2.2. Etidyum Bromür Çözeltisi, EtBr

1. 10 mg/mL olacak şekilde 10 mL stok çözelti steril su ile hazırlandı.
2. Oda ısısında saklandı.

3.5. Yöntemler

3.5.1. Periferik 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. İnkübasyondan alınan örnekler, 1500 rpm'de 15 dakika santrifüje edilerek süpernatant kısımlar atıldı ve pelletler üzerlerine tekrar 20 mL eritrosit parçalama çözeltisi eklendi. Örnekler tekrar +4°C'de 15 dakika bekletildikten sonra 1500 rpm'de 10 dakika santrifüje edildi ve süpernatantları atılarak pellet kısmı ayrıldı. Pellet üzerine 500 µL SDS (%10), 80 µL proteinaz K (20 mg/mL) ve 9,4 mL lökosit parçalama çözeltisi (WBL) eklenerek 56°C'lik su banyosunda 1 gece inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası her 1 mL örnek başına 0,37 mL olacak şekilde amonyum asetat çözeltisi (9,5 M) eklendikten sonra yavaşça karıştırıldı ve 3000 rpm'de 30 dakika santrifüje edilerek proteinler çöktürüldü (Miller ve ark. 1988). Süpernatant kısım üzerine 1:1 oranında izopropanol eklenerek DNA'nın yoğunlaşması sağlandı. Elde edilen DNA, % 70'lik alkol ile yıkanıp Tris-EDTA çözeltisinde çözülerek +4°C soğutucuya konularak saklandı.

3.5.1.1. Elde Edilen DNA'nın Konsantrasyon ve Kalitesinin Tayini

Elde edilen DNA örneklerinde konsantrasyon tayini yapmadan önce her örnekten 20 µL alınarak üzerine 380 µL TE tamponu (0,5X) eklendi ve 1/20 oranında seyreltilti. Seyreltilen örneklerin 260 nm ve 280 nm dalga boylarında optik dansite (OD) ölçümleri yapıldı ve böylece DNA örneklerinin saflıkları ve konsantrasyonları belirlendi. 50 µg/mL çift iplikçikli DNA içeriğinin 260 nm dalga boyunda 1 OD verdiği kabul edilmektedir. 260 nm'deki ölçüm değeri aşağıdaki formüle uygulanarak DNA konsantrasyonu hesaplandı.

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

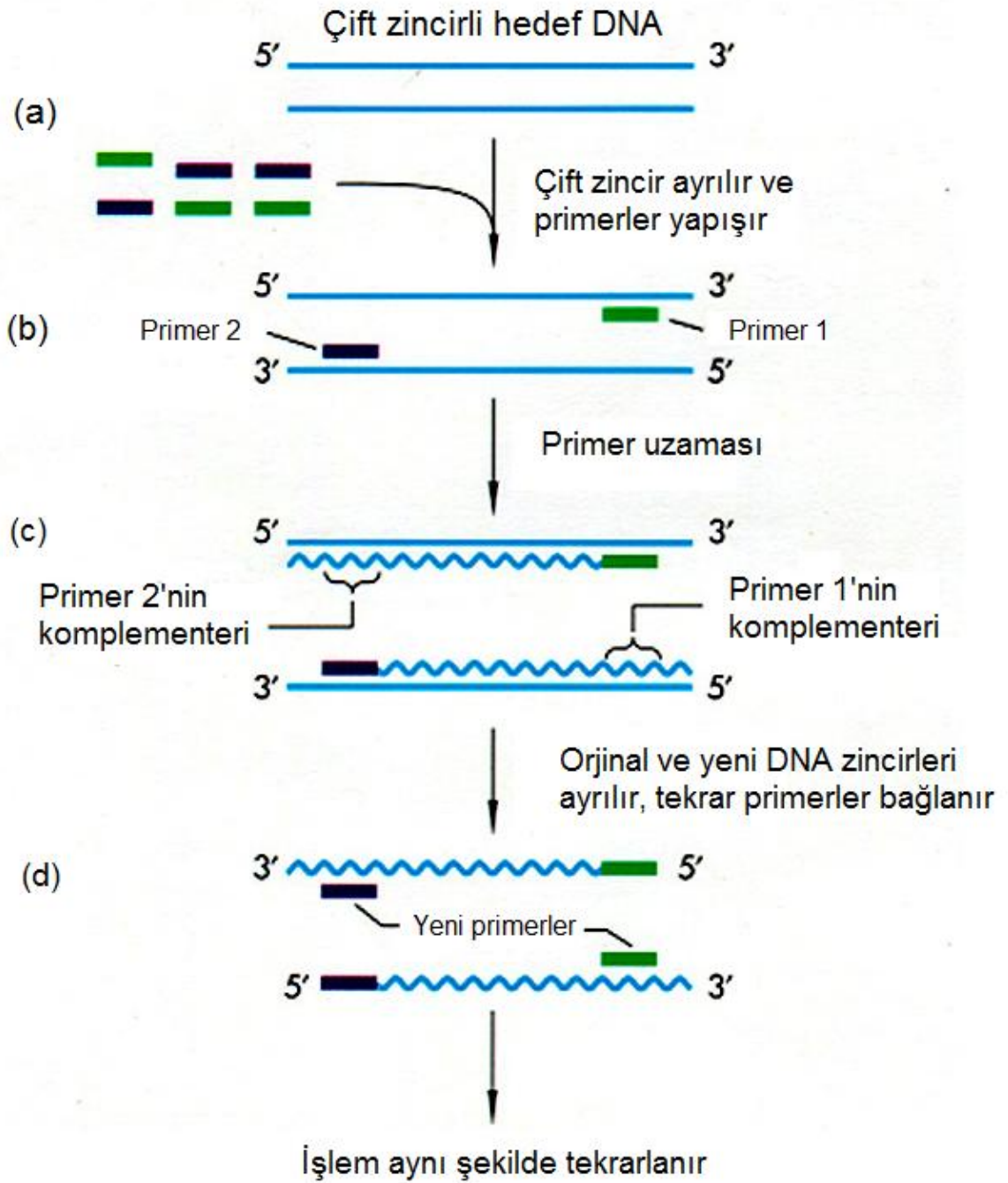
DNA örneklerinin saflığı OD_{260}/OD_{280} oranı kullanılarak belirlendi. Yeterince iyi saflıkta kabul edilen DNA'nın OD_{260}/OD_{280} değeri yaklaşık 1,8'dir. Ortamda fenol veya protein mevcutsa bu oran 1,8'den küçük, OD_{260}/OD_{280} oranı 2'den büyükse ortamda RNA bulunduğu anlamına gelmektedir (Pietro ve ark. 2011).

3.5.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

“Moleküler photocopying” olarak bilinen PZR (Polimeraz zincir reaksiyonu) yöntemi 1985’te Cetus firması araştırmacıları tarafından geliştirilmesinin ardından klonlama, dizi analizi ve DNA haritalaması gibi temel moleküler biyoloji araştırmalarında ve birçok hastalığın DNA temeline dayalı teşhisinde klinik tıpta kullanılmaya başlanmıştır.

PZR, DNA replikasyonunun temel özelliklerine göre tasarlanmıştır. Bu nedenle DNA sentezinin gerçekleşmesi için ortamda kalıp DNA molekülü, primer, dNTP’ler, Taq DNA polimeraz, $MgCl_2$ gibi bileşenlerin bulunması gerekmektedir. Polimeraz zincir reaksiyonunun mekanizmaları; $94^{\circ}C$ - $96^{\circ}C$ ’de çift zincirli DNA molekülünün denatürasyonu, $50^{\circ}C$ - $64^{\circ}C$ ’de primerlerin kalıp DNA’ya bağlanması (annealing) ve $72^{\circ}C$ ’de ortamda bulunan dNTP’lerin DNA polimeraz enzimi ile primerden başlayarak yeni DNA zincirlerinin sentezlendiği uzama (elongation) basamakları olarak kısaca özetlenebilir. Yeni DNA zincirin sentezlenebilmesi için DNA ısı ile denatüre edilerek çift zincirin açılması ve tek zincirli hale gelmesi şarttır. DNA polimeraz senteze başlamak için primer denilen genellikle 16-24 nükleotidlik tek zincirli oligonükleotid dizilerine ihtiyaç duyar. Primer dizileri kalıp DNA üzerindeki tamamlayıcı bölgelerine yapışır. Bu bölge DNA sentezi için başlangıç noktasıdır. Bu olay PZR’nin en önemli kısmıdır ve bu sayede DNA polimeraz enzimi DNA üzerinde aranan bölgeyi doğrudan sentezleyebilmektedir.

DNA zincirlerinin ikisi de sentez için kalıp görevi görür ve her iki zincire de uygun ileri (forward) ve geri (revers) olarak adlandırılan primerler sentezlenir. Bu noktada en uygun primerlerin seçimi PZR için kritik bir öneme sahiptir. İleri ve geri primerlerin bağlanmasının ardından yapıya dNTP’ler katılır ve böylece yeni DNA zinciri, kalıp DNA’ya zıt yönde uzar. Orjinal kalıp DNA’nın ve yeni sentezlenmiş DNA parçasının birbirlerinden ayrılması için tekrar ısıtılır. Primer bağlanması, yeni DNA zincirinin sentezi ve zincir ayrışması işlemleri ard arda devam ederek yeni nesil ürünler sentez edilir. PZR’de bu döngüler defalarca (yaklaşık 20-40 döngü) tekrar edilir. Herbir döngü sonucunda DNA miktarı bir öncekinin iki katına çıkar (Şekil 3-1) (Watson ve ark. 1992).



Şekil 3-1 : PZR uygulamasının şematik gösterimi

(http://biology.kenyon.edu/courses/biol114/Chap08/Chapter_08a.html

'den

değiştirilerek alınmıştır)

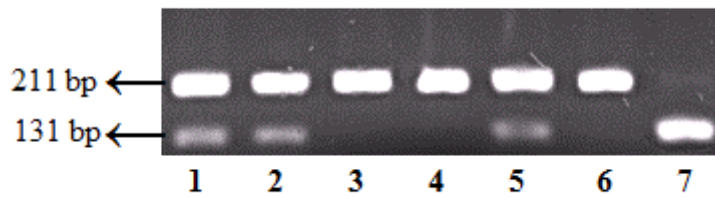
3.5.2.1. MTR 2756 A>G Genotiplerinin Saptanması

MTR 2756 A>G polimorfiziminin bulunduğu DNA dizisi PZR ile çoğaltıldı. PZR karışımını hazırlamak için (25 µL'lik); 100-200 ng DNA, 100 pmol ileri ve geri primerler, 0,2 mM dNTP, 1,5 mM MgCl₂, 1X Buffer ve 1 U Taq DNA polimeraz enzimi kullanıldı. PZR koşulları Zeng ve arkadaşlarının (2011) uyguladıkları yöntem modifiye edilerek belirlendi.

MTR A2756G polimorfizimine ait PZR koşullarındaki gibidir:

- 95°C'de 2 dakika başlangıç denatürasyonu
- 94°C'de 40 saniye denatürasyon
- 61,4°C'de 35 saniye primer bağlanması
- 72°C'de 35 saniye uzama olmak üzere 35 döngü
- 72°C'de 2 dakika son uzama

PZR ürünleri Hae III restriksiyon enzimi kullanılarak 2 saatlik inkübasyonla kesildi ve %2'lik agaroz jel elektroforezinde yürütüldü. DNA fragmentleri EtBr ile boyandıktan sonra UV floresan altında görüntülendi. *MTR* varyant A alleli 211 bp'lik tek bir bant, varyant G alleli ise 131 ve 80 bp olmak üzere iki bant vermektedir (Şekil 3-2).



Şekil 3-2: *MTR* 2756 A>G genotiplerinin agaroz jel elektroforezinde görüntülenmesi.

Örnek 3,4,6'de homozigot AA genotipi, örnek 1,2,5'de heterozigot AG genotipi, örnek 7'de homozigot GG genotipi gösterilmektedir. A alleli 211 bp'de, G alleli: 131 ve 80bp'de bant vermektedir.

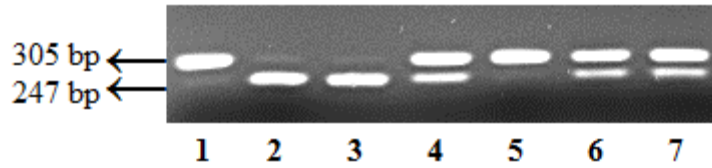
3.5.2.2. MTRR 524 C>T Genotiplerinin Saptanması

MTRR 524 C>T polimorfiziminin bulunduğu DNA dizisi PZR ile çoğaltıldı. PZR karışımını hazırlamak için (25 µL'lik); 100-200 ng DNA, 100 pmol ileri ve geri primerler, 0,2 mM dNTP, 1,5 mM MgCl₂, 1X Buffer ve 1 U Taq DNA polimeraz enzimi kullanıldı. PZR koşulları Zeng ve arkadaşlarının (2011) uyguladıkları yöntem modifiye edilerek belirlendi.

MTRR C524T polimorfizimine ait PZR koşulu:

- 95°C'de 5 dakika başlangıç denatürasyonu
- 95°C'de 30 saniye denatürasyon
- 59,3°C'de 30 saniye primer bağlanması
- 72°C'de 30 saniye uzama olmak üzere 35 döngü
- 72°C'de 10 dakika son uzama

PZR ürünleri *Xho*I restriksiyon enzimi kullanılarak 2 saatlik inkübasyonla kesildi ve %2'lik agaroz jel elektroforezinde yürütüldü. DNA fragmentleri EtBr ile boyandıktan sonra UV floresan altında görüntüledi. *MTRR* varyant C alleli 247 ve 62 bp uzunluğunda iki bant, T alleli ise 309 bp uzunluğunda tek bir bant vermektedir (Şekil 3-3).



Şekil 3-3: *MTRR* 524 C>T genotiplerinin agaroz jel elektroforezinde görüntülenmesi.

Örnek 2,3'de homozigot CC genotipi, örnek 4,6,7'de heterozigot CT genotipi, örnek1'de homozigot TT genotipi gösterilmektedir. C allel 247 ve 62bp'de, T allel: 305bp'de bant vermektedir.

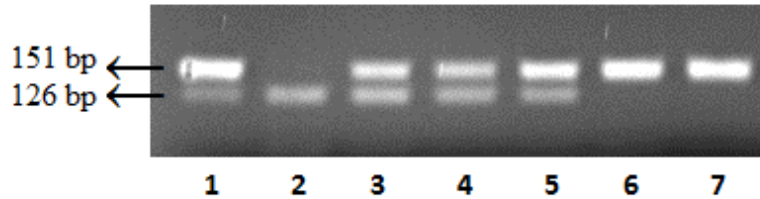
3.5.2.3. MTRR 66 A>G Genotiplerinin Saptanması

MTRR geninde 66 A>G polimorfiziminin gözlemlendiği DNA dizisi PCR ile çoğaltıldı. DNA örneklerinin çoğaltılmasında hazırlanan 25 µl'lik PCR karışımında; 100-200 ng DNA, 100 pmol primer (forward-reverse), 0.2 mM dNTP, 1.5 mM MgCl₂, x1 Buffer ve 1 U Taq DNA polimeraz enzimi bulunmaktadır. PCR koşulları Zeng ve arkadaşlarının (2011) uyguladıkları yöntem değiştirilerek belirlendi.

MTRR A66G plimorfizimine ait PCR koşulu:

- 95°C'de 3 dakika başlangıç denatürasyonu
- 94°C'de 40 saniye denatürasyon
- 60°C'de 30 saniye primer bağlanması
- 72°C'de 30 sn uzama olmak üzere 35 döngü
- 72°C'de 10 dakika son uzama

PZR ürünleri NdeI restriksiyon enzimi ile 1 saatlik inkübasyonla kesildi ve % 3'lük agaroz jel elektroforezinde yürütüldü. DNA fragmentleri EtBr ile boyandıktan sonra UV floresan altında görüntüldü. *MTRR* varyant A alleli 126 ve 25 bp, mutasyon içeren G alleli 151 bp büyüklüğünde iki bant vermektedir (Şekil 3-4).



Şekil 3-4: MTRR 66 A>G genotiplerinin agaroz jel elektroforezinde görüntülenmesi.

Örnek 2'de homozigot AA genotipi, örnek 1,3,4,5,'de heterozigot AG genotipi, örnek 6,7'de homozigot GG genotipi gösterilmektedir. A alleli: 25 ve 126 bp'de, G alleli: 151 bp'de bant vermektedir.

3.6. İstatistiksel Değerlendirmeler

Bu çalışma kapsamında yapılan genotip korelasyonları SPSS 21 (Statistical Package for the Social Sciences) programı yardımıyla kurulmuştur. Haplotipler genotip verilerinden oluşturulmuştur ve “Linkage Disequilibrium” (LD) ve haplotip analizleri ise HaploView 4.2 programı kullanılarak yapılmıştır.

4. BULGULAR

Bu çalışmada, 199 sağlıklı ve 193 akciğer kanseri tanısı konmuş hastaya ait toplam 392 DNA örneğinde, metiyonin sentaz (*MTR*) ve metiyonin sentaz redüktaz (*MTRR*) genlerindeki polimorfik bölgeler incelendi ve genotip korelasyonları kuruldu.

Çalışmaya aralarında akrabalık ilişkisi bulunmayan sağlıklı gönüllüler ile İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü'nde patolojik olarak akciğer kanseri tanısı konmuş olan hasta bireyler dahil edildi. Sağlıklı ve hasta bireylere ait anamnez raporları ayrıntılı olarak tutuldu. Kronik bronşiti olan ve tüberküloz geçirmiş sağlıklı bireyler araştırmamızın güvenilirliği açısından çalışmaya dahil edilmedi. Akciğer kanserli hastalardaki evreleme, metastaz, tümör büyüklüğü gibi bilgiler İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü arşivinde bulunan dosyalar incelenerek toplandı. Gen frekanslarını doğru bir şekilde belirleyebilmek için sağlıklı ve hasta gruplar arasındaki yaş dağılımlarında denge kuruldu.

Periferik kandan izole edilen DNA örneklerinde; polimeraz zincir reaksiyonu ile *MTR* Asp919Gly (rs: 1805087, *MTR* A66G), *MTRR* Ser175Leu (rs: 1532268, *MTRR* C524T) ve *MTRR* Ile22Met (rs: 1801394, *MTRR* A66G) genotipleme yapıldı.

Kontrol ve hasta grubunda *MTR* 2756, *MTRR* 524 ve *MTRR* 66 allel ve genotip frekansları belirlendi. Kontrol grubuna ait allel-genotip frekansları akciğer kanserli hastaların allel-genotip frekansları ile karşılaştırıldı. Sigara ve alkol kullanımına, akciğer kanserinin histolojik tiplerine ve evrelemeye bağlı olarak genotip dağılımlarındaki değişiklikler incelendi.

Yapılan istatistiksel hesaplamalara göre elde edilen sonuçlar şu şekildedir;

Kontrol ve hasta gruplarının demografik özellikleri Tablo 4.1'de verilmiştir. Buna göre vücut kitle indeksleri hasta bireylerde kontrole göre anlamlı derecede düşük (p : 0,0001), sigara kullanımı hasta bireylerde kontrole göre (Grup 2 için; p : 0,0001, Risk oranı (RO): 5,173, %95 Güvenlik aralığı (GA): 2,598-10,298) istatistiksel olarak daha yüksek bulunmuştur. Ailedeki pozitif kanser hikayesinin (p : 0,009, RO: 1,775, %95 GA: 1,151-2,738) ve ailedeki pozitif akciğer kanser hikayesinin (p : 0,001, RO: 6,206, %95 GA: 3,016-12,768) hasta grubunda kontrole göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Tablo 4-1: Kontrol ve hasta grupları içindeki demografik dağılımlar

	Kontrol (%)	Hasta (%)	p değeri
Toplam Örnek Sayısı	199	193	
BMI±SD	25,26±3,03	23,09±3,63	0,0001^a
Yaş±SD	57,27±10,55	58,41±9,14	0,268 ^a
Cinsiyet			
Kadın	27(13,57)	20(10,36)	0,329 ^e
Erkek	172(86,43)	173(89,6)	
Sigara			
Hiç içmemiş	51 (25,8)	11 (6,3)	0,430 ^b
Bırakmış *	65 (32,8)	88 (50,3)	0,001^c
İçiyor	82 (41,4)	76 (43,4)	
Bilinmiyor	1	18	
Alkol			
Kullanıyor	97 (48,9)	86 (52,1)	0,552 ^e
Kullanmıyor	101 (51,1)	79 (47,9)	
Bilinmiyor	1	28	
Ailede Kanser Hikayesi			
Kanser var	55 (27,7)	71 (40,57)	0,009^e
Kanser yok	143 (72,3)	104 (63,3)	
Bilinmiyor	1	18	
Ailede Akciğer Kanseri			
Kanser var	10 (5)	44 (24,7)	0,001^d
Kanser yok	189 (95)	134 (75,3)	
Bilinmiyor	0	15	
Kanser Hikayesi			
1. Dereceden akraba (+)	41 (78,8)	50 (69,4)	0,242 ^d
2., 3. Dereceden akraba (+)	11 (21,2)	22 (30,6)	
Akciğer Kanseri Hikayesi			
1. Dereceden akraba (+)	7 (70)	29 (67,4)	1,000 ^d
2., 3. Dereceden akraba (+)	3 (30)	14 (32,6)	

a. Independent Student's t-test uygulandı

b. Grup 1: a. Bırakmış + hiç içmemiş; b. İçiyor şeklinde gruplandırılarak Ki-Kare Testi uygulandı.

c. Grup 2: a. Bırakmış + içiyor; b. Hiç içmemiş şeklinde sınıflandırılarak Ki-Kare Testi uygulandı.

d. Fisher's exact test uygulandı

e. Ki-Kare Testi uygulandı

* 1 yıldan fazla süredir içmeyenler bırakmış olarak kabul edildi

MTRR 66G (+) alleli (GG+AG) taşıyıcılığının, hasta grubunda kontrole göre anlamlı olarak yüksek olduğu bulunmuştur (p: 0,042, RO: 0,438, %95 GA: 0,194-0,987). Diğer allel ve genotiplerin hasta ve kontrol grupları içindeki dağılımlarında belirgin bir farklılık gözlenmemiştir (Tablo 4-2).

Tablo 4-2: *MTR* ve *MTRR* genotiplerinin kontrol ve akciğer kanserli hasta gruplarındaki dağılımları

	Kontrol (%), n=199	Hasta (%), n=193	<i>p</i> değeri
<i>MTR</i> 2756 A>G			
AA Genotipi	122 (61,3)	114 (59,1)	
AG Genotipi	73 (36,7)	72 (37,3)	
GG Genotipi	4 (2,0)	7 (3,5)	
A (+)	195 (98)	187 (96,9)	0,490 ^b
A (-)	4 (2,0)	6 (3,1)	
G (+)	79 (39,7)	79 (40,9)	0,803 ^a
G (-)	120 (60,3)	114 (59,1)	
<i>MTRR</i> 524 C >T			
CC Genotipi	87 (43,7)	85 (44,0)	
CT Genotipi	81 (40,7)	83 (43,0)	
TT Genotipi	31 (16,1)	25 (13,0)	
C (+)	168 (84,4)	168 (87,0)	0,458 ^a
C (-)	31 (15,6)	25 (13,0)	
T (+)	112 (56,3)	108 (55,9)	0,949 ^a
T (-)	87 (43,7)	85 (44,1)	
<i>MTRR</i> 66 A >G			
AA Genotipi	20 (10,0)	11 (5,7)	
AG Genotipi	143 (71,9)	144 (74,6)	
GG Genotipi	36 (18,1)	38 (19,7)	
A (+)	163 (81,9)	155 (80,3)	0,686 ^a
A (-)	36 (18,1)	38 (19,7)	
G (+)	179 (89,9)	184 (95,3)	0,042^a
G (-)	20 (10,1)	9 (4,7)	

a. İstatiksel hesaplamalarda Ki-Kare Testi uygulandı; b. Fisher's exact test uygulandı

A(+): AA+AG; A(-): GG; G(+): GG+AG; G(-): AA; C(+): CC+CT; C(-): TT; T(+): TT+CT; T(-): CC

Allellerin hasta ve kontrol grubu içindeki dağılımlarına bakıldığında herhangi bir farklılığın olmadığı saptandı (Tablo 4-3).

Tablo 4-3: Allellerin hasta ve kontrol grupları içindeki dağılımları

rs	SNP	İlgili Alleller	Hasta- Kontrol oranları	Ki Kare	p değeri
1801394	<i>MTRR</i> 66 A>G	G	0,570; 0,540	0,702	0,4021
1532268	<i>MTRR</i> 524 C>T	C	0,655; 0,641	0,187	0,6658
1805087	<i>MTR</i> 2756 A>G	G	0,223; 0,204	0,435	0,5098

SNP : Single nucleotide polymorphism, tek nokta polimorfizmi

Allellerin hasta ve kontrol grupları içindeki minör allel frekansları incelendiğinde ise, *MTRR* A66G polimorfizminin minör allel frekansının Hardy-Weinberg eşitliğine uymadığı belirlenmiştir (Tablo 4-4).

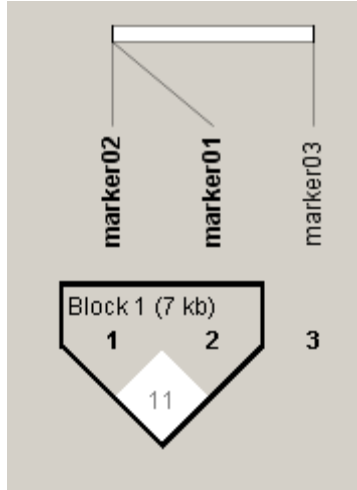
Tablo 4-4: Hasta ve kontrol gruplarındaki minör allel frekansları

SNP	Pozisyon	HW p değeri	Alleller	MAF
<i>MTRR</i> 66 A>G	7860860	3,3345E-22	G:A	0,445
<i>MTRR</i> 524 C>T	7868066	0,12	A:G	0,352
<i>MTR</i> 2756 A>G	13276265	0,0542	A:G	0,213

MAF, minör allel frekansı

SNP : Single nucleotide polymorphism, Tek nokta polimorfizmi

HW : Hardy Weinberg



Şekil 4-1: MTR ve MTRR allellerinin ikili “Linkage Disequilibrium (LD)” plot'ları

marker02: MTRR 66A>G; marker01: MTRR524C>T; marker03: MTR 2756 A>G

Yaptığımız haplotip analizinde marker 2 ve marker 1 arasında düşük düzeyli ilişkinin varlığı tespit edilmiş olup (D' : 0,113; LOD (risk logaritması, logarithm of odds): 0,3; r^2 : 0,006) yüksek r^2 değeri daha koyu renkli blokların oluşmasına sebep olur ki buda anlamlılığı artırır (Şekil 4-1); haplotipler arasında istatistiksel anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir (Tablo 4-5).

Tablo 4-5: MTR ve MTRR genlerinin hasta ve kontrol gruplarındaki haplotip frekansları

Haplotip No.	Haplotipler	Frekanslar				
		Total	Hasta	Kontrol	Ki Kare	p değeri
1	MTRR 66G: MTRR 524C	0,342	0,363	0,321	1,578	0,209
2	MTRR 66A: MTRR 524C	0,306	0,292	0,320	0,714	0,398
3	MTRR 66G: MTRR 524T	0,213	0,206	0,219	0,192	0,661
4	MTRR 66A: MTRR 524T	0,139	0,138	0,140	0,006	0,938

Sadece sigara içmeyen bireyler seçilerek hasta ve kontrol gruplarındaki genotip dağılımları incelendiğinde;

MTRR 524C(+) alleli (CC+CT), sigara içmeyen kontrol grubu içinde sigara içmeyen hasta grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (p : 0,011; RO: 6,429, % 95 GA: 1,611-25,648) (Tablo 4-6).

Sadece sigara içen bireyler seçilerek hasta ve kontrol gruplarındaki genotip dağılımları incelendiğinde;

MTRR 66G(+) alleli, sigara içen hasta grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (p : 0,030, RO: 0,362, %95 GA: 0,144-0,906) (Tablo 4-6).

Tablo 4-6: *MTR* ve *MTRR* genotiplerinin sigara kullanımlarına göre kontrol ve hasta grupları içindeki dağılımı

	Sigara içmeyen			Sigara içen		
	Kontrol (%)	Hasta (%)	p değeri	Kontrol (%)	Hasta (%)	p değeri
<i>MTR</i> 2756 A>G						
A (+)	50 (96,2)	12 (100)	1,000 ^a	143 (98,6)	157 (96,3)	0,205 ^a
A (-)	2 (3,8)	0		2 (1,4)	6 (3,7)	
G (+)	20 (38,5)	5 (41,7)	1,000 ^a	58 (40)	68 (41,7)	0,760 ^b
G (-)	32 (61,5)	7 (58,3)		87 (60)	95 (58,3)	
<i>MTRR</i> 524 C>T						
C (+)	45 (86,5)	6 (50)	0,011^a	121 (83,4)	146 (89,6)	0,114 ^b
C (-)	7 (13,5)	6 (50)		24 (16,6)	17 (10,4)	
T (+)	27 (52)	8 (66,6)	0,522 ^a	85 (58,6)	89 (54,6)	0,478 ^b
T (-)	25 (48)	4 (33,3)		60 (41,4)	74 (45,4)	
<i>MTRR</i> 66 A>G						
A (+)	40 (76,9)	12 (100)	0,101 ^a	121 (83,5)	130 (79,8)	0,405 ^b
A (-)	12 (23,1)	0		24 (16,5)	33 (20,2)	
G (+)	49 (94,2)	11 (91,7)	0,574 ^a	129 (89,0)	156 (95,7)	0,030^a
G (-)	3 (5,8)	1 (8,3)		16 (11,0)	7 (4,3)	

a. Fisher's exact test uygulandı; b. Ki-Kare Testi uygulandı

A(+): AA+AG, A(-): GG; G(+): GG+AG, G(-): AA; C(+): CC+CT, C(-): TT; T(+): TT+CT, T(-): CC

Hasta ve kontrol gruplarının kendi içlerinde 25 paket yıl'dan (pkyl) az ve çok sigara içenlere göre sınıflandırıldığında (Tablo 4-7);

Hasta grubu içinde *MTRR* 524C(+) alleli 25 pkyl'dan az içenlerde, 25 pkyl'dan çok içenlere göre yüksek olduğu bulunmuştur ancak bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildir (p : 0,078, RO:0,871, %95 GA: 0,816-0,930).

Tablo 4-7: Hasta ve kontrol gruplarında *MTR* ve *MTRR* genotiplerinin 25 pkyl'dan az ve çok sigara kullanımlarına göre dağılımları

	Kontrol			Hasta		
	< 25 pk yıl	>25 pkyl	p değeri	< 25 pkyl	>25 pkyl	p değeri
<i>MTR</i> 2756 A>G						
A (+)	93 (98,9)	49 (98)	1,000 ^a	22 (95,6)	128 (97)	0,557 ^a
A (-)	1(1,1)	1 (2)		1 (4,4)	4 (3)	
G (+)	36 (38,3)	21 (42)	0,665 ^b	12 (52,2)	51 (38,6)	0,254 ^a
G (-)	58 (61,7)	29 (58)		11 (47,8)	81 (61,4)	
<i>MTRR</i> 524 C>T						
C (+)	79 (84,0)	41 (82)	0,639 ^a	23 (100)	115 (87,1)	0,078 ^a
C (-)	15 (16,0)	9 (18)		0	17 (12,9)	
T (+)	52 (55,3)	34 (68)	0,140 ^a	12 (52,2)	73 (55,3)	0,823 ^a
T (-)	42 (44,7)	16 (32)		11 (47,8)	59 (44,7)	
<i>MTRR</i> 66 A>G						
A (+)	77 (82)	43 (86)	0,642 ^a	19 (82,6)	103(78)	0,785 ^a
A (-)	17 (18)	7 (14)		4 (17,4)	29 (22)	
G (+)	85 (90,4)	42 (84)	0,285 ^a	22 (95,7)	127 (96,2)	1,000 ^a
G (-)	9 (9,6)	8 (16)		1 (4,3)	5 (3,8)	

a. Fisher's exact test uygulandı; b. Ki-Kare Testi uygulandı.

Parentez içinde gösterilen veriler yüzde değerlerdir.

A(+): AA+AG, A(-): GG; G(+): GG+AG, G(-): AA; C(+): CC+CT, C(-): TT; T(+): TT+CT, T(-): CC

25 pkyıl'dan az ve çok sigara içen bireylerin genotip dağılımlarına bakıldığında (Tablo 4-8);

MTRR 524C(+) alleli 25 pkyıl'dan az içen hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla daha yüksek oranda bulunmaktadır (p : 0,040, RO: 1,190, %95 GA: 1,090-1,299).

MTRR 66G(+) alleli, 25 pkyıl'dan fazla sigara içen hasta grubunda kontrole göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (p : 0,045, RO: 0,283, %95 GA: 0,090-0,891).

Tablo 4-8: 25 pkyıl'dan az ve çok sigara kullanan bireylerde, *MTR* ve *MTRR* genotiplerinin kontrol ve hasta gruplarına göre dağılımları

	< 25 pkyıl			> 25 pkyıl		
	Kontrol(%)	Hasta (%)	p değeri	Kontrol (%)	Hasta (%)	p değeri
<i>MTR</i> 2756 A>G						
A (+)	93 (98,9)	22 (95,7)	0,356 ^a	48 (98,0)	129 (97,0)	1,000 ^a
A (-)	1 (1,1)	1 (4,3)		1 (2,0)	4 (3,0)	
G (+)	36 (38,3)	12 (52,2)	0,245 ^a	21 (42,9)	51 (38,3)	0,581 ^b
G (-)	58 (61,7)	11 (47,8)		28 (57,1)	82 (61,7)	
<i>MTRR</i> 524 C>T						
C (+)	79 (84,0)	23 (100)	0,040^a	40 (81,6)	116 (87,2)	0,347 ^a
C (-)	15 (16,0)	0		9 (18,4)	17 (12,8)	
T (+)	52 (55,3)	12 (52,2)	0,819 ^a	33 (67,3)	74 (55,6)	0,120 ^b
T (-)	42 (44,7)	11 (47,8)		16 (32,7)	59 (44,4)	
<i>MTRR</i> 66 A>G						
A (+)	77 (82)	19 (82,6)	1,000 ^a	42 (85,7)	104 (78,2)	0,300 ^a
A (-)	17 (18)	4 (17,4)		7 (14,3)	29 (21,8)	
G (+)	85 (90,4)	22 (95,7)	0,684 ^a	42 (85,7)	127 (95,5)	0,045^a
G (-)	9 (9,6)	1 (4,3)		7 (14,3)	6 (4,5)	

a. Fisher's exact test uygulandı; b. Ki-Kare Testi uygulandı

A(+): AA+AG, A(-): GG; G(+): GG+AG, G(-): AA; C(+): CC+CT, C(-): TT; T(+): TT+CT, T(-): CC

MTRR 66A(+) alleli taşıma, akciğer kanserinin ileri evresinde erken evreye göre yüksek bulunmasına rağmen bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildir (p : 0,083, RO: 2,582, %95 GA: 0,960-6,950) (Tablo 4-9).

Tablo 4-9: Akciğer kanserinin erken ve ileri evrelerindeki *MTR* ve *MTRR* genotip dağılımları

	Akciğer Kanseri		
	Erken Evre* (%)	İleri Evre* (%)	<i>p</i> değeri ^a
MTR 2756 A>G			
A (+)	22 (95,7)	108 (97,3)	0,534
A (-)	1 (4,3)	3 (2,7)	
G (+)	9 (39,1)	42 (37,9)	1,000
G (-)	14 (60,9)	69 (62,1)	
MTRR 524 C>T			
C (+)	20 (87)	94 (84,7)	1,000
C (-)	3 (13)	17 (15,3)	
T (+)	14 (60,9)	58 (52,3)	0,498
T (-)	9 (39,1)	53 (47,7)	
MTRR 66 A>G			
A (+)	15 (65,2)	92 (82,9)	0,083
A (-)	8 (34,8)	19 (17,1)	
G (+)	22 (95,7)	104 (93,7)	1,000
G (-)	1 (4,3)	7 (6,3)	

a. Fisher's exact test uygulandı. * T1 ve T2 = Erken evre; T3 ve T4 = İleri evre olarak kabul edildi.

A(+): AA+AG, A(-): GG; G(+): GG+AG, G(-): AA; C(+): CC+CT, C(-): TT; T(+): TT+CT, T(-): CC

MTRR 66A(+) alleli, sigara içen ileri evredeki hasta grubunda sigara içen erken evredekilere göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (p : 0,044, RO: 2,753, %95 GA: 1,001-7,570) (Tablo 4-10).

Tablo 4-10: Sigara kullanımlarına göre erken ve ileri evredeki *MTR* ve *MTRR* genotip dağılımları

	Sigara içen			Sigara içemeyen		
	Erken evre (%)	İleri evre (%)	p değeri ^a	Erken evre (%)	İleri evre (%)	p değeri ^a
<i>MTR</i> 2756 A>G						
A (+)	20 (95,2)	101 (97,1)	0,526	2 (100)	8 (100)	
A (-)	1 (4,8)	3 (2,9)		0	0	
G (+)	9 (42,9)	38 (36,5)	0,626	0	4 (50)	0,467
G (-)	12 (57,1)	66 (63,5)		2 (100)	4 (50)	
<i>MTRR</i> 524 C>T						
C (+)	19 (90,5)	90 (86,5)	1,000	1 (50)	4 (50)	1,000
C (-)	2 (9,5)	14 (13,5)		1 (50)	4 (50)	
T (+)	21 (57,1)	55 (52,9)	0,813	2 (100)	4 (50)	0,467
T (-)	9 (42,9)	49 (47,1)		0	4 (50)	
<i>MTRR</i> 66 A>G						
A (+)	13 (61,9)	85 (81,7)	0,044	2 (100)	8 (100)	
A (-)	8 (38,1)	19 (18,3)		0	0	
G (+)	21 (100)	97 (93,3)	0,600	1 (50)	8 (100)	0,200
G (-)	0	7 (6,7)		1 (50)	0	

a. Fisher's exact test uygulandı. * T1 ve T2 = Erken evre; T3 ve T4 = İleri evre olarak kabul edildi
A(+): AA+AG, A(-): GG; G(+): GG+AG, G(-): AA; C(+): CC+CT, C(-): TT; T(+): TT+CT, T(-): CC

MTR A2756G, *MTRR* C524T ve *MTRR* A66G genlerinin genotip dağılımları kontrol grubu ile akciğer kanserinin ayrı ayrı altipleri arasında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak bir anlamlılık olmadığı saptandı. Akciğer kanserinin alt tiplerinin genotip dağılımları kendi içinde karşılaştırıldığında *MTRR* 66A(+) alleli, epidermoid tipi akciğer kanseri hastalarda küçük hücreli akciğer kanseri hastalara kıyasla yüksek bulunmuştur (p : 0,054, RO: 3,097, %95 GA: 1,032-9,290) (Tablo 4-11). Bu değer anlamlılığa çok yakın olmasına karşın istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Epidermoid-adenokarsinom ve küçük hücreli-adenokarsinom alt tipleri de birbirleri ile kıyaslanmıştır, ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadığı için tabloda gösterilmemiştir.

Tablo 4-11: *MTR* ve *MTRR* genotiplerinin akciğer kanserinin alt tiplerine göre dağılımı

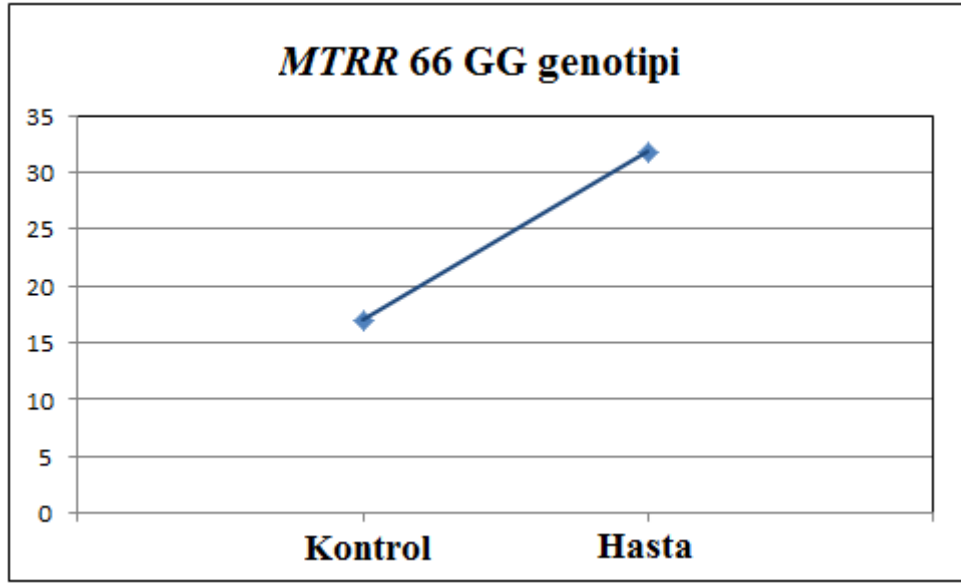
	Küçük hücreli	Epidermoid	<i>p</i> değeri ^a
<i>MTR</i> 2756 A>G			
A (+)	22 (100)	80 (95,2)	0,578
A (-)	0	4 (4,8)	
G (+)	10 (45,5)	38 (45,2)	1,000
G (-)	12 (54,5)	46 (54,8)	
<i>MTRR</i> 524 C>T			
C (+)	22 (100)	74 (88,1)	0,117
C (-)	0	10 (11,9)	
T (+)	10 (45,5)	51 (60,7)	0,231
T (-)	12 (54,5)	33 (39,3)	
<i>MTRR</i> 66 A>G			
A (+)	15 (68,2)	73 (86,9)	0,054
A (-)	7 (31,8)	11 (13,1)	
G (+)	22 (100)	80 (95,2)	0,578
G (-)	0	4 (4,8)	

a. Fisher's exact test uygulandı.

A(+): AA+AG, A(-): GG; G(+): GG+AG, G(-): AA; C(+): CC+CT, C(-): TT; T(+): TT+CT, T(-): CC

Her üç polimorfik bölgeye ait genotipler akciğer kanserinde küçük hücreli ve küçük hücreli dışı olarak sınıflandırılıp incelendiğinde;

MTRR 66GG genotipi küçük hücreli akciğer kanserinde, küçük hücreli olmayan akciğer kanserine göre yüksek bulunmuştur fakat bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir (*p*: 0,140, RO: 0,439, %95 GA: 0,163-1,182) (Şekil 4-2).



Şekil 4-2: *MTRR 66 GG* genotipinin kontrol ve hasta bireylerdeki yüzde dağılımı.

5. TARTIŞMA

Dünya çapında sıklıkla meydana gelen ve mortalitesinin en sık görüldüğü kanserlerden biri akciğer kanseridir (Ferlay ve ark. 2015; Torre ve ark. 2015). Erkeklerde görülme sıklığı prostat kanserinden sonra kadınlarda ise meme kanserinden sonra ikinci sırada yer almaktadır (Ferlay ve ark. 2015). Risk–hastalık bazlı çalışmalarda, akciğer kanserine sebep olan çevresel risk faktörleri arasında ilk sırayı sigara almaktadır (Hecht 2012; Torre ve ark. 2015). Sigara bileşimindeki karsinojenler DNA’da hasara yol açmakta ve karsinojeneze sebep olmaktadır. Nitrozamin 4-metilnitrozamino-1-3-piridil-1-bütanon (NNK; nicotine-derived nitrosamine ketone) akciğerde güçlü karsinojen etkiye sahip olan maddelerden biridir. Özellikle akciğer kanseri alttiplerinden en sık görülen adenokarsinom için güçlü bir tetikleyecidir (Akopyan ve Bonavida 2006).

Sigara dışında yaş, beslenme şekli, alkol tüketimi ve fiziksel aktivite gibi diğer çevresel faktörler de akciğer kanseri oluşumuna neden olabilmektedir. Çevresel faktörlerin yanısıra kişinin genetik yapısı da karsinojenizde oldukça önemlidir (Alberg ve ark. 2005; Wiseman 2008; Sakoda ve ark. 2011). Yapılan aile (pedigree) çalışmalarında ailesinde akciğer kanseri olanlarda hastalık riskinin 2,4 kat arttığı gösterilmektedir (Wei ve Spitz 1997).

Tek karbon metabolizması veya folat metabolizması olarak bildiğimiz döngü, DNA metilasyonunda ve DNA sentezinde önemli rol oynamaktadır. Bu metabolizmada görev alan genlerdeki varyasyonlar enzim fonksiyonlarını etkileyerek anormal DNA metilasyonuna (hipermetilasyon /hipometilasyon) veya DNA sentezinin inhibisyonuna neden olabilmektedir (Kim 1999; Davis ve Uthus 2004). Bununla beraber bu fonksiyonel polimorfizmler sonucunda oluşan DNA metilasyonundaki düzensizliklerin, tümör supressör genlerini veya DNA onarım bölgelerini etkileyerek tümör oluşumuna ve progresyonuna neden olabileceği belirtilmiştir (Esteller ve ark. 2000). Folat metabolizmasında yer alan enzimler üzerindeki polimorfizmler enzimin ektivitesini azalttığı gibi aynı zamanda arttırabilmektedir. Yapılan çalışmalarda *MTR* 2756 A>G gen polimorfizminin enzim aktivitesini değiştirdiği ve bunun sonucu plazma folat ve homosistein seviyesi dengesizliğiyle bir çok kanserin gelişimine neden olabileceği gösterilmiştir (Goode ve ark. 2004). *MTRR* 66 A>G polimorfizminin ise *MTRR*’ın

MTR'a olan affinitesini azaltarak kanser gelişimine neden olabileceği belirlenmiştir. Bu enzimler kritik önemleri nedeniyle kapsamlı araştırma konusu olmuştur (Fang ve ark. 2014).

Yapılan literatür çalışmalarında folat metabolizması enzimlerindeki polimorfizmlerin gen fonksiyonlarını ve dolayısıyla folat döngüsünü etkileyerek, DNA metilasyonunda ve DNA sentezinde anormalliklere sebep olabileceği ve polimorfizmlerinin kanser gelişimi ile ilişkilendirilebileceği ileri sürülmüştür. Bu varyasyonların kanser oluşumunda genetik risk faktörü olabileceği düşünülerek çeşitli kanser tiplerinde araştırmalar yapılmıştır (Matakidou ve ark. 2007; Guangfu ve ark. 2010; Zhou ve ark. 2012; Zhao ve ark. 2013).

Folat metabolizması polimorfizmlerinin akciğer kanser prognozu üzerine olan etkisinin incelendiği bir çalışmada, fonksiyonel tek nükleotid polimorfizmlerinin (nonsynonymous single nucleotide polymorphisms, nsSNPs) tümör supressör genlerinin metilasyonunu etkileyebileceği, dolayısıyla tümör oluşumunu ve kanser gelişimini etkileyebileceği ileri sürülmüştür. Bu çalışma kapsamında folat metabolizması ilişkili, metilen-tetrahidrofolat redüktaz (*MTHFR*), metiyonin sentaz (*MTR*), metiyonin sentaz redüktaz (*MTRR*), DNA metiltransferaz (*DNMT2*), metilentetrahidrofolat dehidrojenaz (*MTHFDI*) ve metilentetrahidrofolat sentaz (*MTHFS*) enzim genlerini kapsayan 14 nsSNPs akciğer kanserli Kafkas kadınlar üzerinde kapsamlı bir şekilde incelenmiş ve küçük hücre dışı akciğer kanserli (KHDAK) hastalarda *MTRR* 524 C>T (Ser175Leu) polimorfizminin tüm kanserli hastalara oranla anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur (RO: 1,36, GA: 1,06-1,75). Aynı zamanda folat metabolizması varyasyonlarının akciğer kanserinin prognozunu değiştirebileceği bildirilmiştir (Matakidou ve ark. 2007).

Matakidou ve ark.'larının bulgularının tam aksine Çin toplumunda Shen ve ark.'larının (2005) folat metabolizması gen polimorfizmleri ile akciğer kanseri riski arasındaki ilişkiyi inceleyen bir başka çalışmada *MTRR* 524 C>T dönüşümünün akciğer kanser riski ile ilişki bulunmadığı bildirilmiştir.

Çalışmamızda, *MTRR* 524 C>T dönüşümüyle akciğer kanseri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Bulgularımız Shen M ve ark.'larının bulgularıyla benzerlik göstermektedir.

Literatür araştırmalarında *MTRR* gen polimorfizmlerine ait az bir bilgi bulunmakla beraber, çalışmalar daha çok *MTRR* rs: 1801394 (66A>G) polimorfizmi üzerine yoğunlaşmaktadır. *MTR* üzerine yapılan çalışmalarda ise yoğunluk *MTR* rs: 1805087 (2756 A>G) üzerine olmaktadır. Guangfu ve ark.larının (2010) Çin popülasyonunda yaptıkları çalışmada *MTR* rs 3768160, *MTRR* rs 2966952, *DHFR* rs 1650697 varyant allelerinin küçük hücre dışı akciğer kanseri için birer belirteç olabileceği bildirilmiştir. Ayrıca çalışma kapmasında yapılan incelemede *MTR* rs 1805087 ve *MTRR* rs 1801394 gen varyantları arasında ilişki bulunmadığı belirtilmektedir. Çalışmamızda kontrol ve akciğer kanserli hasta grubu karşılaştırıldığında, *MTR* 2756 A>G varyant alleli ile akciğer kanseri arasında bir anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

Folat metabolizmasındaki gen polimorfizmleri ile ilgili yapılan bir başka çalışmada Collier ve ark.'ları (2010) *MTRR* 66 A>G gen varyantının akciğer kanser riski ile ilişkili olmadığını ifade etmektedir.

Suzuki ve ark.ları (2007), Japonya'da akciğer kanserli hastalarda tek karbon metabolizması enzimlerin gen polimorfizmleri ile ilgili olarak yaptıkları çalışmada akciğer kanser riski ile polimorfizmler arasında anlamlı bir ilişki bulmadıklarını ancak buna karşılık *MTRR* 66 A>G polimorfizmi ile sigara kullanımı arasında bir anlamlılık olduğunu bildirmişlerdir ($p: 0,015$).

Folat metabolizmasında rol alan *MTR* ve *MTRR* gen polimorfizmleri üzerine yapılan hasta-kontrol çalışmasında *MTRR* 66 A>G varyant allelinin akciğer kanser riski ile anlamlı olarak ilişkilendirilmiştir (AA genotipine göre kıyaslandığında AG genotipi için RO: 1,39, %95 GA: 1,06-1,70; GG genotipi için RO: 1,39, %95 GA: 1,08-1,78) (Shi ve ark. 2005). Çalışmamızda kontrol ve akciğer kanserli hastalarda *MTRR* 66 A>G genotip dağılımına bakıldığında akciğer kanser riski ile anlamlı olarak ilişkili olduğu saptanmıştır ($p: 0,042$, RO: 0,438, %95GA: 1,194-0,987). Bulgularımız Shi ve ark.'larının ve Suzuki ve ark.'larının sonuçlarıyla benzerlik gösterirken, Guangfu ve ark.'larının ve Collier ve ark.'larının sonuçlarıyla çelişmektedir. Çalışmaların birbiriyle çelişki göstermesi, farklı toplumlardan kaynaklanan genetik ve çevresel faktörlerin etkisi ile ilgili olabileceği düşünülebilir.

Swartz ve ark.'larının (2013) yaptıkları çalışmada sigara içenlerde alkol kullanımının *MTRR* rs 6893114 varyant allelinin akciğer kanseri ile ilişkilendirilmiş

ayrıca *MTRR* rs 6893114 varyant allelinin sigara içen hastalarda ve rs 13170530 varyant allelinin ise sigarayı bırakmış kişilerde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde farklı olduğu bildirilmiştir. Akciğer kanserli hasta ve kontrol grubunda yaptığımız çalışmada *MTRR* rs 1801394 (66 A>G) varyant allelinin sigara içen hastalarda anlamlı olarak yüksek olduğu sapanmıştır ($p:0,030$, RO: 0,362, %95 GA: 0,144-0,906). Bulgularımız, Suzuki ve ark.'larının (2007) çalışması ile paralellik göstermektedir.

MTR ve *MTRR* gen polimorfizmlerinin hastalık riski ile arasındaki ilişki akciğer kanseri dışındaki kanserlerde de araştırılmış ve kolorektal kanserli hastalarda yapılan meta-analiz çalışmasında *MTRR* 66 A>G polimorfizmi kanser riski ile ilişkilendirilmiş (RO: 1,11, %95 GA: 1,01-1,18) ancak *MTR* 2756 A>G polimorfizmi ile anlamlı bir ilişki bulunmadığı belirtilmiştir (Zhou ve ark. 2012). Jokic ve ark.'larının (2011) sporadik (düzensiz) kolon kanseri üzerine yaptıkları hasta-kontrol çalışmasında *MTRR* 66 AA genotipinin koruyucu rolü olabileceği belirtilmiştir (RO: 0,655, %95 GA: 0,441-0,973; $p: 0,04$). Bir başka çalışmada ise, *MTRR* 66A>G polimorfizminin anlamlı olarak kolorektal kanser hastalarında farklı olduğu (RO: 1,39, %95 GA: 1,04-1,85) ve *MTRR* 66 G alleli taşımanın kanser riskini arttırdığı ileri sürülmüştür (Pardini ve ark. 2011). Kolorektal adenom ve kolorektal kanserde *MTR* 2756 A>G varyant allelinin homozigot (GG) veya heterozigot (AG) genotipte kanser riski ile bir ilişkisinin bulunmadığı gösterilmiş, ancak G alleli taşıyanlarda alkol ve sigara içiminin kolorektal kanser riskini arttırdığı belirtilmiştir (sigara içenlerde RO: 2,06, %95 GA: 1,32-3,20; alkol içenlerde RO: 2,00, %95 GA: 1,28-3,09) (Ding ve ark. 2013).

Mide kanserli hastalarda yapılmış bir çalışmada ise *MTRR* 66 G alleli taşımanın hastalarda ölüm riskini azalttığı belirtilmiştir (RO: 0,793, %95 GA: 0,651-0,967) (Zhao ve ark. 2015). Zhao. ve ark.'larının (2013) bir başka çalışmasında ise, *MTR* 2756 A>G polimorfizmi ile sindirim sistemi kanser riski arasında bir ilişki bulunmadığı bildirilmiştir.

Çin toplumunda meme kanserli kadınlarda yapılan çalışmada, *MTRR* A66G polimorfizminin, kanserli kadınlarda anlamlı olarak yüksek bulunduğu ve G varyant alleli taşımanın meme kanseri riski ile ilişkili olduğu gösterilmiştir ($p < 0,01 \sim 0,05$) (Wu ve ark. 2014; Shu ve ark. 2014). Meme kanseri üzerine yapılan başka bir çalışmada ise *MTR* 2756 A>G ve *MTRR* 66A>G polimorfizmleri ile meme kanseri arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (Lopez- Cortes ve ark. 2015).

Japonya’da pankreas kanserli hastalarla yaptıkları *MTRR* gen polimorfizimleri ile kanser yatkınlığı çalışmasında *MTRR* 66 G varyant alleli taşıma ile pankreas kanseri riski arasında anlamlı bir ilişki bulunmadığı bildirilmiştir (Ohnami ve ark. 2008).

Zeng ve ark.’larının (2014) yetişkin meninjiyom (merkezi sinir sistemi tümörü) hastalarında yaptıkları çalışmada *MTRR* 66A>G polimorfiziminin meninjiyom riskini arttırdığı (RO: 1,18, %95 GA: 1,05-1,32) buna karşılık *MTR* 2756 A>G polimorfizimi ile hastalık arasında bir ilişki bulunmadığı bildirilmiştir. Zhang ve ark.’ları da (2013) meninjiyom riski ile *MTR* 2756 A>G ve *MTRR* 66 A>G gen polimorfizimleri arasında bir ilişki bulmuştur ve bu sonuçlar Zeng ve ark.’larının sonuçlarıyla paralellik göstermektedir.

Kafkas popülasyonunda lösemili çocuklarda yapılan meta analiz çalışmasında *MTRR* 66 GG genotipi taşımanın kanser riskini azalttığı saptanmıştır (Fang ve ark. 2014).

Ekvador popülasyonunda prostat kanserli hastalarda yapılan hasta-kontrol çalışmasında ise *MTRR* 66A>G polimorfizimi ile kanser riski arasında az bir ilişki bulunduğu belirtilmiştir (Lopez-Cortez ve ark. 2013).

Güney Hindistan toplumunda parkinson hastaları arasında yapılan hasta-kontrol çalışmasında *MTRR* 66 A>G polimorfizimi parkinson hastalığı riski ile ilişkilendirilmiş bununla beraber *MTR* 2756 A>G polimorfizimiyle ilişki bulunmadığı belirtilmiştir (Kumudini ve ark. 2014).

Yadav ve ark.’larının (2015) yaptıkları meta analiz çalışmasında anneye ait (maternal) *MTRR* 66 A>G polimorfiziminin fetüste nöral tüp defekti için risk oluşturduğu bildirilmiştir (RO: 1,21, %95 GA: 0,98-1,49).

Yapılan çalışmalar folat metabolizmasındaki bozuklukların kalp hastalığı riskini de etkilediğini göstermektedir. Doğuştan olan ventriküler septal defekt üzerine İran’da yapılan bir çalışmada *MTRR* 66A>G polimorfiziminin hasta grubunda kontrole göre anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur ($p<0,05$) (Pishva ve ark., 2013). Çin popülasyonunda yapılan bir başka çalışmada doğuştan kalp hastalığı olan kişilerde *MTRR* 66 GG ve *MTRR* 524 CT genotipi taşımanın kalp hastalığı riskini arttırdığı ortaya konulmuştur (Zeng ve ark. 2011). Yu ve ark.’larının (2014) yaptıkları bir diğer

benzer çalışmada da sonuçlar *MTRR* 66A>G polimorfiziminin kalp hastalığı riskini arttırdığı yönündedir ($p: 0,004$).

Sonuç olarak;

- Bu çalışmada, genel genotip ve allel dağılımları incelendiğinde anlamlı bir farklılığın olmadığı ancak *MTRR* 66G alleli taşımanın akciğer kanserli hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu, ayrıca bu allelin sigara içen hasta grubunda sigara içen kontrol grubuna göre daha sıklıkla gözlemlendiği bulunmuştur. Sadece 25 pkyıl'dan fazla sigara içenler seçilerek hasta ve kontrol grubu karşılaştırıldığında ise *MTRR* 66 G allelinin 25 pkyıl'dan fazla sigara içen hasta grubunda kontrole göre anlamlı olarak yüksek olduğu saptanmıştır.
- *MTRR* 524C allelinin sigara içmeyen kontrol grubunda sigara içen hasta grubuna kıyasla daha fazla sıklıkla gözlemlendiği ve bu allelin koruyuculuğu olduğu düşünülmektedir.
- Akciğer kanserinin erken ve ileri evresi karşılaştırıldığında, ilgili polimorfizmler ile hastalığın prognozu arasında herhangi bir ilişki bulunamamıştır.
- *MTRR* 66 A alleli epidermoid tipi akciğer kanserli hastalarda küçük hücreli hastalara göre yüksek bulunmuştur. Küçük hücreli akciğer kanserinin epidermoid tipe göre kötü prognozu göz önünde bulundurulduğunda, bu alleli taşımanın iyi prognoz ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Yine aynı allelin adenokarsinomlu hastalarda küçük hücreli hastalara göre olarak yüksek bulunmuştur.
- *MTRR* 66 GG genotipi küçük hücreli akciğer kanserinde küçük hücreli olmayan akciğer kanserine göre daha yüksek bulunmaktadır ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlılık ifade etmemektedir.

KAYNAKLAR

Akar, N., Akar, E., Ozel, D., Deda, G. ve Sipahi, T. (2001). Common mutations at the homocysteine metabolism pathway and pediatric Stroke. *Thrombosis Research*, **102**, 115-120.

Akciğer Kanseri Tanı ve Tedavi Rehberi. (2006). *Toraks Dergisi*, **7**, 1-35.

Akopyan, G. ve Bonavida, B. (2006). Understanding tobacco smoke carcinogen NNK and lung tumorigenesis (Review). *International Journal of Oncology*, **29**, 745-752.

Alberg, A.J. ve Nonemaker J. (2008). Who is at high risk for lung cancer? Population-level and individual-level perspectives. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, **29**, 223-232.

Alberg, A.J., Brock, M.V. ve Samet, J.M. (2005). Epidemiology of lung cancer: looking to the future. *Journal of Clinical Oncology*, **23**, 3175-3185.

American Cancer Society (ACS) (2010). *Cancer Facts and Figures 2010*. Atlanta, Georgia. Erişim 01.06.2015,

Ames, B.N. (2001). DNA damage from micronutrient deficiencies is likely to be a major cause of cancer. *Mutation Research*, **475**, 7-20.

Anwar, W., Gueant, J.L., Abdelmoutaleb, I., Adjalla, C., Gerard, P., Lemoel, G. ve ark. (2001). Hyperhomocysteinemia is related to residual glomerular filtration and folate, but not to methylenetetrahydrofolate-reductase and methionine synthase polymorphisms, in supplemented end-stage renal disease patients undergoing hemodialysis. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, **39**, 747-752.

Aydiner, A., Ece, T. ve Topuz, E. (2010). *Akciğer Kanseri Tanı-Tedavi- Takip Antakya Konsensus Raporu 2010*. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri.

Beasley, M.B., Brambilla, E. ve Travis, W.D. (2005). The 2004 World Health Organization Classification of lung tumors. *Seminars in Roentgenology*, **40**, 90-97.

Bethke, L., Webb, E., Murray, A., Schoemaker, M., Feychting, M., Lönn, S. ve ark. (2008). Functional polymorphisms in folate metabolism genes influence the risk of meningioma and glioma. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, **17**, 1195-1202.

Boffetta, P. ve Hashibe, M. (2006). Alcohol and cancer. *Lancet Oncology*, **7**, 149-156.

Bütüner, B.D. ve Kantarcı, G. (2006). Mutasyon, DNA hasarı, onarım mekanizmaları ve kanserle ilişkisi. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, **35**, 149-170.

Cai, D., Ning, L., Pan, C., Liu, X., Bu, R., Chen, X. ve ark. (2010). Association of polymorphisms in folate metabolic genes and prostate cancer risk: a case-control study in a Chinese population. *Journal of Genetic*, **89**, 263-267.

Chen, J., Stampfer, M.J., Ma, J., Selhub, J., Malinow, M.R., Hennekens, C.H., ve Hunter, D.J. (2001). Influence of a methionine synthase (D919G) polymorphism on plasma homocysteine and folate levels and relation to risk of myocardial infarction. *Atherosclerosis*, **154**, 667-672.

Chen, L.H., Liu, M.L., Hwang, H.Y., Chen, L.S., Korenberg, J. ve Shane, B. (1997). Human methionine synthase; cDNA cloning, gene localization, and expression. *Journal of Biological Chemistry*, **272**, 3628-3634.

Choi, H. ve Mazzone, P. (2014). Radon and lung cancer: assessing and mitigating the risk. *Cleveland Clinic Journal of Medicine Home*, **81**, 567-575.

Choi, S.W. ve Mason, J.B. (2000). Folate and carcinogenesis: An integrated scheme. *Journal of Nutrition*, **130**, 129-132.

Collier, A.L.P., Monroy, C., Lopez, M.S., Cortes, A., Etzel, C.J., Greisinger, A.J. ve ark. (2010). Variants in folate pathway genes as modulators of genetic instability and lung cancer risk. *Genes, Chromosomes and Cancer*, **50**, 1-12.

Cruz, C.S.D., Tanoue, L.T. ve Matthay, R.A. (2011). Lung cancer: epidemiology, etiology, and prevention. *Clinics In Chest Medicine*, **32**, 605-644.

Çevikbaş, U. (Ed.). (2003). *Temel Patoloji* 7.Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi.

Das, P.M. ve Signal R. (2004). DNA methylation and cancer. *Journal of Clinical Oncology*, **22**, 4632-4642.

Davis, C.D. ve Uthus, E.O. (2004). DNA methylation, cancer susceptibility, and nutrient interactions. *Experimental Biology and Medicine*, **229**, 988-995.

Ding, W., Zhou, D.L., Jiang, X. ve Lu, L.S. (2013). Methionine synthase A2756G polymorphism and risk of colorectal adenoma and cancer: evidence based on 27 studies. *Public Library of Science (PLUS ONE)*, **8**, e60508(1-7). Erişim 09.04.2014, <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0060508> .

Duthie, S.J. (1999). Folic acid deficiency and cancer: mechanisms of DNA instability. *British Medical Bulletin*, **55**, 578-592.

Ekmekçi, A. ve Erbaş, D. (1991). *Kanserin Moleküler Mekanizması, Onkogenler ve Büyüme Faktörleri*. Ankara: TDFO5.

Ekmekçi, A., Konaç, E. ve Önen, H.İ. (2008). Gen polimorfizmi ve kansere yatkınlık. *Marmara Medical Journal*, **21**, 282-295.

Esteller, M., Tortola, S., Toyota, M., Capella, G., Peinado, M.A., Baylin, S.B., ve Herman, J.G. (2000). Hypermethylation-associated inactivation of *p14ARF* is independent of *p16INK4a* methylation and *p53* mutational status. *Cancer Research*, **60**, 129-133.

Fang, D.H., Ji, Q., Fan, C.H., An, Q. ve Li, J. (2014). Methionine synthase reductase A66G polymorphism and leukemia risk: Evidence from published studies. *Leukemia Lymphoma*, **55**, 1910-1914.

Ferlay, J., Soerjomataram, I., Dikshit, R., Eser, S., Mathers, C., Rebelo, M. ve ark. (2015). Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *International Journal of Cancer*, **136**, e359-e386. Erişim 09.01.2014, <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ijc.29210/full>.

Fong, K.M. ve Minna, J.D. (2002). Molecular biology of lung cancer: clinical implications. *Clinics In Chest Medicine*, **23**, 83-101.

Fowler, B. (2001). The folate cycle and disease in humans. *Kidney International*, **59**, 221-229.

Futreal, P.A., Kasperzyk, A.K., Birney, E., Mullikin, J.C., Wooster, R. ve Stratton, M.R. (2001). Cancer and genomics. *Nature*, **409**, 850-852.

Gaughan, D.J., Kluijtmans, L.A.J., Barbaux, S., McMaster, D., Young, I.S., Yarnell, J.W.G. ve ark. (2001). The methionine synthase reductase (*MTRR*) A66G polymorphism is a novel genetic determinant of plasma homocysteine concentrations. *Atherosclerosis*, **157**, 451-456.

Goode, E.L., Potter, J.D., Bigler, J. ve Ulrich, C.M. (2004). Methionine synthase D919G polymorphism, folate metabolism, and colorectal adenoma risk. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, **13**, 157-162.

Greenlee, R.T., Hill-Harman, M.B., Murray, T. ve Thun, M. (2001). Cancer statistics, 2001. *CA: A Cancer Journal of Clinicians*, **51**, 15-36.

Gronberg, B.H., Bremnes, R.M., Flotten, O., Amundsen, T., Brunsvig, P.F., Hjelde, H.H. ve ark. (2009). Phase III study by the Norwegian lung cancer study group: pemetrexed plus carboplatin compared with gemcitabine plus carboplatin as first-line chemotherapy in advanced non-small-cell lung Cancer. *Journal of Clinical Oncology*, **27**, 3217-3224.

Guangfu, J., Jinlin, H., Zhibin, H., Juncheng, D., Rong, Tang., Yijiang, C. ve ark. (2010). Genetic variants in one-carbon metabolism related genes contribute to NSCLC prognosis in a Chinese Population. *Cancer*, **116**, 5700-5709.

Guimaraes, J.L.M., Ayrizono, M.L., Coy, C.S.R. ve Lima, C.S.P. (2011). Gene polymorphisms involved in folate and methionine metabolism and increased risk of sporadic colorectal adenocarcinoma. *Tumor Biology*, **32**, 853-861.

Gültekin, M. ve Boztaş, G. (Ed.). Türkiye Halk Sağlığı Daire Başkanlığı (2014). *Türkiye Kanseri İstatistikleri Ocak 2014*.

Hecht, S.S. (1999). Tobacco smoke carcinogens and lung cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, **91**, 1194-1210.

Hecht, S.S. (2012). Lung carcinogenesis by tobacco smoke. *International Journal of Cancer*, **131**, 2724-2732.

<http://www.cancer.org/research/cancerfactsstatistics/%20cancerfactsfigures2010/index>.

Jokic, M., Kostic, K.B., Stefulj, J., Ivkovic, T.C., Bozo, L., Gamulin, M. ve ark. (2011). Association of *MTHFR*, *MTR*, *MTRR*, *RFC1* and *DHFR* gene polymorphisms with susceptibility to sporadic colon cancer. *DNA and Cell Biology*, **30**, 771-776.

Kamiya, H., Kawakami, K., Miyana, T., Omura, K., Oda, M., Murakami, S. ve Watanabe, Y. (1998). A methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism is associated with expression of p16 in human lung cancer. *Oncology Reports*, **5**, 911-914.

Keser, N., Pazarbaşı, A. ve Özpak, L. (2014). Metilentetrahidrofolat redüktaz aktivitesi ve folat metabolizması. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, **23**, 237-256.

Kim, Y.I. (1999). Folate and carcinogenesis: Evidence, mechanisms, and implications. *Journal of Nutritional Biochemistry*, **10**, 66-88.

Kumudini, N., Uma, A., Naushad, S.M., Mridula, R., Borgohain, R., ve Kutala, V.K. (2014). Association of seven functional polymorphisms of one-carbon metabolic pathway with total plasma homocysteine levels and susceptibility to parkinson's disease among South Indians. *Neuroscience Letters*, **568**, 1-5.

Leclerc, D., Wilson, A., Dumas, R., Gafuik, C., Song, D., Watkins, D. ve ark. (1998). Cloning and mapping of a cDNA for methionine synthase reductase, a flavoprotein defective in patients with homocystinuria. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **95**, 3059-3064.

Littman, A.J., Thorngquist, M.D., White, E., Jackson, L.A., Goodman, G.E. ve Vaughan, T.L. (2004). Prior lung disease and risk of lung cancer in a large prospective study. *Cancer Causes Control*, **15**, 819-827.

Lopez-Cortes, A., Echeverria, C., Cisneros, F.O., Sanchez, M.E., Herrera, C., Andrade, A.L. ve ark. (2015). Breast cancer risk associated with gene expression and genotype polymorphisms of the folate-metabolizing *MTHFR* gene: a case-control study in a high altitude Ecuadorian mestizo population. *Tumor Biology*, Erişim 24.03.2015, <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs13277-015-3335-0>

Lopez-Cortes, A., Jaramillo-Koupermann, G., Munoz, M.J., Cabrera, A., Echeverria, C., Rosales, F. ve ark. (2013). Genetic polymorphisms in *MTHFR* (C677T, A1298C), *MTR* (A2756G) and *MTRR* (A66G) genes associated with pathological characteristics of prostate cancer in the Ecuadorian population. *American Journal of the Medical Sciences*, **346**, 447-454.

Ma, J., Stampfer, M.J., Christensen, B., Giovannucci, E., Hunter, D.J., Chen, J. ve ark. (1999). A polymorphism of the methionine synthase gene: association with plasma folate, vitamin B12, homocysteine, and colorectal cancer risk. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, **8**, 825-829.

Matakidou, A., Galta, R., Rudd, M.F., Webb, E.L., Bridle, H., Eisen, T. ve ark. (2007). Prognostic significance of folate metabolism polymorphisms for lung cancer. *British Journal of Cancer*, **97**, 247 - 252.

Matsuo, K., Suzuki, R., Hamajima, N., Ogura, M., Kagami, Y. ve ark. (2001). Association between polymorphisms of folate and methioninemetabolizing enzymes and susceptibility to malignant lymphoma. *American Society of Hematology*, **97**, 3205-3209.

Miller, S.A., Dykes, D.D. ve Poleskey, H.S. (1988). Simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*, **16**, 1215.

Mountain, C.F. (1997). Revisions in the international system for staging lung cancer. *Chest*, **111**, 1710-1717.

Müsellim, B. (2007). Akciğer kanserinin epidemiyolojisi ve etiyolojisi. *İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri*, **58**, 113-118.

Nakamura, H., Saji, H., Idiris, A., Kawasaki, N., Hosaka, M., Ogata, A. ve ark. (2003). Chromosomal instability detected by fluorescence in situ hybridization in surgical specimens of non-small cell lung cancer is associated with poor survival. *Clinical Cancer Research*, **9**, 2294-2299.

Ohnami, S., Sato, Y., Yoshimura, K., Ohnsmi, S., Sakamoto, H., Aoki, K. ve ark. (2008). His595Tyr polymorphism in the methionine synthase reductase (*MTRR*) gene is associated with pancreatic cancer risk. *Gastroenterology*, **135**, 477-488.

Olteanu, H. ve Banerjee, R. (2001). Human methionine synthase reductase, a soluble P-450 reductase-like dual flavoprotein, is sufficient for NADPH-dependent methionine synthase activation. *Journal of Biological Chemistry*, **276**, 35558-35563.

Olteanu, H., Munson, T. ve Banerjee, R. (2002). Differences in the efficiency of reductive activation of methionine synthase and exogenous electron acceptors between the common polymorphic variants of human methionine synthase reductase. *Biochemistry*, **41**, 13378-13385.

Özsu, S. ve Özlü, T. (2013). Türkiye’de akciğer kanseri epidemiyolojisi. *Güncel Göğüs Hastalıkları Serisi 2013*, **1**, 7-11.

Pardini, B., Kumar, R., Naccarati, A., Prasad, R.B., Forsti, A., Polakova, V. ve ark. (2011). *MTHFR* and *MTRR* genotype and haplotype analysis and colorectal cancer susceptibility in a case-control study from the Czech Republic. *Mutation Research*, **721**, 74-80.

Paz, M.F., Avila, S., Fraga, M.F., Pollan, M., Capella, G., Peinado, M.A. ve ark. (2002). Germ-line variants in methyl group metabolism genes and susceptibility to DNA methylation in normal tissues and human primary tumors. *Cancer Research*, **62**, 4519-4524.

Pietro, F.D., Ortenzi, F., Tilio, M., Concetti, F. ve Napolioni, V. (2011). Genomic DNA extraction from whole blood stored from 15- to 30-years at -20 C by rapid phenolechloroform protocol: A useful tool for genetic epidemiology studies. *Molecular and Cellular Probes*, **25**, 44-48.

Pishva, S.R., Vasudevan, R., Etemed, A., Heidari, F., Komara, M., Ismail, P. ve ark. (2013). Analysis of *MTHFR* and *MTRR* gene polymorphisms in Iranian ventricular septal defect subjects. *International Journal of Molecular Sciences*, **14**, 2739-2752.

Rami-Porta, R., Crowley, J.J. ve Goldstraw, P. (2009). The revised TNM staging system for lung cancer. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, **15**, 4-9.

Sakoda, L.C., Loomis, M.M., Doherty, J.A., Neuhaus, M.L., Barnett, M.J., Thornquist, M.D. ve ark. (2011). Chromosome 15q24-25.1 variants, diet, and lung cancer susceptibility in cigarette smokers. *Cancer Causes Control*, **22**, 449-461.

Sarasin, A. (2003). An overview of the mechanisms of mutagenesis and carcinogenesis. *Mutation Research*, **544**, 99-106.

Shen, M., Rothmana, N., Berndta, SI., Heb, X., Yeagerc, M., Welchc, R. ve ark. (2005). Polymorphisms in folate metabolic genes and lung cancer risk in Xuan Wei, China. *Lung Cancer*, **49**, 299-309.

Shi, Q., Zhang, L.G., Pillow, P.C., Hernandez, L.M., Spitz, M.R. ve Wei, Q. (2005). Polymorphisms of methionine synthase and methionine synthase reductase and risk of lung cancer: a case-control analysis. *Pharmacogenetics and Genomics*, **15**, 547-555.

Shimamoto, T., Ohyashiki, JH., Hirano, T., Kato, H. ve Ohyashiki, K. (2004). Hypermethylation of E-cadherin gene is frequent and independent of p16INK4A methylation in non-small cell lung cancer: Potential prognostic implication. *Oncology Reports*, **12**, 389-395.

Shu, H., Liu, H.C. ve Xi, S.M. (2014). Methionine synthase reductase A66G polymorphism is not associated with breast cancer susceptibility- a meta-analysis. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, **15**, 3267-3271.

Silaste, M.L., Rantala, M., Sampi, M., Alfthan, G., Aro, A. ve Kesaniemi, Y.A. (2001). Polymorphisms of key enzymes in homocysteine metabolism affect diet responsiveness of plasma homocysteine in healthy women. *Journal of Nutrition*, **131**, 2643-2647.

Skibola, C.F., Smith, M.T., Hubbard, A., Shane, B., Roberts, A.C., Law, G.R. ve ark. (2002). Polymorphisms in the thymidylate synthase and serine hydroxymethyltransferase gene and risk of adult acute lymphocytic leukemia. *American Society of Hematology*, **99**, 3786-3791.

Solakoğlu, S. ve Aytekin, Y. (Ed.). (2009). *Temel Histoloji, Text & Atlas*. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri.

Spiro, S.G. ve Porter, J.C. (2002). Lung cancer-Where are we today? Current advances in staging and nonsurgical treatment. *State of the Art*, **166**, 1166-1196.

Steinmetz, K.A., Potter, J.D. ve Folsom, A.R. (1993). Vegetables, fruit, and lung cancer in the Iowa Women's Health Study. *Cancer Research*, **53**, 536-543.

Stipanuk, M.H. (2004). Sulfur amino acid metabolism: pathways for production and removal of homocysteine and cysteine. *Annual Review of Nutrition*, **24**, 539-577.

Suzuki, T., Matsuo, K., Hiraki, A., Saito, T., Sato, S., Yatabe, Y. ve ark. (2007). Impact of one-carbon metabolism-related gene polymorphisms on risk of lung cancer in Japan: a case-control study. *Carcinogenesis*, **8**, 1718-1725.

Süzen, B. (2011). *İnsan Anatomisi ve Fizyolojisine Giriş*. İSTANBUL: Bedray Basın Yayıncılık.

Swartz, M.D., Peterson, C.B., Lupo, P.J., Wu, X., Forman, M.R., Spitz M.R. ve ark. (2013). Investigating multiple candidate genes and nutrients in the folate metabolism pathway to detect genetic and nutritional risk factors for lung cancer. *Public Library of Science (PLUS ONE)*, **8**, 1-8.

Torre, L.A., Bray, F., Siegel, R.L., Ferlay, J., Lortet-Tieulent, J. ve Jemal, A. (2015). Global cancer statistics, 2012. *CA: A Cancer Journal of Clinicians*, **65**, 87-108.

Travis, D.W. (2009). Reporting lung cancer pathology specimens. Impact of the anticipated 7th Edition TNM Classification based on recommendations of the IASLC Staging Committee. *Histopathology*, **54**, 3-11.

Travis, W.D. (2011a). Classification of lung cancer. *Seminars in Roentgenology*, **46**, 178-186.

Travis, W.D. (2011b). Pathology of lung cancer. *Clinics in Chest Medicine*, **32**, 669-692.

Walling, J. (2006). From methotrexate to pemetrexed and beyond. A review of the pharmacodynamic and clinical properties of antifolates. *Investigational New Drugs*, **24**, 37-77.

Watson, J.D., Witkowski, J., Gilman, M., Zoller, M. (1992). *Recombinant DNA (second ed.)*. New York: Scientific American Books.

Wei, Q. ve Spitz, M.R. (1997). The role of DNA repair capacity in susceptibility to lung cancer: a review. *Cancer and Metastasis Reviews*, **16**, 295-307.

WHO (2013). GLOBAN 2012: Estimated cancer incidence, mortality and prevalence world wide in 2012. Erişim 28.01.2014, <http://globocan.iarc.fr> .

Wilson, A., Platt, R., Wu, Q., Leclerc, D., Christensen, B., Yang, H. ve ark. (1999). A common variant in methionine synthase reductase combined with low cobalamin (Vitamin B12) increases risk for spina bifida. *Molecular Genetics and Metabolism*, **67**, 317-323.

Wiseman, M. (2008). The second world cancer research fund/American Institute for Cancer Research expert report. Food, nutrition, physical activity and the prevention of cancer: a global perspective. *Proceedings of the Nutrition Society*, **67**, 253-256.

Wu, X., Zou, T., Coa, N., Ni, J., Xu, W., Zhou, T. ve ark. (2014). Plasma homocysteine levels and genetic polymorphisms in folate metabolism are associated with breast cancer risk in Chinese woman. *Hereditary Cancer in Clinical Practise*, **12**, 1-11.

Xu, X.L., Yu, J., Zhang, H.Y., Sun, M.H., Gu, J., Du, X. ve ark. (2004). Methylation profile of the promoter CpG islands of 31 genes that may contribute to colorectal carcinogenesis. *World Journal of Gastroenterology*, **10**, 3441-3454.

Yadav, U., Kumar, P., Yadav, S.K., Mishra, O.P. ve Rai, V. (2015). Polymorphisms in folate metabolism genes as maternal risk factor for neural tube defects: an updated meta-analysis. *Metabolic Brain Disease*, **30**, 7-24.

Yıldızhan, A. ve Candaş, F.H. (2012). Akciğer Kanseri. İçinde Yücel O. (Ed.), *Göğüs Cerrahisi Ders Notları*. Ankara: Journal of Clinical and Analytical Medicine; 20-28.

Yu, D., Ynag, L., Shen, S., Fan, C., Zhang, W. ve Mo, X. (2014). Association between methionine synthase reductase A66G polymorphism and the risk of congenital heart defects: Evidence from eight case-control studies. *Pediatric Cardiology*, **35**, 1091-1098.

Zeng, W., Liu, L., Tong, Y., Liu, H.M., Dai, L. ve Mao, M. (2011). A66G and C524T polymorphisms of the methionine synthase reductase gene are associated with congenital heart defects in the Chinese Han population. *Genetics and Molecular Research*, **10**, 2597-2605.

Zeng, X.T., Lu, J.T., Tang, X.J., Weng, H., ve Luo, J. (2014). Association of the methionine synthase rs 1801394 and methionine synthase reductase rs 1805087 polymorphisms with meningioma in adults: A meta-analysis. *Biomedical Reports*, **2**, 432-436.

Zhang, F.F., Terry, M.B., Hou, L., Chen, J., Lissowska, J., Yeager, M. ve ark. (2007). Genetic polymorphisms in folate metabolism and the risk of stomach cancer. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, **16**, 115-121.

Zhang, J., Zhou, Y.W., Shi, H.P., Wang, Y.Z., Li, G.L., Yu, H.T. ve Xie, X.Y. (2013). 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase (*MTHFR*), methionine synthase (*MTRR*), and methionine synthase reductase (*MTR*) gene polymorphisms and adult meningioma risk. *Journal of Neuro-Oncology*, **115**, 233-239.

Zhao, ZY., Chen, Z., Ma, Y., Xia, Q., Zhang, F., Fu, D. ve Wang, X.F. (2013). Lack of association between methionine synthase A2756G polymorphism and digestive system

cancer risk: evidence from 39327 subjects. *Public Library of Science (PLUS ONE)*, **8**(4), 1-7.

Zhao, T., Gu, D., Xu, Z., Huo, X., Shen, L., Wang, C., ve ark. (2015). Polymorphism in one-carbon metabolism pathway affects survival of gastric cancer patients: Large and comprehensive study. *Oncotarget*, **6**, 9564-9576.

Zhou, D., Mei, Q., Luo, H., Tang, B., Yu, P. (2012). The Polymorphisms in methylenetetrahydrofolate reductase, methionine synthase, methionine synthase reductase, and the risk of colorectal cancer. *International Journal of Biological Sciences*, **8**, 819-830.

Zijno, A., Andreoli, C., Leopardi, P., Marcon, F., Rossi, S., ve Caiola, S. ve ark. (2003). Folate status, metabolic genotype, and biomarkers of genotoxicity in healthy subjects. *Carcinogenesis*, **24**, 1097-1103.

FORMLAR

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (BGOF)

Araştırmanın Adı / Protokol Numarası: Metiyonin Sentaz (MTR) VE Metiyonin Sentaz Redüktaz (MTRR) Gen Polimorfizmleri ve Akciğer Kanseri Arasındaki İlişkinin Türk Toplumunda Belirlenmesi

Araştırmanın Konusu: Metiyonin Sentaz (MTR) VE Metiyonin Sentaz Redüktaz (MTRR) Gen Polimorfizmleri ve Akciğer Kanseri Arasındaki İlişkinin Türk Toplumunda Belirlenmesi

Araştırmanın Amacı: Bu araştırmada kliniğimize başvuran Akciğer kanser, tanıli hastaların kan örneklerinde MTR ve MTRR gen polimorfizmlerinin incelenmesi planlanmıştır.

Araştırmanın Süresi: 1 yıl

Araştırmada İzlenecek Yöntem:

Çalışma grubu:

İstanbul Tıp Fakültesi Onkoloji Enstitüsüne daha önce başvurmuş ve halen kliniğimizde takip edilen Akciğer kanseri tanısı konulmuş hastalar çalışma grubu olarak alınacaktır. Katılım gönüllülük esasına dayalı olacaktır.

- Gönüllüden 10cc EDTA'lı kan örneği alınacaktır.
- Alınan kan örneklerinden DNA izolasyonu yapılacaktır.
- Polimorfizm çalışmaları direkt hastalık sonucunu belirtmemekte olup, kişiye söz konusu hastalığa yatkınlıkla ilişkili genetik yapıya sahip olup olmadığını göstermektedir.
- Çalışmada gönüllünün sadece kan örneği alınacaktır ve gönüllü üzerinde başka herhangi bir çalışma yapılmayacaktır.
- Alınan kan örneklerinden DNA elde edilecek ve bu DNA örnekleri bu çalışma dışında başka bir işlem için kullanılmayacaktır.
- Diğer bir çalışmada gönüllü DNA'sının kullanılması gerektiğinde kendisinden izin alınacak gönüllünün uygulama sırasında herhangi bir rahatsızlık ve riskle karşılaşması söz konusu değildir.
- Bu çalışmada gönüllünün hiçbir hukuki ve mali sorumluluğu bulunmayıp tüm sorumluluk araştırmacı ve destekleyiciye aittir.
- Gönüllü arzusu üzerine mali ve hukuki yükümlülük olmaksızın çalışmadan ayrılabilir.
- Bu işlemler için gönüllüden hiçbir ücret talep edilmeyecektir.
- Bu çalışma için gönüllüye herhangi bir ücret ödenmeyecektir.
- Çalışmaya katılmak zorunluluğunuz bulunmamaktadır, gönüllü istediği taktirde çalışmadan ayrılabilir.

- Gönüllünün çalışmaya katılmayı reddetmesi onun gelecekteki takip ve tedavisi üzerine olumsuz etkide bulunmayacaktır.
- Gönüllünün çalışmaya katılım süreci sadece gönüllüden kan örneğinin alınması ile sınırlıdır.
- Çalışma kabul kriterlerine ve özelliklerine uyum sağlamadığınız takdirde çalışmadan çıkarılabileceğiniz durumlar oluşabilir. Bu nedenle çalışmadan araştırmacının isteği ile çıkarılabilirsiniz.

Alternatif Tedavi veya Girişimler: Yok.

Araştırma Sırasında Karşılaşılabilecek Riskler: Uygulama sırasında herhangi bir rahatsızlık ve risk söz konusu değildir.

Araştırma İlacının Olası Yan Etkileri: Gönüllüye herhangi bir ilaç verilmeyecektir.

Araştırma Süresince 24 Saat Ulaşılabilecek Kişi Adı / Soyadı / Telefonu:

Ayçin ERDENAY 0546 423 20 87

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana, yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen hekim tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabilceğimi ve kendi isteğime bakılmaksızın araştırmacı tarafından araştırma dışı bırakılabileceğimi biliyorum. Söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Açıklamaları Yapan Kişinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Gerekliyse Olur İşlemine Tanık Olan Kişinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Gerekliyse Yasal Temsilcinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

OLGU RAPOR FORMU (ORF) İ.Ü. ECZACILIK FAKÜLTESİ SAĞLIKLI DNA BANKASI**Protokol:
Tarih:****Ad-Soyad:****Cinsiyet:****Yaş:****Meslek:****Kan Alım Tarihi:****Doğum Yeri ve Tarihi:****Geçirmiş olduğu önemli hastalıklar:**

Diabet:	Kalp rahatsızlığı:	Hipertansiyon:	Obezite:	Tbc:
Kanser:	Alkolizm:	Parkinson:	Bronşit:	Diğer:

Maruz kalınan madde:**Sigara kullanımı:****Kaç sene ve kaç adet kullanılmış (adet/gün):****Ne zaman bırakmış:****Alkol kullanımı:****Kaç sene ve ne kadar kullanılmış (miktar/ gün):****Ne zaman bırakmış:****Aile hikayesi:****Adres- Telefon:**

OLGU RAPOR FORMU (ORF) İ.Ü. ECZACILIK FAKÜLTESİ HASTA DNA BANKASI**Protokol:
Tarih:****Ad-Soyad:****Cinsiyet:****Yaş:****Meslek:****Kan Alım Tarihi:****Doğum Yeri ve Tarihi:****Annenin doğum yeri:****Babanın doğum yeri:****Kan grubu:****Geçirmiş olduğu önemli hastalıklar:****Diabet: Kalp rahatsızlığı: Hipertansiyon: Obezite: Tbc:****Alkolizm: Parkinson: Bronşit: Diğer:****Kanser Tipi:****Maruz kalınan madde:****Sigara kullanımı:****Kaç sene ve kaç adet kullanılmış (adet/gün):****Bıraktıysanız ne kadar süredir içtiniz ve ne kadar süredir içmiyorsunuz:****Alkol kullanımı:****Kaç sene ve ne kadar kullanılmış (miktar/ gün):****Ne zaman bırakmış:****Ailede kanser vakası olup olmadığı:****Tedavide kullanılan ilaçlar:****Adres – Telefon:**

ETİK KURUL KARARI



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU



Sayı : 1713

Tarih : 06.12.2013

Konu : Doç.Dr.Pınar AKSOY SAĞIRLI

Sayın Doç.Dr.Pınar AKSOY SAĞIRLI
Eczacılık Fakültesi

İlgi :Eczacılık Fakültesinin 11/11/2013 gün ve 134 sayılı yazısı

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz ve Yüksek Lisans Öğrencisi Biyolog Ayçin ERDENAY'ın yürüteceği 2013/1600 dosya numaralı "Metiyonin Sentaz (MTR) ve Metiyonin Sentaz Redüktaz (MTRR) Gen Polimorfizmleri ve Akciğer Kanseri Arasındaki İlişkinin Türk Toplumunda Belirlenmesi" başlıklı çalışma kurumumuzun 22/11/2013 gün ve 20 sayılı toplantısında görüşülerek etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.


Prof.Dr. A. Yağız ÜRESİN
İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar
Etik Kurul Başkanı

Eki: İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu Karar Formu

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

BAŞVURU BİLGİLERİ

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	“Metiyonin Sentaz (MTR) ve Metiyonin Sentaz Redüktaz (MTRR) Gen Polimorfizmleri ve Akciğer Kanseri Arasındaki İlişkinin Türk Toplumunda Belirlenmesi”			
ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	---			
KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç.Dr.Pınar AKSOY SAĞIRLI			
KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Eczacılık			
KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi			
DESTEKLEYİCİ	İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi			
DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	---			
ARAŞTIRMANIN FAZİ	FAZ 1	☐		
	FAZ 2	☐		
	FAZ 3	☐		
	FAZ 4	☐		
ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Yeni Bir Endikasyon	☐		
	Yüksek Doz Araştırması	☐		
	Diğer ise belirtiniz :Klinik Araştırma			
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☐	ÇOK MERKEZLİ ☒	ULUSAL ☒	ULUSLAR ARASI ☐

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	11/11/2013		Türkçe ☒	İngilizce ☐	Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	☒		Türkçe ☒	İngilizce ☐	Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU	☐		Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ	☐		Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	☐	Açıklama			
	TÜRKÇE ETİKET ÖRNEĞİ	☐				
	SİGORTA	☐				
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒				
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐				
	HASTA KARTI/GÜNLÜKLERİ	☐				
	İLAN	☐				
	YILLIK BİLDİRİM	☐				
	SONUÇ RAPORU	☐				
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐				
	DİĞER:	☒	Anabilim Dalı Başkanlığından Üst Yazı ve Akademik Kurul Kararı, Literatür Kaynağı, Sorumluluk Paylaşım Belgesi, Olgular Raporu Formu, İlgili Elemanların Bilgilendirildiğine Dair Belge, CV, CD			
	Karar No:20	Tarih: 22/11/2013				
KARAR BİLGİLERİ	İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesinde görevli Doç.Dr.Pınar AKSOY SAĞIRLI'nın sorumluluğunda ve Yüksek Lisans Öğrencisi Biyolog Ayçin ERDENAY'ın yürüteceği yukarıda bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplanıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.					

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU

ÇALIŞMA ESASI		19.08.2011 tarihli, 28030 sayılı Resmi Gazetede yayınlanan Klinik Araştırmalar Hakkındaki Yönetmelik							
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:		Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN							
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki *		Katılım **		İmza
Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN	Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkanı)	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Berrin UMMAN	Kardiyoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkan Yardımcısı)	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Ahmet GÜL	Romatoloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Oğuzhan ÇOBAN	Nöroloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Dr. Sevdâ ÖZEL	Biyoistatistik	İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Biyoistatistik	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	

* :Araştırma ile ilişki

** :Toplantıda Bulunma

Bu karar araştırma projesinin etik açıdan değerlendirme sonucunu bildirmektedir. Klinik ilaç araştırması projeleri için, etik kurulu onayı sonrasında, Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmeliğin 5/a .maddesi gereğince, Sağlık Bakanlığına da başvurulması ve gerekli izin alınması gerekmektedir.



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
ONKOLOJİ ENSTİTÜSÜ
Müdürlüğü



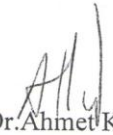
Sayı: 86704051 / 3271

Tarih: 06./12./2013

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA
(Etik Değerlendirme Komisyonu)

Sorumlu araştırmacılığını Enstitümüzde görevli Prof.Dr. Ahmet KİZİR'in, "Metiyonin Sentaz (MTR) ve Metiyonin Sentaz Redüktaz (MTRR) Gen Polimorfizmleri ve Akciğer Kanseri Arasındaki İlişkinin Türk Toplumunda Belirlenmesi" (2013/253) başlıklı çalışması, Akademik Koordinasyon Kurulumuzda görülmüş olup, Etik Değerlendirme Komisyonu tarafından incelenmek üzere ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi ve gereğini arz ederim.


 Prof.Dr. Ahmet KİZİR
 Müdür

Ek:

Not: Yanıtlarda yazımızın gün ve sayısının belirtilmesi rica olunur.
 Tel: 0.212.414.24.34 Fax:0.212.534.80.78

28.11.2013 tarihli Akademik Koordinasyon Kurulu (AKK) Toplantı kararları:

- 1- Prof.Dr.Faruk AYKAN'ın, "RAS mutasyonlu Hepatosellüler Karsinom (HCC) hastalarında ilk sıra tedavi olarak Sorafenib ile kombinasyon halinde Refametinib'in (BAY 86-9766) prospektif, tek kollu, çok merkezli, kontrolsüz, açık etiketli Faz II çalışması" (2013/251) başlıklı çalışmasının,
- 2- Prof.Dr.Faruk TAŞ'ın, "Malign melanomda serum Laminin, Tip IV Kollajen, Fibronektin, Vitronektin, TGF- β 1, PAR-1 ve Caveolin-1 düzeylerinin klinik öneminin belirlenmesi" (2013/252) başlıklı çalışmasının,
- 3- Prof.Dr.Ahmet KİZİR'in, "Metiyonin Sentaz (MTR) ve Metiyonin Sentaz Redüktaz (MTRR) Gen Polimorfizmleri ve Akciğer Kanseri Arasındaki İlişkinin Türk Toplumunda Belirlenmesi" (2013/253) başlıklı çalışmasının,

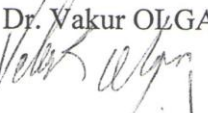

Prof. Dr. Ahmet KİZİR
Başkan


Prof. Dr. Gönül KEMİKLER
Üye


Prof. Dr. Faruk AYKAN
Üye


Prof. Dr. Esra KAYTAN SAĞLAM
Üye


Prof. Dr. Uğur GEZER
Üye


Doç. Dr. Vakur OLGAÇ
Üye


Doç. Dr. Hasan KARANLIK
Üye

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Ayçin	Soyadı	ERDENAY
Doğ.Yeri	İstanbul	Doğ.Tar.	26.07.1990
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	20267184886
Email	a.erdenay@gmail.com	Tel	0546 423 20 87

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.		
Lisans	Marmara Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji-Kimya Bölümü	2012
Lise	Adile Mermerci Anadolu Lisesi	2008

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Orta	Orta	Orta	55	

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office Programları	İyi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Özel İlgi Alanları (Hobileri)