

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**



**DNA TAMİR GEN POLİMORFİZMLERİNİN
BÖBREK KANSERİ
İLE İLİŞKİSİ**

(UZMANLIK TEZİ)

Dr. Parvana MİKAİLOVA

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Şule SEÇKİN
İSTANBUL-2017**

ÖNSÖZ

*İstanbul Tıp Fakültesi Biokimya Anabilim Dalı gibi köklü bir kurumda, faydalı ve bir o kadar da keyifli bir uzmanlık eğitimi geçirmenin mutluluk ve onurunu taşıyarak; Tezimin her aşamasında bilgisini, tecrübesini ve sabrını benden esirgemeyen, kendileriyle çalışmaktan büyük gurur ve mutluluk duyduğum değerli hocam ve tez danışmanım **Prof. Dr. Şule SEÇKİN** ve **Doç. Dr. Canan KÜÇÜKGERGİN'e**,*

*Eğitimim süresince her türlü bilgi ve deneyimleriyle yanımda olan başta Anabilim Dalı Başkanımız değerli hocam sayın **Prof. Dr. Necla TOKER** olmak üzere Biyokimya Anabilim Dalı 'ndaki bütün hocalarıma,*

*Hastaların toplanmasında ve klinik verilerine ulaşılmasında büyük emeği olan İstanbul Tıp Fakültesi Üroloji A.B.D'nda sayın **Prof. Dr. İsmet NANE** ve **Uzm. Dr. Selçuk Erdem'e**,*

Eğitimim süresince zevkle çalıştığım ve birlikte güzel anılar biriktirdiğim bütün asistan arkadaşlarım ve anabilim dalımızın diğer çalışanlarına;

*Uzmanlık eğitimimin ilk gününden itibaren karşılaştığım her türlü sorunda sonsuz sabrı ve hoşgörüsü ile bana yardımcı olan **Doç. Dr. A. Fatih Aydın'a**,*

Bugünlere gelmemde en büyük emeğe sahip olan, desteklerini her zaman yanımda hissettiğim sevgili annem ve canım babama, yaşadığım tüm zorluklarda sabrı ve desteği için değerli eşim ile gözümün nuru küçük kızıma teşekkürlerimi sevgilerimle sunarım.

Dr. Parvana Mikailova

İstanbul, 2017

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No:55485

İÇİNDEKİLER

ÖZET

ABSTRACT

1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	3
2. GENEL BİLGİLER.....	6
2.1. BÖBREK MORFOLOJİSİ.....	6
2.1.1. Anatomi.....	6
2.1.2. Embriyoloji.....	7
2.2. BÖBREK HÜCRELİ KARSİNOM.....	8
2.2.1. İnsidans ve Epidemiyoloji.....	8
2.2.2. Etiyoloji ve risk faktörleri.....	9
2.2.3. Böbrek hücreli karsinomun sınıflandırılması.....	9
2.2.4. Histolojik derecelendirme.....	10
2.2.5. Klinik evreleme.....	10
2.3. DNA HASARI.....	12
2.4. DNA ONARIM MEKANİZMALARI.....	14
2.4.1. DOĞRUDAN ONARIM	16
2.4.1.1. Fotoreaktivasyon ile Onarım	16
2.4.1.2. O6-Metilguanin-DNA-Metiltransferaz ile Onarım	17
2.4.2. DOĞRUDAN OLMAYAN ONARIM.....	18
2.4.2.1. Kesip-Çıkarma Onarımı.....	18
2.4.2.1.1. Baz Kesip-Çıkarma Onarım Yolağı (BER).....	18
2.4.2.1.2. Nükleotid Kesip-Çıkarma Onarım Yolağı (NER).....	21
2.4.2.2. Çift Zincir Kırık Onarımı.....	25
2.4.2.2.1. Homolog Rekombinasyonel Onarım (HR).....	26
2.4.2.2.2. Homolog Olmayan Uç Birleştirme (NH-EJ).....	26
2.4.2.3. Yanlış Eşleşme Onarımı (MMR).....	27
2.5. DNA ONARIMI VE POLİMORFİZM.....	29
2.5.1. X-ray Pair Cross-Complementing Gene 1 (XRCC1) Arg399Gln Gen polimorfizmi ve kanserle ilişkisi.....	30
2.5.2. Apürinik/Aprimidinik Endonükleaz 1(APE1) Asp148Glu Gen polimorfizmi ve kanserle ilişkisi.....	32

2.5.3. Human 8-oksoguanin DNA glikozilaz (hOGG1) Ser326Cys Gen Polimorfizmi ve kanserle ilişkisi.....	34
2.6. DNA TAMİRİ ve KANSER.....	38
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	40
3.1. ÇALIŞMA GRUPLARI.....	40
3.2. ÇALIŞMA MATERYALİ.....	40
3.3. KULLANILAN ALETLER.....	40
3.4. KULLANILAN KİMYASAL MALZEMELER.....	41
3.5. KULLANILAN YÖNTEMLER.....	42
3.5.1. APE1, XRCC1 ve hOGG1 GEN POLİMORFİZMLERİNİN TAYİNİ.....	42
3.5.2. Periferik Kandan DNA İzolasyonu.....	42
3.5.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR).....	43
3.5.4. XRCC1 Arg399Gln gen bölgesinin çoğaltılması.....	46
3.5.5. APE1 Asp148Glu gen bölgesinin çoğaltılması.....	48
3.5.6. hOGG1 Ser326Cys gen bölgesinin çoğaltılması.....	50
3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER.....	51
4. BULGULAR.....	52
4.1. Kontrol ve hasta gruplarının klinik değerleri.....	52
4.2. XRCC1 Arg399Gln gen polimorfizmi ile ilgili sonuçlar.....	52
4.3. APE1 Asp148Glu gen polimorfizmi ile ilgili sonuçlar.....	57
4.4. hOGG1 Ser326Cys gen polimorfizmi ile ilgili sonuçlar.....	61
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	65
6. KAYNAKLAR.....	73
7. ÖZGEÇMİŞ.....	90

KISALTMALAR LİSTESİ

BER	Baz Kesip-Çıkarma Onarım Yolağı
BHK	Böbrek hücreli karsinom
XRCC1	X-ray Repair Cross Complementing 1
APE1	Apürinik/Aprimidinik Endonükleaz 1
hOGG1	Human 8-oksoguanin DNA glikozilaz
PARP	Poly- ADP-riboz polimeraz
AP bölge	Apürinik/Aprimidinik bölge
8-OHG	8-hidroksiguanin
MGMT	O6-metilguaninDNA-metiltransferaz
NER	Nükleotid Kesip-Çıkarma Onarım Yolağı
HR	Homolog Rekombinasyonel Onarım
NHEJ	Homolog Olmayan Uç Birleştirme
MMR	Yanlış Eşleşme Onarımı
CPDs	Siklobütan pirimidin dimerleri
O6-MeG	O6-Metilguanin
PNKP	Polinükleotid kinaz 3'-fosfat
SP-BER	Kısa yamalı (short-patch) BER
LP-BER	Uzun yamalı (long-patch) BER
GG-NER	Global genom NER
TC-NER	Transkripsiyona kenetlenmiş NER
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RFLP	Sınırlayıcı enzim parça uzunluğu polimorfizmi
VKİ	Vücut Kitle İndeksi
DNA	Deoksiribonükleik asit
UV	Ultraviyole ışınları
IUAC	International Union Against Cancer
XP	Xseroderma pigmentozum
CS	Cockayne sendromu
TTD	Trikotiyodistrofi
PCNA	Prolifere hücre nükleer antijen
RFC	Replikasyon faktör C
SNP	Tek nükleotid polimorfizmleri

VNTR	Değişken sayıda tandem tekrarlar (minisatellitler)
STR	Kısa tandem tekrarlar (mikrosatellitler)
RNA	Ribonükleik asit
dNTP	Deoksinükleotid trifosfatlar
Arg	Arginin
Gln	Glutamin
Asp	Aspartik asit
Glu	Glutamik asit
Ser	Serin
Cys	Sistein



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1. Böbreğin anatomik yapısı.....	6
Şekil 2-2. Böbreğin embriyonik yapısı.....	8
Şekil 2-3. DNA hasarı ve onarım mekanizmaları.....	13
Şekil 2-4. DNA hasarının yol açtığı yanıtlar.....	14
Şekil 2-5. DNA Onarım Mekanizmaları.....	15
Şekil 2-6. Fotoreaktivasyon onarımı.....	17
Şekil 2-7. MGMT tarafından O ⁶ -MeG'nin Onarımı.....	18
Şekil 2-8. Baz Kesip-Çıkarma Onarımı (BER).....	20
Şekil 2-9. Nükleotid kesip çıkartma yolağı (NER).....	23
Şekil 2-10. Homolog rekombinasyon (HR) ve Homolog Olmayan Uç Birleştirme (NHEJ) Onarım Sistemi.....	25
Şekil 2-11. İnsanda Yanlış Eşleşme Tamiri (MMR).....	28
Şekil 2-12. XRCC geninin yapısı.....	30
Şekil 2-13. APE1/Ref-1 in DNA tamir ve redoks aktiviteleri.....	33
Şekil 2-14. Guanin ürünleri.....	34
Şekil 2-15. 8-hidroksiguanin (8-OHG) ve FapyG.....	35
Şekil 2-16. 8-hidroksiguaninden ana koruyucu mekanizmalar.....	36
Şekil 2-17. hOGG1 onarım mekanizması.....	37
Şekil 3-1. PZR üç basamağı.....	44
Şekil 3-2. XRCC1 Arg399Gln gen polimorfizmi.....	48
Şekil 3-3. APE Asp148Glu gen polimorfizmi.....	49
Şekil 3-4. hOGG1 Ser326Cys gen polimorfizmi.....	51
Şekil 4-1. Türk popülasyonunda XRCC1 Arg399Gln gen polimorfizminde genotip dağılımı.....	53
Şekil 4-2. Sigara kullananların XRCC1 Arg399Gln gen polimorfizminde geneotip dağılımı.....	55
Şekil 4-3. Türk popülasyonunda APE1 Asp148Glu gen polimorfizminde genotip dağılımı.....	58
Şekil 4-4. Türk popülasyonunda hOGG1 Ser326Cys gen polimorfizminde genotip dağılımı.....	62

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2-1: Böbrek hücreli karsinom sınıflaması.....	9
Tablo 2-2: Böbrek hücreli karsinom 'da nükleer grade furhman evreleme sistemi.....	10
Tablo 2-3. 2017 TNM sınıflama sistemi	11
Tablo 2-4. TNM evre grupları.....	12
Tablo 4-1. Kontrol ve böbrek hücreli karsinomlu hasta grubundaki klinik değerleri.....	52
Tablo 4-2. Kontrol ve böbrek hücreli karsinomlu hasta grubunda XRCC1 Arg399Gln gen polimorfizminin genotip dağılımı ve allel sıklığı.....	53
Tablo 4-3. Kontrol ve böbrek hücreli karsinomlu hasta grubunda XRCC1 Arg399Gln gen polimorfizminde genotip dağılımı ve allel sıklığının sigara kullanımı ile ilişkisi.....	54
Tablo 4-4. XRCC1 Arg399Gln gen polimorfizminin tümörün grade'i ile ilişkisi.....	56
Tablo 4-5. XRCC1 Arg399Gln gen polimorfizmi ile tümörün klinik T evresi arasındaki ilişki.....	56
Tablo 4-6. Kontrol ve böbrek hücreli karsinomlu hasta grubunda APE Asp148Glu gen polimorfizminde genotip dağılımı ve allel sıklığı.....	57
Tablo 4-7. Kontrol ve böbrek hücreli karsinomlu hasta grubunda APE Asp148Glu gen polimorfizminde genotip dağılımı ve allel sıklığının sigara kullanımı ile ilişkisi.....	59
Tablo 4-8. APE Asp148Glu gen polimorfizminin tümörün grade'i ile ilişkisi.....	60
Tablo 4-9. APE Asp148Glu gen polimorfizminin tümörün klinik T evresi ile ilişkisi.....	60
Tablo 4-10. Kontrol ve böbrek hücreli karsinomlu hasta grubunda hOGG1 Ser326Cys gen polimorfizminde genotip dağılımı ve allel sıklığı.....	61
Tablo 4-11. Kontrol ve böbrek hücreli karsinomlu hasta grubunda hOGG1 Ser326Cys gen polimorfizminde genotip dağılımı ve allel sıklığının sigara kullanımı ile ilişkisi.....	63
Tablo 4-12. hOGG1 Ser326Cys gen polimorfizminin tümörün grade'i ile ilişkisi.....	64
Tablo 4-13. hOGG1 Ser326Cys gen polimorfizminin tümötün klinik T evresi ile ilişkisi.....	64

ÖZET

Çalışmamızda, Türk popülasyonunda XRCC1, APE1 ve hOGG1 gen polimorfizmleri ile böbrek hücreli karsinomun (BHK) oluşumu ve gelişimi arasındaki ilişkiyi ayrıca, sigara kullanımı ile DNA tamir gen polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi değerlendirmeyi planladık.

Bu tez çalışmasına 2015 ile 2017 yılları arasında İstanbul Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı'na başvurup klinik ve histopatolojik olarak BHK tanısı konan hastalar (n= 97) ile normal olan sağlıklı kişiler (n= 211) dahil edildi. Kontrol ve hasta grubundaki kişilerden elde edilen DNA'lardan XRCC1, APE1 ve hOGG1 gen polimorfizmleri için PZR-RFLP ve agaroz jel elektroforezi teknikleri kullanıldı.

Hasta ve kontrol grubu arasında yaş ve vücut kitle indeksi (VKİ) açısından anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. XRCC1 Arg399Gln gen polimorfizminde hasta grubunda Arg/Gln genotip dağılımında kontrol grubuna göre anlamlı bir artış görülmektedir. Yüksek grade ve ileri evre bakımından incelendiğinde anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. Sigara kullanan hasta grubu Arg/Gln genotipi ve Gln allelinin sigara kullanan kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı olarak farklılık bulunmaktadır.

APE1 Asp148Glu gen polimorfizminde hasta grubunda Asp/Glu ve Glu/Glu genotip dağılımında kontrol grubuna göre anlamlı bir artış görülmektedir. Yüksek grade ve ileri evre ve sigara kullanımı bakımından incelendiğinde anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır.

hOGG1 Ser326Cys gen polimorfizminde genotip ve allel sıklığı bakımından hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. Yüksek grade, ileri evre ve sigara kullanımı bakımından incelendiğinde anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır.

Sonuç olarak, XRCC1 Arg399Gln ve APE1 Asp148Glu gen polimorfizmlerinin BHK oluşumunda etkili olduğu oysa gelişiminde bir risk içermediğini ayrıca, hOGG1 Ser326Cys gen polimorfizminin ise BHK oluşumu ve gelişiminde bir risk faktörü olmadığını ileri sürebiliriz.

Anahtar Kelimeler: Böbrek hücreli karsinom (BHK), XRCC1, APE1, hOGG1, Polimorfizm

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No:55485

ABSTRACT

In this study, we aimed to investigate the effect of DNA repair gene polymorphisms in relation to renal cell carcinoma (RCC) risk in a Turkish population. We also planned to evaluate the association of these polymorphisms with smoking.

The patients who have admitted to Istanbul Faculty of Medicine, Department of Urology between 2015 and 2017 diagnosed as having RCC (n=97) have formed the patient group. Healthy people who have admitted to the same clinic (n=211) have formed the control group. DNA samples obtained from both groups were analysed for XRCC1, APE1 and hOGG1 gene polymorphisms by using PCR-RFLP.

When XRCC1 gene polymorphism is evaluated, it was observed that there was a significant increase in Arg/Gln genotype distribution in patient group when compared to control group. There was no significant difference when examined in terms of high grade and advanced stage. However, there was a significant increase in smokers patient group carrying Gln allele when compared to smokers control group.

When APE1 gene polymorphism is evaluated, it was observed that there was a significant increase in Glu allele in patient group when compared to control group. There was no significant difference when examined in terms of high grade and advanced stage and smoking status.

There was no significant association between hOGG1 gene polymorphism and RCC and smoking status.

In conclusion, we suggest that XRCC1 and APE1 gene polymorphisms may be only associated with the initiation of RCC. However hOGG1 gene polymorphism may not be a risk factor for RCC.

Key Words: Renal cell carcinoma (RCC), XRCC1, APE, hOGG1, Polymorphism

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No:55485

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Böbrek hücreli karsinom (BHK) tüm kanserlerin yaklaşık olarak %2-3'nü oluşturan, genitoüriner tümörler içerisinde ise 3. sıklıkta yer alan bir kanser türü olarak bilinmektedir (1). Genom, DNA hasarına neden olan eksojen veya endojen kaynaklı sayısız farklı etkene maruz kalmaktadır. Tüm organizmalar (bakteri, maya, balıklar ve insanlar dahil), kendi hücrelerini, çevresel hasarlara karşı korumak amacıyla DNA onarım mekanizması içermektedirler. DNA onarımı, hücre ölümünü, mutasyonu, replikasyon hatalarını, DNA hasarının devamlılığını ve genomik kararsızlığı azaltan en önemli mekanizmalardan biri olarak bilinmektedir. DNA onarım sisteminde meydana gelebilecek herhangi bir anormallik kansere ve yaşlanmaya neden olmaktadır. Bu sebeple DNA onarım mekanizması kanser oluşumlarının engellenmesinde oldukça önemli bir yere sahiptir (2-5). Bu amaçla çalışmamızda, BER yolağında rol oynayan X-ray Repair Cross Complementing 1 (XRCC1), Apürinik/Aprimidinik Endonükleaz 1 (APE1) ve human 8-oksoguanin DNA glikozilaz (hOGG1) gen polimorfizmlerinin BHK oluşumundaki ve gelişimindeki rollerini inceledik.

BER yolağı bazların oksidasyonu, alkillenmesi ve deaminasyonundan kaynaklanan DNA hasarını onaran en önemli tamir sistemlerinden biri olarak tanımlanmaktadır. BER yolağında meydana gelen bozukluklar kanser, immünolojik disfonksiyon ve nörodejeneratif hastalıklara yol açabilmektedir (6). BER yolağında tanımlanan DNA onarım genlerinden, XRCC1, APE1 ve hOGG1 en çok çalışılan genler olup, bu genlerin polimorfizmleri ile çeşitli kanser türleri arasındaki ilişkiyi inceleyen bir çok çalışma bulunmaktadır (7-10).

XRCC1 proteini, serbest oksijen radikallerinin, iyonize radyasyonun, UV ve alkilleyici mutajenlerin yaptığı baz değişimi sonucu oluşan DNA tek zincir kırılmalarının onarılmasında rol oynamaktadır. XRCC1 Arg399Gln gen polimorfizminin ekson 10'da, kodon 399'da 28152. pozisyonda Guanin/Adenin (G/A) dönüşümüne sebep olduğu ve bunun sonucunda protein yapısında Arg/Gln aminoasit değişimine neden olduğu belirtilmektedir. XRCC1 Arg399Gln gen polimorfizminde, XRCC1 geni üzerinde poli-ADP-riboz polimeraz (PARP) bağlanma bölgesindeki baz değişiminden dolayı, genin kodladığı proteinde fonksiyonel değişime uğradığı belirtilmektedir (7-11). Yapılan birçok çalışmada XRCC1 399Gln allelinin risk taşıyan bir allel olduğu gösterilmiş olmasına rağmen (12,13), bazı araştırmalarda böyle bir ilişkinin olmadığı ileri sürülmektedir (14,16).

APE1 (APE1, HAP1, Ref-1) multifonksiyonel bir enzimdir (19). N-glikozid bağının spontan olarak hidrolizi ile ya da yanlış bir bazın uygun bir DNA glikozilaz tarafından uzaklaştırması sonucunda DNA üzerinde Apürinik/Apiriminidik (AP) bölge oluşmaktadır (17). APE1 enzimi hasarlı DNA'da oluşan AP bölge tamirinden sorumlu olmaktadır (20). APE1 Asp148Glu gen polimorfizminde, Glu allelinin enzimin endonükleaz aktivitesini etkilemediği ancak diğer BER yolağı proteinleri ile etkileşime girme aktivitesini azalttığı ileri sürülmektedir (18). Buna bağlı olarak, Glu alelinin, DNA hasarına karşı savunmasızlığının artmasına, bu nedenle çeşitli hastalık ve kanser türlerinin gelişimine neden olabileceği ileri sürülmektedir (18). Yapılan araştırmalarda, APE1 Asp148Glu gen polimorfizminin, meme kanseri (8), baş-boyun kanseri (21) ve endometrium kanseri (22) gibi farklı kanser türlerinin gelişiminde önemli bir rol oynadığı belirtilmektedir. APE1 Asp148Glu gen polimorfizmi ile çeşitli kanser türleri arasındaki ilişkiyi inceleyen bazı çalışmalarda ise APE1 gen varyantları ile kanser gelişimi arasında hiçbir ilişki bulunmadığı belirtilmektedir (18,23).

hOGG1 geni 3p26 kromozomunda yer almakta ve 8-hidroksiguanini (8-OHG) etkin bir şekilde uzaklaştıran DNA glikozilaz enzimini kodlamaktadır. hOGG1 Ser326Cys gen polimorfizmi, hOGG1 proteininin 326 nolu amino asidi olan serinin sistein ile yer değiştirmesi sonucu oluşmaktadır (10,11,24,25). hOGG1 Ser326Cys gen polimorfizminin çeşitli kanser türleri için bir risk olduğu belirtilirken (26-29), bazı çalışmalarda ise hOGG1 gen polimorfizminin kanser oluşumuna bir etkisinin olmadığı belirtilmektedir (30,31).

DNA onarım kapasitesinde farklılıklara neden olan DNA tamir sistemindeki gen polimorfizmlerinin incelenmesi kanser etiyolojisi, riski ve tedavisine verilen yanıtta önemli olabileceği belirtilmektedir. DNA tamir gen polimorfizmleri ve farklı kanser türleri arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmaların sonuçları çelişkilidir. Ayrıca, bilebildiğimiz kadarıyla, Türk popülasyonunda böbrek hücreli karsinom ile DNA tamir gen polimorfizmleri arasında ilişkiyi inceleyen bir çalışma henüz bulunmamaktadır.

Bütün bu bilgilerin ışığında çalışmamızda,

1-Türk toplumundaki sağlıklı bireyler ile BHK'lu hastalar arasında XRCC1 Arg399Gln, APE1 Asp148Glu ve hOGG1 Ser326Cys gen polimorfizmlerinin genotip dağılımlarını ve allel sıklığını incelemeyi,

2-BHK'da XRCC1 Arg399Gln, APE1 Asp148Glu ve hOGG1 Ser326Cys gen polimorfizmleri ile tümörün grade'i ve evresi arasındaki ilişkiyi incelemeyi,

3-Kanser oluşumunda etkili olduğu öne sürülen sigaranın, XRCC1 Arg399Gln, APE1 Asp148Glu ve hOGG1 Ser326Cys gen polimorfizmleri ile BHK oluşumu üzerindeki etkisini incelemeyi amaçladık.



2. GENEL BİLGİLER

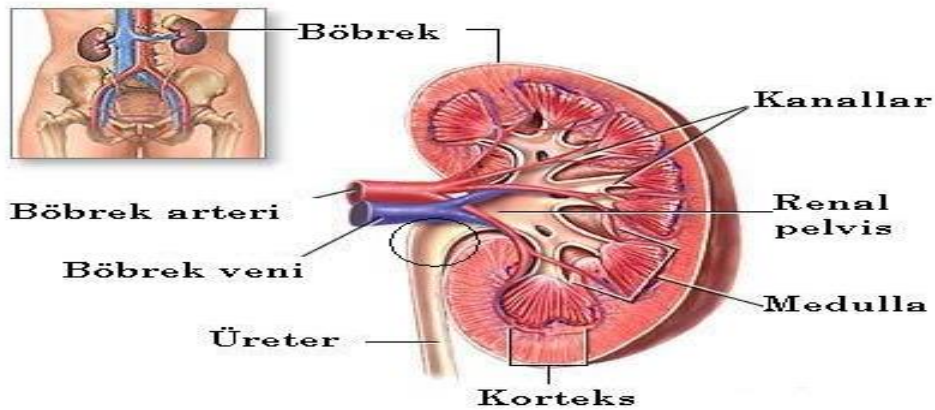
2.1. BÖBREK MORFOLOJİSİ

2.1.1. Anatomi

Böbrekler retroperitoneal boşlukta, vertebral kolonun iki yanında, 12. torakal ve 3. lomber vertebral seviyesinde bulunmaktadır. Erişkin bir kişide böbreklerin ağırlıkları yaklaşık olarak erkeklerde 125-170 gr, kadınlarda 115-155 gr, ortalama uzunluğu ise 10 cm, genişliği 5 cm, kalınlığı 2,5 cm olarak bulunmaktadır. Medialde 3 cm'lik alanda yarık şeklinde hilus izlenmektedir. Ana renal arter, renal ven, üreter ve sinirler hilusta yağlı dokuyla sarılı olarak bulunmaktadır (32). Böbrek dokusunun iç bölgesinde koyu renkli medulla dış bölgesinde ise daha soluk renkli korteks bulunmaktadır.

Medulla: Böbrek medullası, sayıları 8-10 olan renal piramitler (Malpighi piramitleri) olarak adlandırılan koni şeklindeki yapılardan oluşmaktadır. Minör kaliksler majör kaliksleri, majör kaliksler de renal pelvisi oluşturmaktadır. Renal pelvis, üreteropelvik bileşkeye doğru daralarak üreter ile devamlılığını sürdürmektedir. Majör kalikslerin tepesi papilla olarak adlandırılmaktadır. Papilla, minör kaliksler içine uzanmaktadır (32).

Korteks: Medullaya göre yüksek oranda granüler bir yapı göstermektedir. En dışta böbrek kapsülü bulunmaktadır. Korteks idrar yapan oluşumları içermektedir. “Arteriola glomerularis afferens” ve “arteriola glomerularis efferens”’in oluşturduğu damar yapısı glomerül olarak adlandırılmaktadır. Bowman kapsülü glomerülü saran yapıya denilmektedir. Glomerül ve Bowman kapsülü birarada renal korpuskülü oluşturmaktadır. Her bir renal korpuskül ve buna ait tubuller ise nefronu oluşturmaktadır (32).



Şekil 2-1. Böbreğin anatomik yapısı

2.1.2. Embriyoloji

İntrauterin dönemde pronefroz, mezonefroz ve metanefroz olmak üzere farklı üç böbrek sistemi peşpeşe oluşmaktadır (Şekil 2-2) (33).

Pronefroz: İnsan embriyosunda servikal bölgedeki 7-10 adet solid hücre pronefroz kısmını oluşturmaktadır.

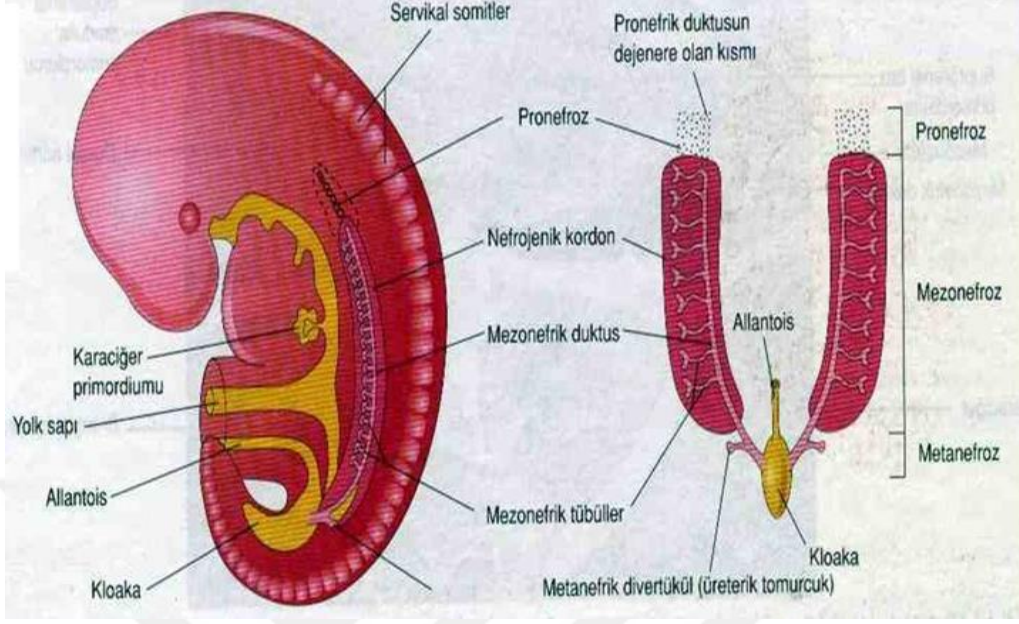
Mezonefroz: Pronefrik sistem gerilerken, mezonefroza ait ilk boşaltım tübülleri oluşmaya başlamaktadır. Bu tübüllerin boyu hızla uzar, S şeklini aldıktan sonra medial uzantılarının ucunda bir uç oluşmaktadır. Bowman kapsülü de tübülün bu ucundan oluşmaktadır. Tübülüs diğer uçta, mezonefrik veya Wolffian kanalı olarak bilinen longitudinal toplayıcı kanalla birleşmektedir. Mezonefroz orta hattın her iki yanında büyük ve oval şeklini ikinci ayın ortalarında oluşturmaktadır. Aynı zamanda oluşan gonad da mezonefrozun medialinde bulunduğundan bu iki organ tarafından oluşturulan doku kabarıklığına ürogenital şişkinlik denilmektedir. Kranial tübüller ve glomerüller dejeneratif değişiklikler 2. ayın sonunda tümüyle ortadan kalkmaktadır. Kaudal tübüllerin bir kısmı ve mezonefrik kanalkızlarda tümüyle ortadan kalmakta oysa erkeklerde bulunmaktadır (33,34).

Metanefroz veya kalıcı böbrek: Metanefrik mezodermden 5. haftada gelişir.

Toplayıcı sistem: Kalıcı böbreğin toplayıcı sistemi üreter tomurcuğundan gelişerek metanefrik doku içine penetre olmaktadır. Penetrasyon sonrasında genişleyen üreter tomurcuğu primitif renal pelvisi ve sonra da kranial ve kaudal parçalara ayrılarak gelecekteki major kaliksleri meydana getirmektedir. Metanefrik dokuya penetre olan her kaliksten iki yeni tomurcuk oluşmaktadır ve bu tomurcuklar 12 ve daha fazla sayıda tübül oluşturana kadar bölünmektedirler. 5. ayın sonuna kadar bu tübüllerin distalinden de yeni jenerasyon tübüller oluşur ve ikinci jenerasyondaki tübüller genişleyerek 3 ve 4. jenerasyon tübülleri absorbe ederek renal pelvisin minör kalikslerini oluşturmaktadır. Gelişimin daha sonraki evrelerinde sonraki jenerasyon toplayıcı tübüller boyca uzayarak minör kaliksler içine doğru toplanır ve sonuçta renal piramitleri oluşturmaktadır.

Boşaltım Sistemi: Kollektör tübülün distal ucunda bulunan metanefrik doku içindeki hücrelerden daha sonra küçük tübüller ve renal vezikül olarak bilinen küçük kesecikler oluşmaktadır. Bu tübüller glomerüllerle birlikte nefronu veya boşaltım birimini oluşturmaktadır. Nefronun proksimal ucunda glomerül tarafından yaylandırılmış Bowman kapsülü bulunmaktadır. Tübülün distal ucu ise, toplayıcı kanala açılmaktadır. Glomerülden

toplayıcı kanallara bu açıklık yoluyla geçiş vardır. Boşaltıcı tübüllerin uzamaya devam etmesi sonucu proksimal tübüller, Henle halkası ve distal tübüller oluşmaktadır (33,34).



Şekil 2-2. Böbreğin embriyonik yapısı

2.2. BÖBREK HÜCRELİ KARSİNOM

2.2.1. İnsidans ve Epidemiyoloji

BHK tüm kanserlerin yaklaşık olarak %2-3'nü oluşturmakta, genitoüriner tümörler içerisinde ise 3. sıklıktadır (1). Genellikle yetişkinlerde görülen ve tanısı ortalama 60-70 yaşları arasında konulan bir tümördür. En yüksek insidans gelişmiş ülkelerde görülmektedir ve her 100.000 insandan 4'ü hastalıktan etkilenmektedir. İnsidans oranları Avrupa, Kuzey Amerika ve Avustralya'da en yüksektir ve Hindistan, Japonya, Afrika ve Çin'de en düşüktür. 2006 ve 2010 yılları arasında Amerika Birleşik Devletleri'ndeki insidansın yılda 100.000 kişi başına 15.3 olduğu bildirilmektedir. Erkeklerde kadınlara göre 1.5:1 oranında daha sık görülmektedir. BHK renal korteksten kaynaklanmaktadır ve böbrek malignitelerinin %80-85'ini oluşturmaktadır (35,36).

2.2.2. Etiyoloji ve risk faktörleri

BHK'un etiyolojisinde, kesin bir neden gösterilmemiş olmasına rağmen sigara kullanımı, kadmiyum, petrol ürünleri, antihipertansif tedavi, herpes virüs, obezite gibi değişik faktörlerin tümör oluşumunda rol aldığı belirtilmektedir. BHK böbrek içinde en sık gelişen kitlesel lezyondur ve belirli histopatolojik ve genetik özellikleri olan değişik BHK tiplerinden oluşmaktadır. En etkili profilaksi sigara içilmesinin engellenmesidir. Ultrason ve bilgisayarlı tomografi gibi görüntüleme tekniklerinin yaygın kullanımına bağlı olarak rastlantısal tanı konulan BHK sayısı artmaktadır. Bunlar genellikle daha küçük boyutlu ve düşük evreli tümörlerdir. Rastlantısal tanı konulan olguların oranındaki artışa rağmen BHK'a bağlı mortalite etkilenmemiş ve mortalite oranı insidansa paralel seyretmiştir (35,36).

2.2.3. Böbrek hücreli karsinomun sınıflandırılması

Böbrek hücreli karsinom, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2016 sınıflamasına göre 3 grupta sınıflandırılmaktadır; berrak hücreli, papiller (tip I ve II) ve kromofob böbrek hücreli karsinom. Artan moleküler genetik ve histolojik bulgulardaki gelişmelere bağlı olarak sınıflandırmalar yapılmıştır (Tablo2-1) (35,37).

Tablo 2-1: Böbrek hücreli karsinom sınıflaması

Subtip	Genetik alterasyon
Berrak hücreli	VHL gen kaybı Kromozom-3 delesyonu
Papiller	MET protoonkogen aktivasyonu
Kromofobik	Tanımlanmamış

Kaynak: Prognostic factor of the RCC, Renal Cell Carcinoma, 2011 EAU Guidelines(1)

2.2.4. Histolojik derecelendirme

Böbrek hücreli karsinomun çok değişken nükleer yapısı bulunmasından dolayı farklı sınıflamaları bulunmaktadır. Bugün en sık kullanılan sınıflama, 1982 yılında Furhman tarafından yapılan sınıflandırma olup tümörün evresinden bağımsız prognostik faktör olarak kullanılmaktadır (Tablo 2-2) (38).

Tablo 2-2: Böbrek hücreli karsinom 'da nükleer grade Furhman evreleme sistemi

Grade	Nükleer çap (μm)	Nükleer çeper yapı	Nükleolus yapısı
1	10	Yuvarlak, Üniform	Yok yada silik
2	15	Düzensiz	Küçük
3	20	Düzensiz	Belirgin
4	>20	Multilobüle, Resimsiz	Kromatin demetleri

2.2.5. Klinik evreleme

1990 yılında "International Union Against Cancer" (IUAC) tarafından önerilen ve 1997 ve 2002 yılında modifiye edilen TNM sınıflaması anatomik sınırları ayrıntılı olarak ele alan bir evreleme yöntemidir. 2017 yılında yeniden düzenlenen TNM sınıflaması güncel olarak kullanılan evrelemedir. Tümör boyutu, venöz invazyon, renal kapsüler invazyon, adrenal tutulum ve LN ve uzak metastaz TNM sınıflandırma sistemine dahil edilmiştir (Tablo 2-3,2-4) (39,40).

Tablo 2-3. 2017 TNM sınıflama sistemi

T:Primer tümör

Tx Primer tümör saptamak için veriler yeterli değildir.

T0 Primer tümöre ait kanıt yok

T1 Tümör en büyük boyutu ≤ 7 cm, böbrek içinde sınırlı

T1a Tümör büyük çapı ≤ 4 cm

T1b Tümör büyük çapı >4 cm ama ≤ 7 cm

T2 Tümör en büyük boyutu >7 cm, böbrek içinde sınırlı

T2a Tümör büyük çapı >7 cm ama ≤ 10 cm

T2b Tümör büyük çapı >10 cm, böbrek içinde sınırlı

T3 Tümör major venlere yayılmış veya sürrenal bezi veya perinefrik dokuları tutmuş ancak gerota fasyasını aşmamıştır.

T3a Tümör renal ven veya segmental dallarını tutmuş veya perirenal ve/veya renal sinüs yağlı doku invazyonu mevcut

T3b Tümör V. Kava'yı diafragma altında gros olarak tutmuştur.

T3c Tümör V. Kava'yı diafragma üstünde gros olarak tutmuş veya V.Kava duvar invazyonu mevcuttur

T4 Tümör gerota fasyasını aşmıştır.(ipsilateral adrenal invazyonu)

N:Bölgesel Lenf Nodları

- **Nx** Bölgesel lenf nodlarını saptamak için veriler yeterli değildir.
- **N0** Bölgesel lenf nodlarında metastaz yok.
- **N1** Tek bir lenf nodunda metastaz vardır.
- **N2** Birden fazla lenf nodunda metastaz vardır.

M:Uzak Metastaz

- **M0** Uzak metastaz yok.
- **M1** Uzak metastaz var.

Tablo 2-4. TNM evre grupları

TNM evre grupları			
Evre I	T1	N0	M0
Evre II	T2	N0	M0
Evre III	T3	N0	M0
	T1,T2,T3	N1	M0
Evre IV	T4	Herhangi N	M0
	Herhangi T	Herhangi N	M1

2.3. DNA HASARI

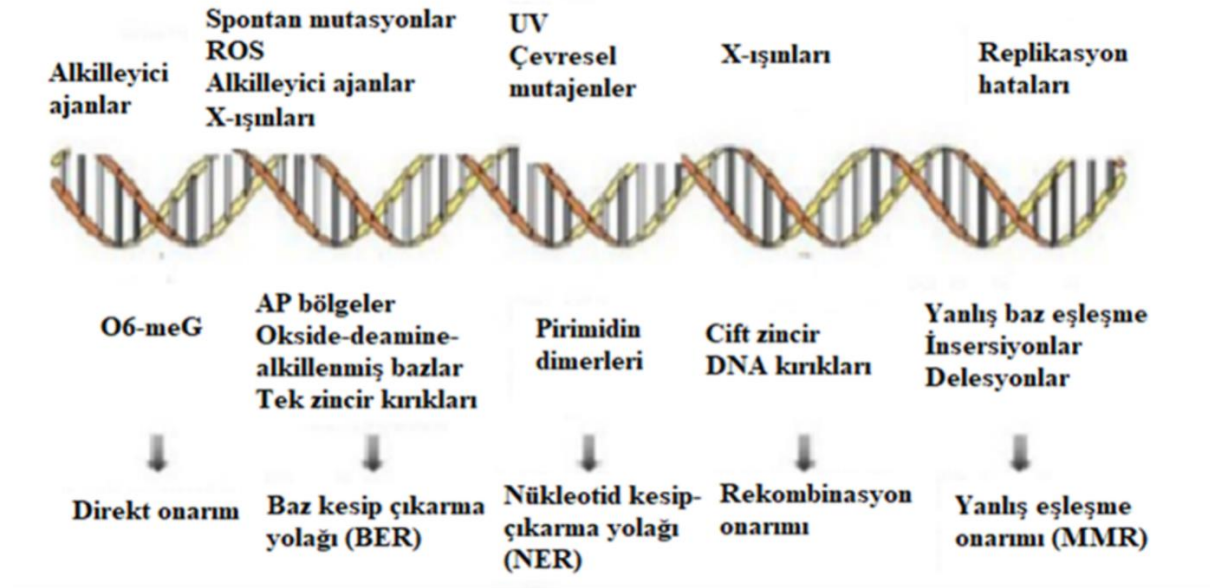
Endojen ve ekzojen gibi çeşitli faktörler insan genomik DNA'sının bütünlüğünün bozulmasına neden olmaktadır. Genomik DNA'nın bütünlüğünün bozulması sonucunda genetik materyalde meydana gelen tüm değişiklikler DNA hasarı olarak belirtilmektedir. Yaklaşık olarak DNA'da her gün 10^4 'ten daha fazla hasarın olduğu tahmin edilmektedir (Şekil 2-3) (2,3).

DNA hasarına neden olan endojen (spontan) etkenler;

1. Kimyasal değişiklikler: deaminasyon, metilasyon
2. Oksidatif Hasar
3. Yanlış eşleşmeler, insersiyon/delesyonlar
4. Baz kayıpları: depürinasyon/depürimidinasyon
5. Replikasyon hataları

DNA hasarına neden olan ekzojen etkenler;

1. Fiziksel ajanlar: Ultraviyole ışığı, iyonize radyasyon, hava kirliliği, sigara dumanı v.b
2. Kimyasal ajanlar: Ağır metaller, aflotoksin, benzopren, kemoterapi ilaçları, alkolik ajanlar, vinil klorid v.b (2-5).



Şekil 2-3. DNA hasarı ve onarım mekanizmaları

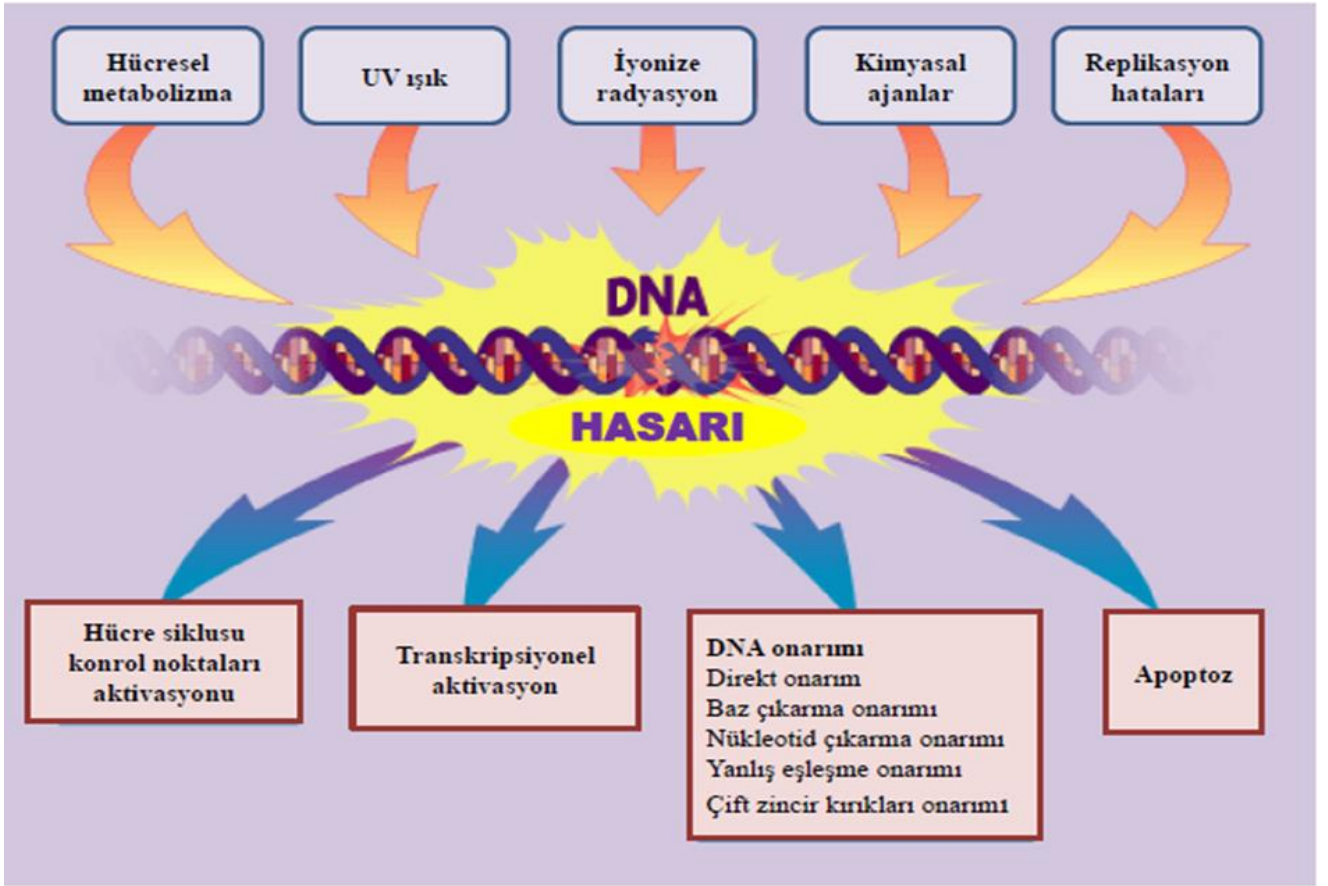
DNA'daki hasarlar;

a-Tek baz değişimi (deaminasyon, depürinasyon, baz alkilasyonu, delesyon, insersiyon vs)

b-Tek veya çift zincir kırıkları

c-Aynı veya farklı DNA zincirleri arasında çapraz bağlanma gibi çeşitli şekillerde olabilmektedir (2,5).

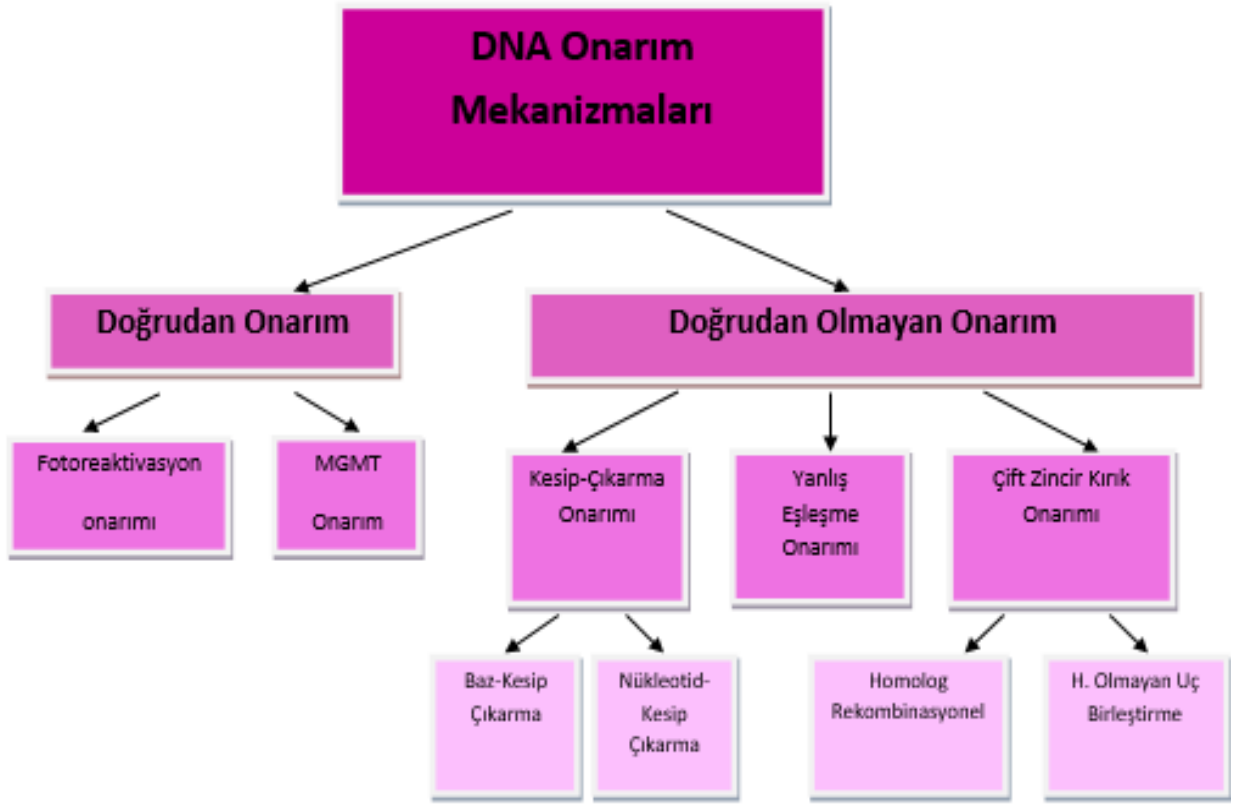
DNA molekülü dinamik bir yapıya sahip olduğundan onarılabilen tek biyomolekül özelliği taşımaktadır. DNA hasarı replikasyon sırasında onarılamazsa mutasyona ve sonuç olarak genomik kararsızlığa sebep olmaktadır. Oluşan genomik kararsızlıklar sonucunda, kanser ve yaşlanma gibi önemli olaylar meydana gelebilmektedir. Hücre, DNA hasarlarına çeşitli metabolik yollar ile cevap vermektedir. Ağır DNA hasarları; hasarın yoğunluğuna ve tipine bağlı olarak hücrenin apoptoz yolunu aktive ederek hücreyi ölüme götürebilmekte, gen ifadesini değiştirebilmekte, hücre döngüsü durdurulabilmekte ya da hasar DNA onarım mekanizmaları ile onarabilmektedir (Şekil 2-4) (2-5).



Şekil 2-4. DNA hasarının yol açtığı yanıtlar

2.4. DNA ONARIM MEKANİZMALARI

DNA onarım mekanizmalarında meydana gelen bozukluklar sonucu oluşan genomik kararsızlık çeşitli kanser ve hastalıklara sebep olduğundan, DNA onarımının nasıl gerçekleştiğinin bilinmesi önem kazanmaktadır. DNA'da oluşan hasarlar DNA onarım mekanizmaları ile düzeltilerek hücrelerin genomik bütünlüğü korunmaktadır. DNA onarım mekanizmaları hasarın tanınması, hasarlı kısmın uzaklaştırılması ve boşluğun doldurulması şeklinde üç basamakta gerçekleşmektedir. DNA hasarı DNA sentezi'ne (replikasyon) bağlı olmadan veya DNA sentezi sırasında farklı yollarla gerçekleşmektedir (şekil 2-5) (3-5).



Şekil 2-5. DNA Onarım Mekanizmaları

2.4.1. DOĞRUDAN ONARIM

2.4.1.1. Fotoreaktivasyon ile Onarım

2.4.1.2. O⁶-Metilguanin-DNA-Metiltransferaz (MGMT) ile Onarım

2.4.2. DOĞRUDAN OLMAYAN ONARIM

2.4.2.1. Kesip-Çıkarma Onarımı

2.4.2.1.1. Baz Kesip-Çıkarma Onarım Yolağı (Base Excision Repair) (BER)

2.4.2.1.2. Nükleotid Kesip-Çıkarma Onarım Yolağı (Nucleotide Excision Repair) (NER)

2.4.2.2. Çift Zincir Kırık Onarımı

2.4.2.2.1. Homolog Rekombinasyonel Onarım (Homologous Recombination Repair) (HR)

2.4.2.2.2. Homolog Olmayan Uç Birleştirme (NonHomologous End Joining) (NH-EJ)

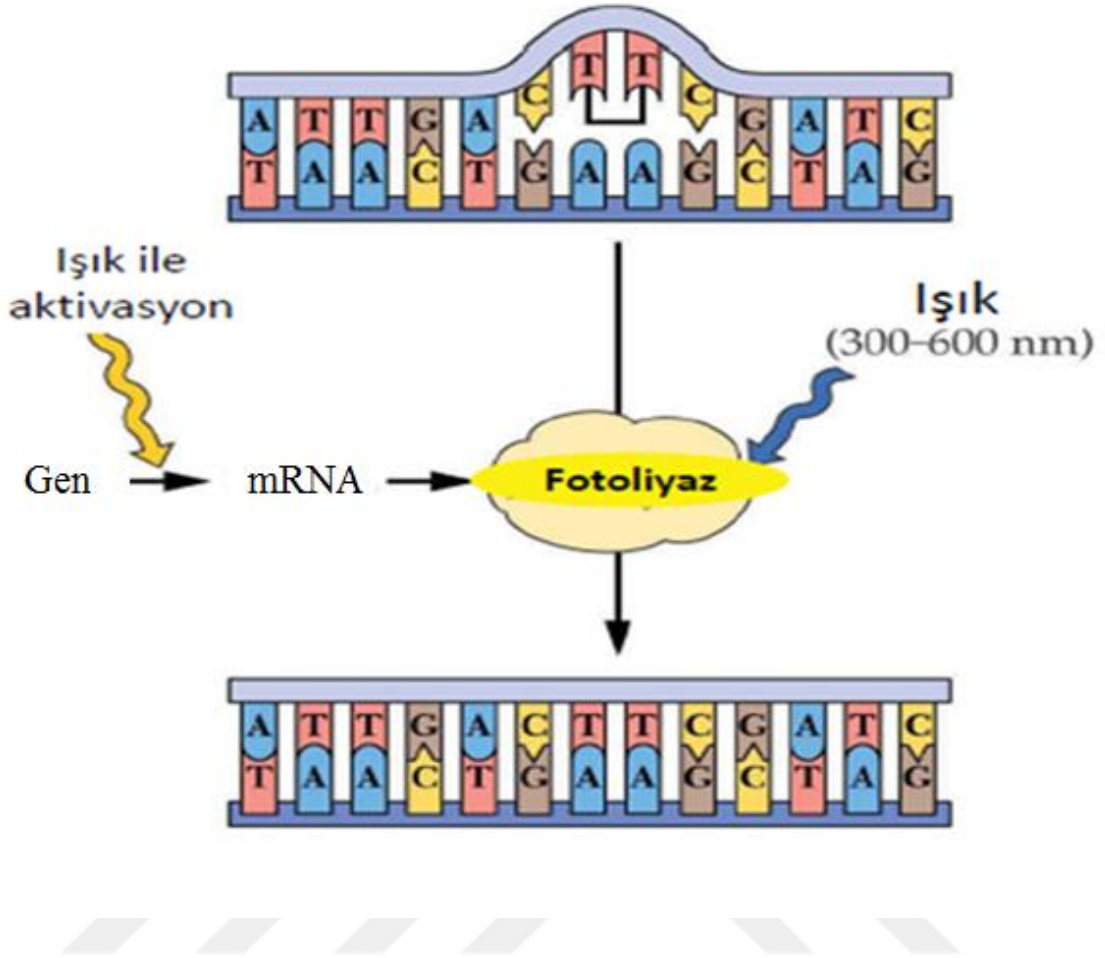
2.4.2.3. Yanlış Eşleşme Onarımı (Mismatch Repair) (MMR)

2.4.1. Doğrudan Onarım

Bu onarım yolunda zincir kırılmadan hasar onarılmaktadır. Doğrudan onarım yolu timin dimerleri ve alkillenmiş bazların onarımında rol oynamaktadır.

2.4.1.1. Fotoreaktivasyon ile Onarım

DNA üzerinde hasara uğramış baz çıkarılmadan eski haline getirilmektedir. Hasarın geri döndürülmesi onarım için en kolay yol gibi görünmesine rağmen bir çok durumda termodinamik ve kinetik nedenlerden dolayı gerçekleşmemektedir. Bu onarımda enzim aracılığı (Fotolizaz ve O-6-Metil-DNA-alkiltransferaz) ile gerçekleşen tek adımlı reaksiyonlar ile hasar onarılmaktadır. Siklobütan pirimidin dimerleri (CPDs), fotolizaz enzimi tarafından ayrılarak hasar giderilmektedir. Bu reaksiyona fotoreaktivasyon denilmektedir (Şekil 2-6). UV ile oluşan pirimidin dimerlerine spesifiktir. Sadece pirimidin dimerlerini kırdıklarından hata olasılığı bulunmamaktadır. Fotoreaktivasyon onarım sistemi bakterilerde, mantarlarda, bitkilerde ve çoğu omurgalıda bulunmasına karşın, insan dahil pek çok ökaryotik türde olmamasından dolayı evrensel bir onarım sistemi değildir (3-5,41).

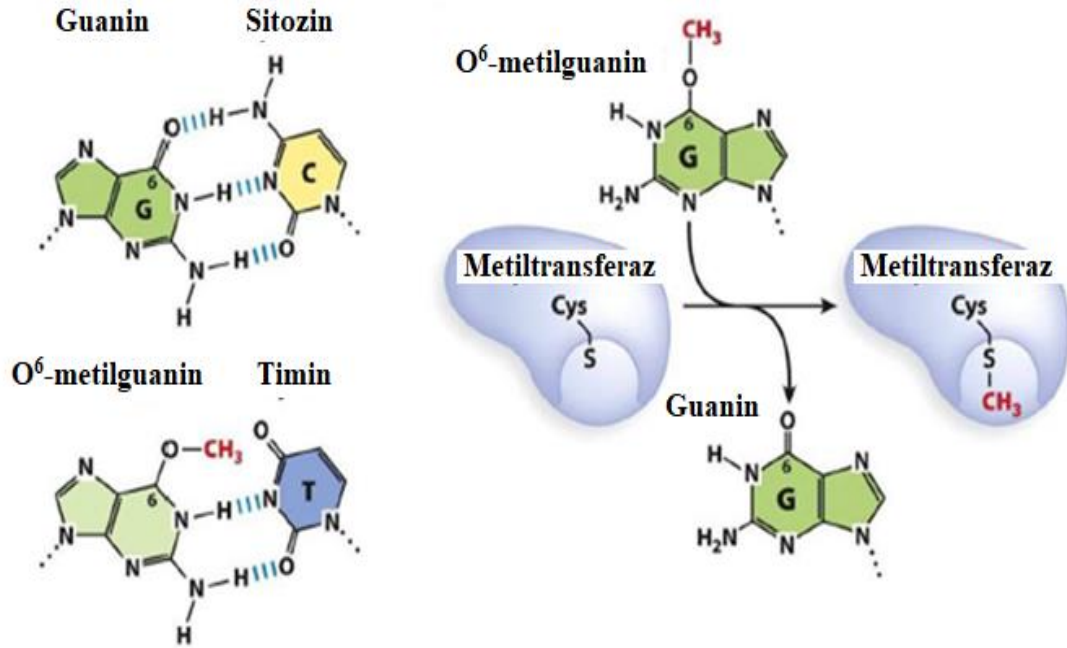


Şekil 2-6. Fotoreaktivasyon onarımı

2.4.1.2. O⁶-Metilguanin-DNA-Metiltransferaz ile Onarım

Guanin bazının O⁶ pozisyonundaki alkilasyon, alkilleyici ajanlar varlığında oluşmaktadır ve yüksek oranda mutajeniktir. Metilasyon ajanlarının hücre DNA'sında oluşturduğu O⁶-MeG eklentisi, MGMT (O⁶-metilguanin DNA-metiltransferaz) isimli bir enzim tarafından tamir edilmektedir ve bunun sonucunda metilasyon kaldırılmaktadır. O⁶-metilguanin-DNA metil transferaz enzimi, DNA daki yanlış metillenen bazların CH₃ gruplarını kendi sistein amino asidine transfer ederek normal guanin oluşumunu sağlamakta ve böylece alkilasyonun mutajenik etkisini ortadan kaldırmaktadır. O⁶-metilguanin (O⁶-MeG), transkripsiyon sırasında RNA polimeraz II'nin uzatma görevini kısmi olarak bloke etmektedir. Eğer tamir edilemezse, hücrenin ilk replikasyonu sonunda O⁶-MeG karşısına tamamlayıcı baz olarak timin gelmektedir. Bu hata, MMR sistemi ile de tamir edilemezse yanlış eşleşmiş bazlar

replikasyon sonunda hücrede çift zincir DNA kırıklarının oluşmasına, apoptoz yolağının tetiklenmesine, ayrıca kromozomal anomalilere ve kansere yol açtığı belirtilmektedir (Şekil 2-7) (2,4, 42,43).



Şekil 2-7. MGMT tarafından O⁶-MeG'nin Onarımı

2.4.2. DOĞRUDAN OLMAYAN ONARIM

2.4.2.1. Kesip-Çıkarma Onarımı

2.4.2.1.1. Baz Kesip-Çıkarma Onarım Yolağı (Base Excision Repair) (BER)

Alkilasyonun, deaminasyonun ve oksidasyonun neden olduğu DNA baz hasarları önemli DNA tamir süreçlerinden birisi olan BER ile tamir edilmektedir. DNA'da okside baz modifikasyonları genelde ROS tarafından oluşturulmaktadır. 8-hidroksiguanin (8-OHG) adeninle yanlış eşleşerek G:C-T:A transversiyon mutasyonlarına neden olduğu için premutagenik lezyondur. Sitozin, adenin ve guaninin deaminasyonu sonucu urasil, hipoksantin ve ksantin gibi zararlı deamine bazlar oluşmaktadır. Bu bazlar transisyon

mutasyonlarına neden olmaktadır. Alkilasyon reaksiyonları çeşitli DNA baz lezyonları oluşturabilmektedir. O6-metilguanin (6-meG) timinle yanlış eşleşme eğiliminde olduğu için premutajeniktir. N7-metilguanin (7-meG) ve N3-metiladenine (3-meA) ise replikatif DNA polimerazları bloke ederek sitotoksiktirler (44).

BER yolağında tamir hataya özgün monofonksiyonel (UDG, MPG, TDG vs) ya da birden fazla fonksiyona sahip olan bifonksiyonel DNA glikozilazlar (hOGG1, NTH1, NEIL1 vs) tarafından başlatılmaktadır (4). Monofonksiyonel DNA glikozilazlar sadece glikozilaz, bifonksiyonel DNA glikozilazlar ise glikozilaz ve AP liyaz aktivitesine sahiptirler. Glikozilaz enzimleri hasarlı baz ve şeker arasındaki N-glikozid bağını hidroliz ederek AP bölgeleri oluşturmaktadır. AP bölgeler Apürinik/Apirimidinik endonükleaz 1 (APE1) enzim tarafından onarılmaktadır. APE1 endonükleaz etkisi ile AP bölgenin 5' ucuna doğru fosfodiester bağını hidroliz ederek 3'-OH ve 5'-deoksiriboz fosfat (5'-dRP) kalıntılı tek zincir kırıklarını oluşturmaktadır. Oluşan 5'-dRP kalıntısı DNA polimeraz β 'nın dRP liyaz aktivitesi ile uzaklaştırılmaktadır. Bifonksiyonel DNA glikozilaz/liyazlar β -eliminasyon ve β,δ -eliminasyon reaksiyonları ile sırasıyla 3'-fosfo- α,β -doymamış aldehyd (3'PUA) ve 3'-fosfat (3'-P) uçları oluşturmaktadır. 3'PUA APE1'in 3'-fosfodiesteraz aktivitesi ile, 3'-P uçları polinükleotid kinaz 3'-fosfat (PNKP) enzimi ile 3'-OH uçlarına dönüştürülmektedir.

BER tamir yolağında bir sonraki basamak, hasarlı DNA zincirinin sentezi ve ligasyonudur. Bu basamak iki alt basamağa ayrılır:

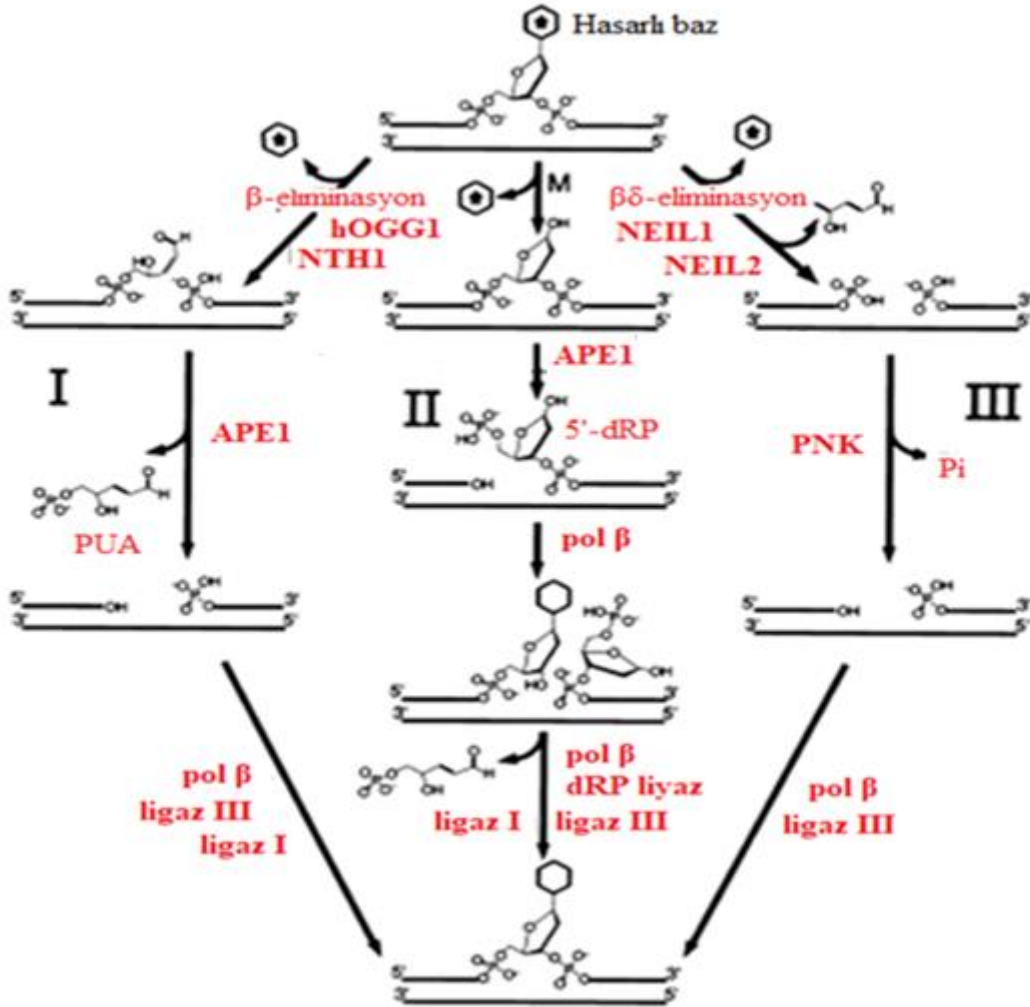
Kısa yamalı BER (SP-BER)

SP-BER alt basamağında tek nükleotid onarımı gerçekleşmektedir. Eksik nükleotid DNA polimeraz β tarafından DNA zincirine eklenmekte, ligasyon işlemi ise XRCC1 ve Ligaz III kompleksi tarafından gerçekleşmektedir.

Uzun yamalı BER (LP-BER)

LP-BER alt basamağında 2-10 nükleotidin kesip çıkarılarak onarımı gerçekleşmektedir. 5'-dRP kalıntıları polimeraz β tarafından uzaklaştırılmadığında LP-BER alt basamağının başladığı tahmin edilmektedir. LP-BER alt basamağında polimeraz ϵ/δ , RFC (replikasyon faktör-C), PCNA (prolifere hücre nükleer antijen), FEN1 (flap endonükleaz 1) ve DNA ligaz I önemli rol oynamaktadır. Polimeraz ϵ/δ , RFC ve PCNA 3'-OH ucu uzatarak sentezi tamamlamaktadır. 5'-dRP kalıntı 'flap' oligonükleotid şeklinde FEN1 tarafından DNA'dan

uzaklaştırılmaktadır. Ligasyon işlemi ligaz I tarafından gerçekleştirilmektedir (Şekil 2-8) (2-5).



Şekil 2-8. Baz Kesip-Çıkarma Onarım Yolağı (BER)

2.4.2.1.2. Nükleotid Kesip-Çıkarma Onarım Yolağı (nucleotide excision repair) (NER)

NER yolağı, DNA'nın normal heliks yapısını bozan hasarların onarımını gerçekleştirmektedir. UV ile indüklenmiş siklobütan pirimidin dimerleri ve 6-4 fotoürünler, sisplatin ve benzopiren gibi ekzojen kimyasal ajanlar tarafından oluşturulan DNA addüktleri, endojen lipid peroksidasyon ürünleri, siklopurinler gibi reaktif oksijen türlerinin neden olduğu baz modifikasyonları NER yolağı ile onarılmaktadır. BER'de bazlar tek olarak kesip çıkarılırken, NER'de hasarlı bazlar oligonükleotid parçaları olarak kesip çıkarılmaktadır. NER yolağında 30'un üzerinde protein yer almaktadır (4,5,46).

NER mekanizması ;

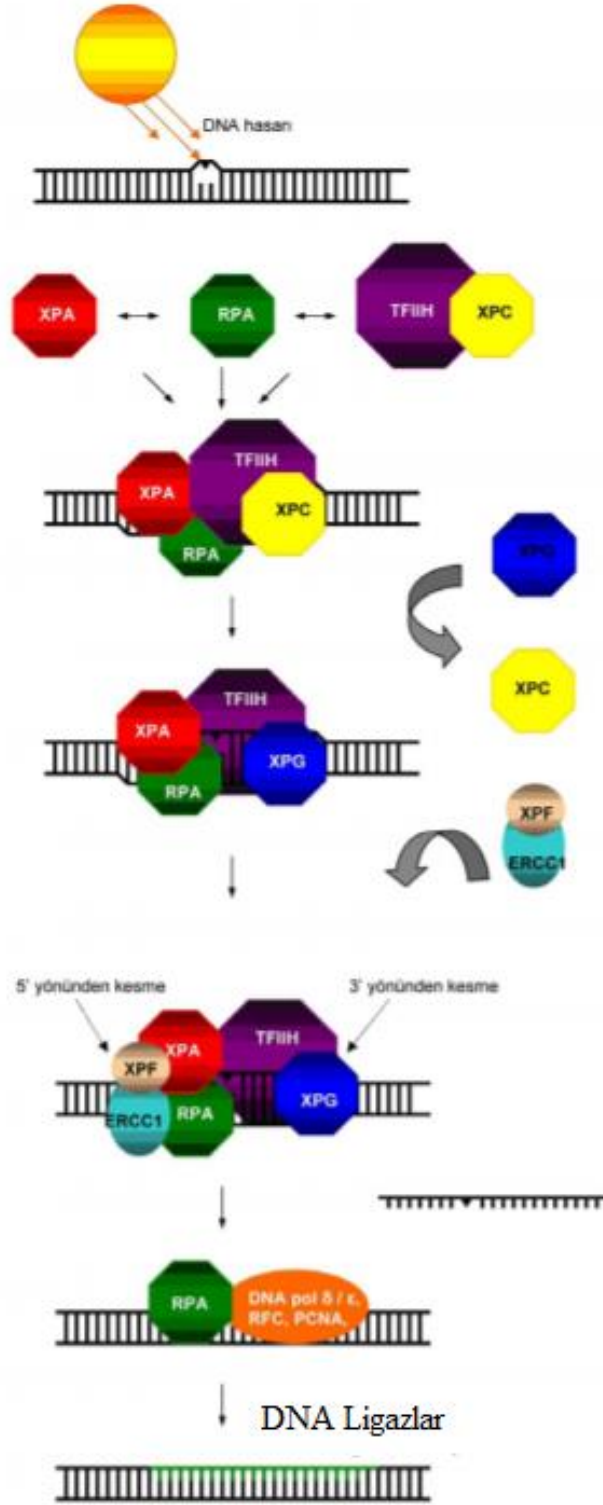
1. Hasarın tanınması
2. Protein kompleksinin hasarlı bölgeye bağlanması
3. ~24-32 nükleotid uzunluğunda bir fragman içinde bırakacak şekilde lezyonun her iki tarafından hasarlı zincirin kesilmesi
4. Hasarı içeren oligonükleotidin uzaklaştırılması
5. DNA sarmalı üzerinde meydana gelen boşluğun DNA polimeraz tarafından doldurulması
6. Ligasyon basamaklarından oluşmaktadır.

NER yolağı Global genom NER (Global Genome NER)/(GG-NER) ve Transkripsiyona kenetlenmiş NER (Transcription Coupled NER)/(TC-NER) olmak üzere iki ayrı alt yolağı ayrılmaktadır. GG-NER ile genom boyunca oluşan DNA hasarlarının tamiri, TC-NER ile aktif olarak transkript edilen genlerin tamiri gerçekleştirilmektedir. Bu alt yolaklar birbirinden hasarın transkripsiyon olan DNA bölgesinde olup olmadığı ve tamirin ilk basamağında yani hasarın tanınması aşamasında kullanılan proteinlerin farklı olmasıyla ayırt edilmektedirler. GG-NER yolağında, hasarlı DNA'ya ilk olarak XPC-RAD23B proteininin ve sonrasında transkripsiyon faktörü II H (TFIIH) kompleksinin, kseroderma pigmentozum grup A (XPA) ve replikasyon proteini A'nın (RPA) bağlanmasıyla onarım başlamaktadır. TFIIH kseroderma pigmentozum grup B (XPB) ve D (XPD) helikaz özellikli alt ünitelerine sahiptir. XPB ve XPD hasarlı bölgeyi içeren DNA çift zincirini helikaz aktivitesi ile ayırarak bir tamir kabarcığı oluşturmaktadır. XPA, TFIIH kompleksinin ortamdan uzaklaşmasını ve RPA'nın tek zincirli hasar görmüş DNA ile birleşmesini desteklemektedir. XPF-excision repair cross complementing 1 (ERCC1) kompleksi XPA ile, XPG de özellikle TFIIH ile etkileşim kurarak tamir kompleksine katılır ve böylece XPC-RAD23B ortamdan uzaklaşmaktadır. XPF-ERCC1 ve XPG endonükleazlar sırasıyla 5' ve 3' yönünde fosfodiester bağlarını iki yönlü kırarak hasar içeren 24-32 nükleotidlik oligonükleotid parçasını oluşturarak bölgeden

uzaklaştırmaktadırlar. Oluşan boşluk tamir proteinleri olan replikasyon proteini C (RPC), proliferasyon hücre nükleer antijen (PCNA) ve DNA polimeraz ϵ / δ tarafından doldurulmaktadır. Son olarak DNA ligaz 1 veya XRCC1–LIG3 ile ligasyon gerçekleşmektedir.

TC-NER hasarlı DNA bölgesinde RNA polimeraz II'nin ilerlemesinin duraklamasıyla başlamaktadır. Bu duraklama, hasarın giderilmesi ve transkripsiyonun yeniden başlatılmasında rol oynayan Cockayne sendromu grup A(CSA) ve Cockayne sendromu grup B (CSB) proteinlerine sinyal gönderilmesine yol açmaktadır. TC-NER yolağın da hasarın tanınması hariç diğer basamaklar GG-NER yolağı ile aynı olduğu belirtilmektedir (Şekil 2-9) (46,47).





Şekil 2-9. Nükleotid Kesip-Çıkarma Onarım Yolağı

NER proteinlerinden herhangi birini kodlayan genlerdeki mutasyonlar nadir görülen, otozomal resesif geçişli bazı hastalıklara sebep olmaktadır. Bunlar, Kseroderma pigmentozum (XP), Cockayne sendromu (CS), Trikotiyodistrofi (TTD) olarak isimlendirilmişlerdir. Bu

bireylerde güneşe duyarlılık, bazı dokularda erken yaşlanma, nörolojik bozukluklar ve genellikle UV kaynaklı cilt kanseri insidansında artış gözlenmektedir (46).

Kseroderma pigmentozum

NER yolağındaki Kseroderma pigmentozum grup A-G genlerindeki mutasyonlar otozomal resesif geçişli “kseroderma pigmentozum” sendromuna neden olmaktadır. Klinik bulgular UV ışığın oluşturduğu DNA hasarının onarılamaması ve mutajenik etkilere hassasiyetin artmasına bağlıdır. Parşömen kağıdı benzeri cilt (kseroderma) ve çillerin varlığı (pigmentozum) XP için karakteristiktir. XP’lu hastalarda çiller, pigmentasyon artışı, telenjiektaziler, atrofik bulgular, aktinik keratoz, keratoakantom, anjiom ve fibrom gibi iyi huylu lezyonlara çok sık rastlanmaktadır. Hastaların yaklaşık % 18’inde nörolojik anormalliklerin görüldüğü belirtilmektedir (2,47,48).

Cockayne sendromu

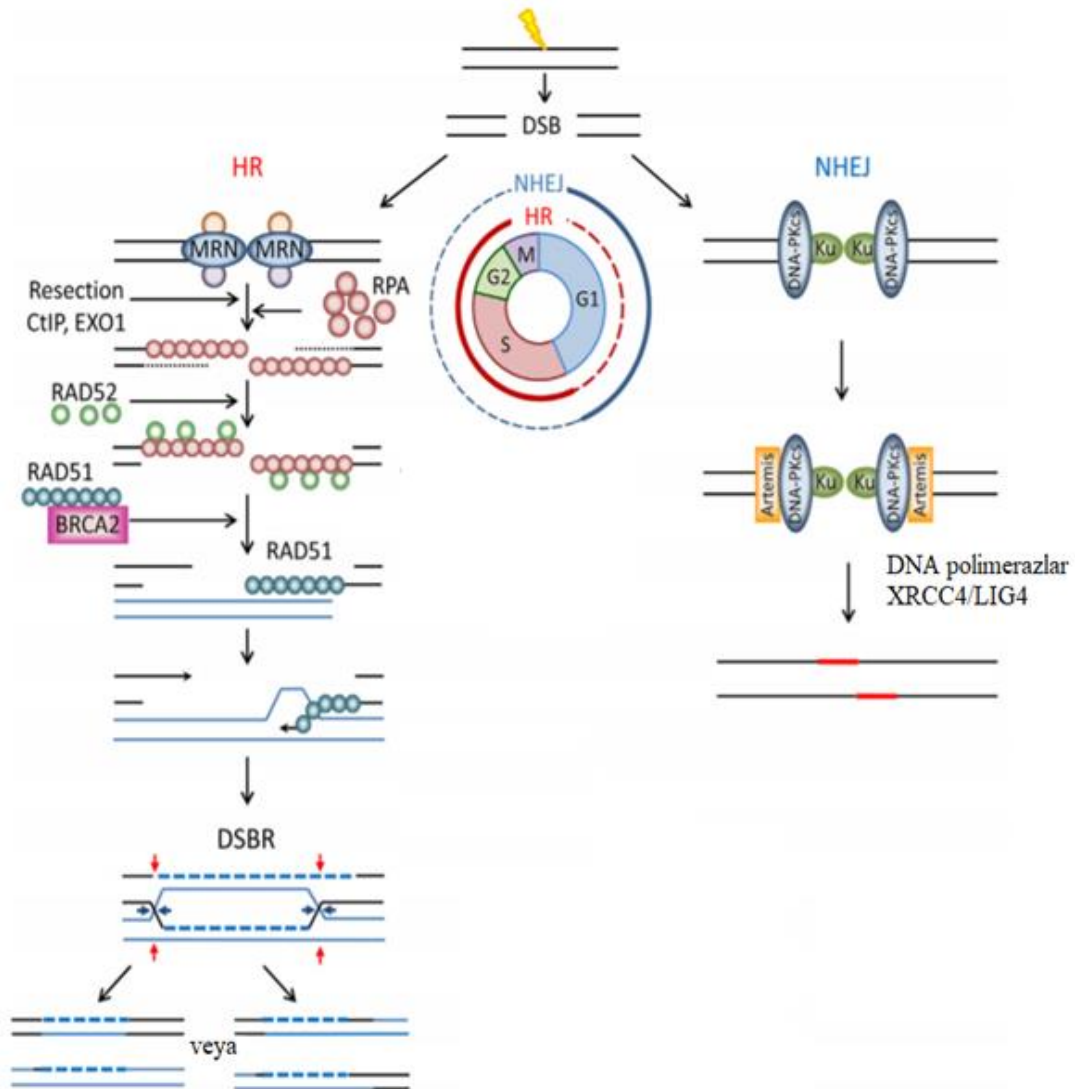
Cockayne sendromu grup A ve B genlerinden herhangi birindeki mutasyonlar otozomal resesif geçişli “Cockayne sendromu (CS)”na neden olmaktadır. CS erken yaşlanma sendromları arasında kabul edilmektedir. Kaşektik cücelik, kuş benzeri dar bir yüz şekli gibi fizik özellikler belirgindir. Fotosensitivite, buna bağlı olarak gelişen cilt ve göz bulguları XP’da olduğu gibi CS’da da görülmektedir (48,49).

Trikotiyodistrofi

NER yolağı bozukluğuyla seyreden üçüncü otozomal çekinik geçişli sendrom trikotiyodistrofidir. Trikotiyodistrofiye TFIH kompleksine ait Trikotiyodistrofi-A (TFB5) geni, XPB ve XPD genlerindeki mutasyonların neden olduğu belirtilmektedir. Fotosensitivite ve eritem TTD’de de gözlenebilir. Bununla birlikte kısa-kırılğan saçlar, iktiyozis, kırılğan tırnak yapısı en önemli fenotipik göstergelerdir (48,49).

2.4.2.2. Çift Zincir Kırık Onarımı

Çift zincir kırıkları; genotoksik bileşenler, reaktif oksijen türleri ve iyonize radyasyonun etkisi sonucu oluşabilmektedir. Çift zincir kırıkları oluştuğu zaman tamir edilemezse, hücre ölümüne neden olabilmektedir. Bu nedenle çift zincir kırık onarım mekanizması çok önemlidir. Çift zincir kırıklarının tamiri iki majör mekanizma ile sağlanmaktadır: homolog rekombinasyon (HR) ve homolog olmayan uç birleştirme (NHEJ). HR ve NHEJ çok farklı mekanizmalardır ve çok farklı protein faktörlerini gerektirmektedir (Şekil 2-10) (3,5,50).



Şekil 2-10. Homolog rekombinasyon (HR) ve Homolog Olmayan Uç Birleştirme (NHEJ) Onarım Sistemi

2.4.2.2.1. Homolog Rekombinasyonel Onarım (Homologous Recombination Repair) (HR)

HR hücre döngüsünün S ve G2 fazında gerçekleşmektedir. HR çift zincir kırık (DSB) onarımı kalıp olarak kardeş kromatid iplikçliğini kullanarak, hatasız olarak yapılmasını sağlamaktadır. HR'da tamir MRN kompleksi tarafından DSB tanınması ile başlamaktadır. MRN kompleksi hasar sensörü olarak rol oynamaktadır ve Mre11, Rad50 ve Nbs1 proteinlerinden oluşmaktadır. MRN, lezyonun etrafındaki DNA'ya bağlanır ve 5'-3' bağlı uç yönündeki kırık etrafındaki DNA'yı kesmektedir. Bu kesim diğer hasar tanıma proteinlerini toplamak için bir sinyal olarak rol oynamaktadır. Gerçekleştirilen bu kesim, HR'nin erken aşamasında, MRN kompleksi ile CtIP'nin etkileşimi sonucunda uyarılmaktadır. Mre11 tarafından kesimin başlamasını takiben, Exo1 daha kapsamlı bir kesim uygulamakta ve 3'uçlu tek zincir kırıkları oluşturmaktadır. RPA (Replikasyon proteini A) tek zincir DNA'ya bağlanmakta ve böylece zincir stabilize hale gelmektedir. BRCA1 tarafından RPA'nın lezyonun bulunduğu bölgede kalması tek zincir DNA'nın nükleazların etkisinden korunmasını sağlamaktadır. RPA, BRCA2 tarafından DNA'ya yüklenmiş olan rekombinaz Rad51 aracılığı ile DNA'dan çıkartılmakta ve Rad51, tek zincir DNA boyunca bir nükleoprotein filamenti oluşturmaktadır. Rad51 nükleoprotein filamenti ile kaplanmış tek zincir DNA kardeş homolog kromatidin DNA bölgesinin zincir invazyonunu gerçekleştirmektedir. Değişim ve invazyonu takiben, bir polimeraz (genellikle pol δ) tarafından DNA uzatılarak ligasyonla süreç tamamlanmaktadır. Sonuçta Holliday araürünlü denilen, iki çaprazlaşma içeren bir DNA molekülü oluşmaktadır (3-5).

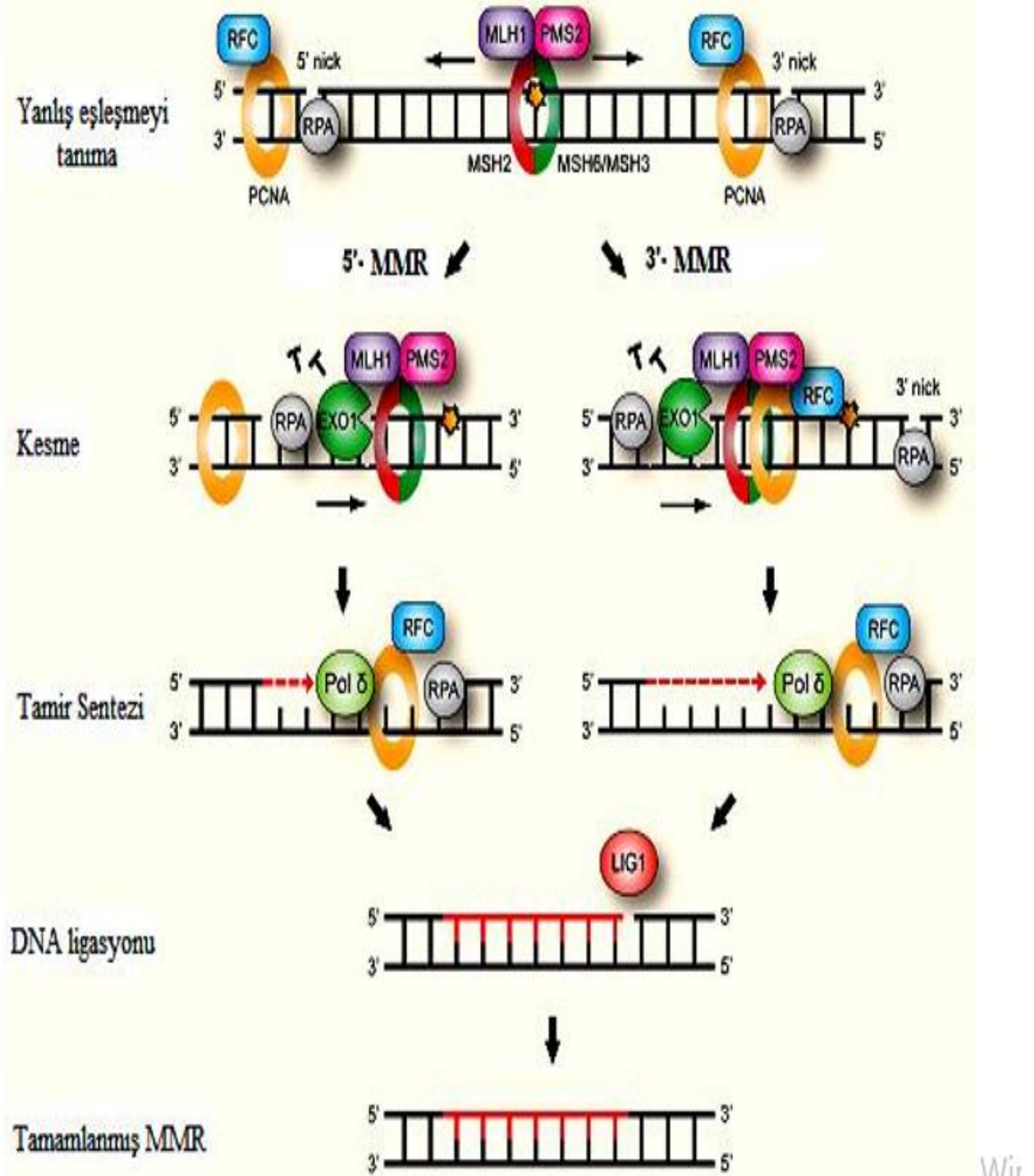
2.4.2.2.2. Homolog Olmayan Uç Birleştirme (NonHomologous End Joining) (NHEJ)

NHEJ hücre döngüsünün tüm fazlarında gerçekleşmektedir ama en aktif olduğu aşama G1 fazıdır. Bu tamir sistemi ile homolog kromozoma ihtiyaç duyulmaksızın onarım gerçekleşmektedir. NHEJ çift zincir kırık uçları modifiye edilerek birbirine bağlamaktadır. NHEJ'in ilk aşaması, iki çift zincir kırıklı DNA uçlarına Ku70/Ku80 heterodimerik protein kompleksininin bağlanmasıyla başlamaktadır. Ku70/Ku80 kompleksi aynı zamanda DNA-bağımlı protein kinazın katalitik alt birimi (DNA-PKcs) ile birleşmektedir. Bu multiprotein kompleksi DNA uçlarını stabilize edererek aynı düzleme getirmektedir. DNA-PKcs'lar arasındaki etkileşim, DNA-PKcs enziminin otofosforilasyonuna neden olarak protein kinaz etkisini aktif hale getirmektedir. DNA-PKcs, Artemis endonükleazını olan aktive etmektedir. NHEJ tamir yolağında DNA polimeraz μ ve λ , aynı zamanda NHEJ-spesifik nükleaz Artemis

tarafından nükleotidler eklenmektedir. XRCC4/ligaz 4 kompleksi tarafından ligasyon yapılarak NHEJ onarımının son adımı gerçekleştirilmektedir (Şekil 2-10) (5,50).

2.4.2.3. Yanlış Eşleşme Onarımı (Mismatch Repair) (MMR)

MMR, DNA replikasyonu sırasında baz-baz yanlış eşleşmeleri ve rekombinasyonu esnasında ortaya çıkan insersiyon-delesyon looplarının (IDLs) uzaklaştırılmasından sorumludur. MMR yolağında MutS ve MutL homolog proteinleri önemli görev almaktadır. Her iki protein de yanlış eşleşmeleri tanıma ve tamir başlatmada kritik bir rol oynamaktadır. MSH2/MSH6 heterodimeri MutS α 'yı, MSH2/MSH3 heterodimeri MutS β 'yi oluşturmaktadır. MutS α tek baz-baz yanlış eşleşmelerini ve 1-2 nükleotid baz IDLs hatalarını tanıırken, MutS β iki ve daha fazla IDLs hatalarını tanıyabilmektedir. MutL homologları (MLH1-PMS2) MMR için gerekli olan diğer proteinleri ve yanlış eşleşme tanıma kompleksi arasındaki etkileşimi koordine etmektedir. PCNA, EXO1, DNA polimerazlar, RPA ve helikazlar tamire katılan diğer proteinlerdir. İnsanda MutL 3 heterodimeri formunda: MutL α (MLH1-PMS2), MutL β (MLH1-MLH3) ve MutL γ (MLH1-PMS1) bulunmaktadır. MutL α ve MutL γ endonükleaz etkisine sahiptir. Son çalışmalar, MMR yolağında MutL α 'nin PCNA/RFC-bağımlı endonükleaz aktivitesine sahip olduğunu ve bu aktivitenin EXO1 ile birlikte 3' ucun tamirinde rol oynadığı belirtilmektedir. PCNA, MSH2 ve MLH1 ile etkileşerek onarımın başlamasında ve ayrıca DNA'nın sentezinde rol aldığı ileri sürülmektedir. DNA Polimeraz δ ile boşluk olan bölgeye uygun baz eklenerek ve Lig1 ile ligasyon işlemi gerçekleştirilerek MMR tamamlanmaktadır (Şekil 2-11) (3-5,51).



Şekil 2-11. İnsanda Yanlış Eşleşme Tamiri (MMR)

2.5. DNA ONARIMI VE POLİMORFİZM

Polimorfizm, kişiler ve popülasyonlar arası DNA dizisindeki farklılıklar olarak tanımlanmaktadır. Eğer DNA dizisindeki bu farklılık popülasyon genelinde %1'den fazla görülüyorsa ancak o zaman polimorfizm olarak isimlendirilmektedir. Mutasyonlar ile polimorfizmler arasındaki farklardan birisi görülme sıklığıdır. Polimorfizmler, mutasyonlar göre yaygın olarak görülmektedir. Polimorfizmler bireylerin hastalık prognozlarının, ilaçlara verdikleri tepkilerin, ilaçların bireyde gösterdiği yan etkilerin farklı olmasına sebep olduğu gibi genetik belirteç olarak da kullanılmaktadır. DNA polimorfizmleri genlerin protein kodlayan ya da kodlamayan bölgelerinde meydana gelebilirler ve Mendel kurallarına uygun olarak nesillere aktarılırlar (52,53).

DNA polimorfizm çeşitleri:

- Tek nükleotid polimorfizmleri (single nucleotide polymorphism, SNP)
- Sınırlayıcı enzim parça uzunluğu polimorfizmi (restriction fragment length polymorphism, RFLP)
- Değişken sayıda tandem tekrarlar (minisatellitler; variable numbers of tandem repeats, VNTR)
- Kısa tandem tekrarlar (mikrosatellitler; short tandem repeats, STR).

Tek nükleotid polimorfizmi (SNP) en sık görülen polimorfizm olup 3-10 milyon arası SNP varyantı olduğu tahmin edilmektedir. SNP'ler protein fonksiyonunu etkileyen DNA'nın kodlanan ve fenotip üzerine etkisi bulunmayan kodlanmayan DNA bölgelerinde yer almaktadır. RFLP, restriksiyon enzimlerinin tanıdığı DNA dizilerinde oluşan tek nükleotid değişimleri olarak düşünülebilirler. STR'lar ve VNTR'lar yüksek oranda polimorfiktirler. Tekrar dizilerinin kopya sayısı sebebiyle uzunlukları değişmektedir. STR'lar 2-6 baz çiftlik, VNTR'lar ise 7-10 baz çiftine kadar uzayabilir tekrarlardan oluşmaktadır. STR lokusu genomun herhangi bir bölgesinde birkaç tekrardan 100 tekrara kadar uzayabilir. VNTR lokusları genomda daha az bulunmaktadır. STR'lar polimorfik karakterlerinden dolayı adli vakalarda ve gen haritalandırma çalışmalarında kullanılmaktadırlar. STR analizlerinde PCR, VNTR analizlerinde ise Southern blot tekniği kullanılmaktadır (52,53).

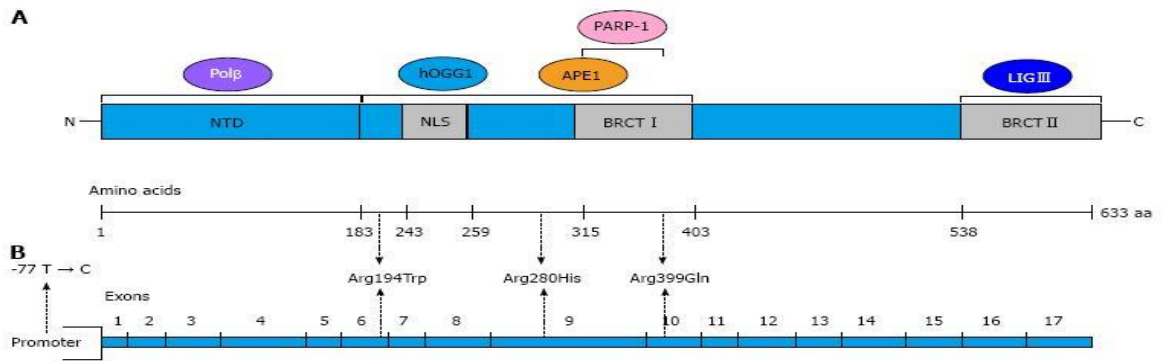
DNA onarımında görev alan hOGG1, ERCC1, XRCC1, XRCC2, XRCC3, XPC, XPD, XPF, APE, BRCA2 vb. genlerin çeşitli polimorfizmleri bulunmaktadır. Bu genlerde meydana gelen polimorfizmler sonucu bu genlerin kodladığı proteinlerin fonksiyonları etkilenerek

hasarlı DNA'yı onarma kapasitesinin değişmesine sebep olabilmektedir. DNA onarım kapasitesinde meydana gelen yetersizlik genetik kararsızlığa ve dolayısıyla kanserleşümüne neden olabilmektedir (54,55). Bununla birlikte, sadece DNA onarım genlerinde oluşan polimorfizmler kanser için risk çeşitliliğini açıklamakta yeterli değildir. DNA onarımı, genomik kararsızlık ve apoptozis olaylarının birbirleriyle etkileşmesi sonucu kanserin patofizyolojisinde çok önemli role sahip olabileceği belirtilmektedir (54,55).

BER ve tek zincir kırıkları yollarında görev alan üç protein, BER proteinleri için iskele görevi gören XRCC1, 8-OHG'nin uzaklaştırmasını sağlayan hOGG1 ve AP bölgelerin kesiminde ve 3'-OH uçlarının oluşumunda anahtar enzim olan APE1'dir (11,50,56-58). Yapılan çalışmalar incelendiğinde, BER yolağında bulunan DNA tamir genlerinden XRCC1 Arg399Gln, APE1 Asp148Glu ve hOGG1 Ser326Cys en sık görülen polimorfizmlerdir.

2.5.1. X-ray Pair Cross-Complementing Gene 1 (XRCC1) Arg 399Gln gen polimorfizmi ve kanserle ilişkisi

XRCC1; BER yolağında yer alan DNA onarım genlerinden biri olarak belirtilmektedir. XRCC1 geni, serbest oksijen radikallerinin, ultraviyole, alkilleyici mutajenlerin ve iyonize radyasyonun yaptığı baz değişimi sonucu meydana gelen DNA tek zincir kırılmalarının onarılmasında rol alan XRCC1 proteinini kodlamaktadır. XRCC1 genindeki polimorfizmlerin, DNA tamir kapasitesinin değişmesine sebep olduğu ve bunun sonucunda kanser için bir risk oluşturduğu belirtilmektedir (10,11,59).



Şekil 2-12. XRCC geninin yapısı

XRCC1 geni kromozomda 19q13.2-13.3'de bulunduğu, 17 eksondan oluştuğu ve yaklaşık olarak 31.9 kb uzunluğunda olduğu belirtilmektedir. XRCC1, katalitik aktiviteye sahip olmayan bir iskelet proteini olarak bilinmektedir. BER yolağında XRCC1, DNA ligaz III, DNA polimeraz- β ve PARP ile etkileşim içinde bulunmaktadır. XRCC1, merkezde BRCT1 ve C terminalinde BRCT2 alanları içermektedir. DNA polimeraz- β NH₂-terminali ile, DNA ligaz III BRCT2 domeni, PARP BRCT1 domeni ile etkileşim kurmaktadır (Şekil 2-12) (10,11,20,60,61).

XRCC1 geninde kodon 194 Arjinin/Triptofan (Arg/Trp), kodon 280 Arjinin/Histidin (Arg/His) ve kodon 399 Arjinin/Glutamin (Arg/Gln) de tespit edilen üç tip polimorfizm bulunmaktadır (10,11,60,62). XRCC1 geni ekson 6, kodon 194'de 26304. pozisyonda Sitozin/Timin (CT) değişiminin neden olduğu polimorfizm protein yapısında Arg/Trp aminoasit değişimine neden olmaktadır (10,11,62). Arg194Trp polimorfizmi, XRCC1'in hidrofobik bölgesinde baz değişimine neden olmaktadır. XRCC1 geni ekson 9, kodon 280 Arg/His polimorfizmde; protein yapısında Arg/His aminoasit değişimine neden olmaktadır. XRCC1 geni ekson 10, kodon 399'da 28152. pozisyonda Guanin/Adenin (G/A) dönüşümünün neden olduğu bir başka polimorfizm ise, protein yapısında Arg/Gln aminoasit değişimine neden olmaktadır. Arg399Gln polimorfizminde, poli ADP-riboz polimeraz (PARP) bağlanma bölgesindeki baz değişiminden dolayı, genin kodladığı proteinde fonksiyonel değişime neden olduğu öne sürülmektedir (10,11,20,61,62).

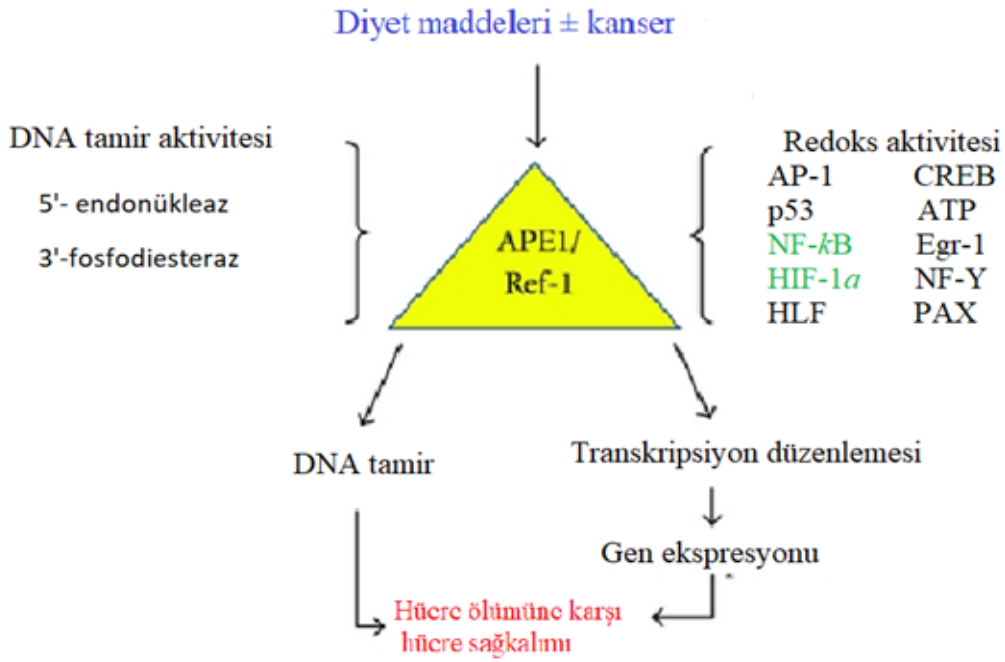
XRCC1 gen polimorfizmleri ile ilgili, insanlarda kanser ile ilgili bir çok (akciğer, meme, kolorektal, baş-boyun) çalışma bulunmaktadır (10,16,59,63). Yapılan birçok farklı çalışmada XRCC1 399Gln riskli bir allel olduğu gösterilmiş olmasına rağmen (8,10,12,13, 22), bazı araştırmalarda böyle bir ilişkinin olmadığı ileri sürülmektedir (14,15). DNA onarım kapasitesinin değişmesine neden olan XRCC1 genindeki bu fonksiyonel polimorfizmlerin bilinmesi kanser etiyojisi, riski ve tedavisine verilen yanıtta önemli olabileceği belirtilmektedir (60,64,65).

2.5.2. Apürinik/Aprimidinik Endonükleaz 1 (APE1) Asp148 Glu gen polimorfizmi ve kanserle ilişkisi

APE1 aynı zamanda APE, APEX ve REF-1 olarak da bilinmektedir. APE1, oksidasyon ve alkilasyonun neden olduğu DNA hasarı onarımında BER yolağında önemli bir enzim olarak bilinmektedir (17-20).

Apürinik/Aprimidinik (AP) bölgeler, kimyasal depürinasyon/depirimidinasyon ve oksidatif stres nedeniyle modifiye bazların kaybından kaynaklanmaktadır. Bir çok endojen ve ekzojen etkenler yanında DNA'dan hasarlı veya yanlış bazların çıkarılması sırasında DNA glikozilazlar tarafından da AP bölgeleri oluşabilmektedir (8,19). Alkilleyici ajanlar N-glikozil bağı dengesiz hale getiren baz modifikasyonlarına neden olarak, ayrıca iyonize radyasyonun DNA şeker fosfat omurgasına etkisi sonucu AP bölgeler oluşumuna sebep olabilmektedir. AP bölgeleri sitotoksiktir ve hücrenin bütünlüğü ve hayatta kalması için büyük bir tehdit oluşturmaktadır. AP bölgeleri tarafından indüklenen sitotoksosite mekanizmasının tam olarak bilinmemesine rağmen, sitotoksitesinin bir sebebinin replikasyon çatalı ilerlemesine müdahale etme kabiliyetinden kaynaklandığı ileri sürülmektedir. Replikatif DNA polimerazları bir AP bölgesine rastladığında replikatif kromozom zincir kırıklarının oluşmasına neden olmaktadır. Buda yeterince yüksek düzeylerde olduğunda hücresel işlev bozukluğuna neden olmaktadır. AP bölgelerinin sitotoksitesinin, topoizomerazların DNA bölünme aktivitesini artırma ve/veya önleme (kesme alanına olan yakınlığına bağlı olarak) ve/veya topoizomeraz-DNA kovalent kompleksini geri döndürülemez şekilde tutma görevi ile de ilgili olabileceği ileri sürülmektedir. Apürinik/Aprimidinik endonükleazlar AP bölgelerinin BER yolağında tanınması ve işlenmesinde rol oynayan kritik enzimlerdir. AP endonükleazları geniş olarak iki sınıf protein sınıfına ayrılmaktadır. Sınıf I, AP Liyaz ve Sınıf II AP endonükleazlar olarak sınıflandırılmaktadır. Sınıf II AP endonükleazları ekzonükleaz III ve endonükleaz IV olmak üzere iki ayrı aileye ayrılmaktadır. Ekzonükleaz III ve homologu APE1, sırasıyla bakterilerde ve insanlardaki Apürinik/Aprimidinik endonükleazlarını temsil etmektedir (17,19,66).

APE1 hem DNA onarım aktivitesine hem de redoks düzenleyici etkinliğe sahip proteindir. N-terminal bölgesi, APE1'in redoks aktivitesi için önemli olarak belirtilmektedir. C-terminal bölgesinin ise DNA onarım aktivitesi için gerekli olarak belirtilmektedir (şekil 2-13) (17,19,66). APE1 geni oksitlenmiş DNA'dan 3'-bloke edici parçaları hidroliz ederek, DNA onarımı ve tek veya çift zincirli kırılmalarında ligasyon için gerekli olan normal 3'-OH nükleotid uçları oluşmasını sağlamaktadır (66-70). Ayrıca APE1 birçok transkripsiyon faktörü için transkripsiyonel bir koaktivatör olarak görev aldığı bildirilmektedir (AP-1, P53, Pax-5 ve TTF-1) (66,71).



Şekil 2-13. APE1/Ref-1 in DNA tamir ve redoks aktiviteleri

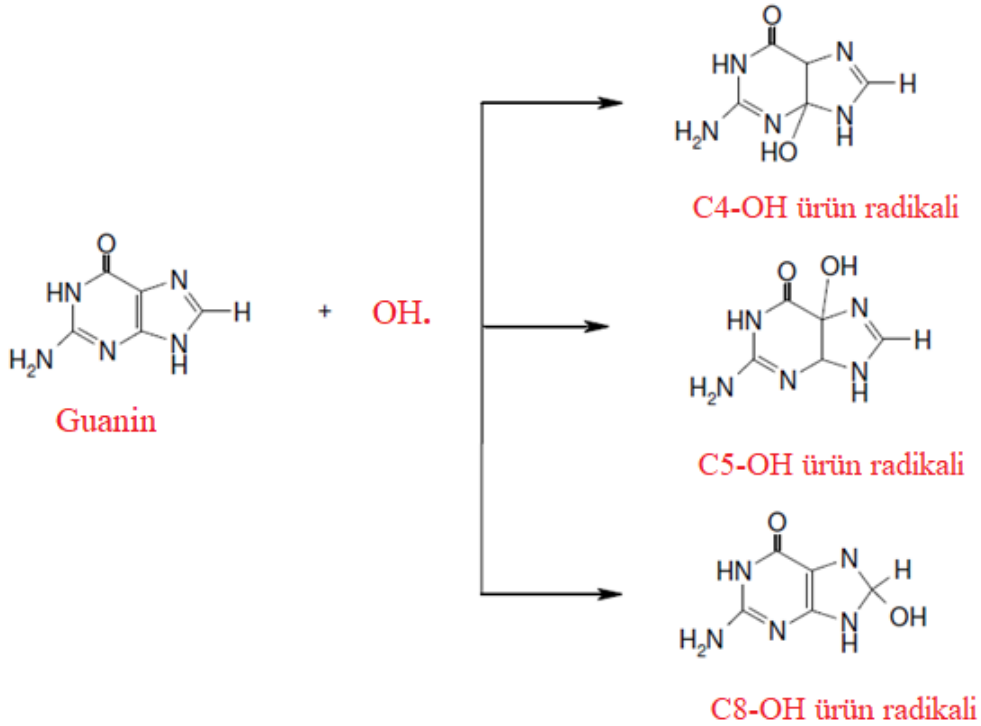
İnsan APE1 geni (2.6 kb boyutunda) kromozom 14 q11.2-12' de bulunduğu, dört intron ve beş ekzondan oluştuğu belirtilmektedir (72,73). APE1 için toplam 18 polimorfizm tanımlanmıştır. APE1 geninde ekzon 5'teki aspartik asit glutamik asit değişikliğine sebep olan T-G değişikliği (Asp148Glu) ve ekzon 3'teki glutamik asit histidin değişikliğine sebep olan C-G değişikliği (Gln51His) gibi tek nükleotid polimorfizmleri belirlenmiş olup bunların enzim fonksiyonu üzerinde etkili olabileceği belirtilmiştir. Ancak en yaygın olarak incelenen polimorfizm bir T ile G değişimi sonucu oluşan, Asp148Glu (rs1130409) polimorfizmidir (74).

APE1 Asp148Glu gen polimorfizminde, APE1'in diğer BER proteinleri ile etkileşime girme yeteneğinde değişiklikler olabileceğinden ve bunun sonucunda DNA tamir kapasitesini düşürebileceğinden dolayı 148 Glu allelinin bir risk faktörü olabileceği öne sürülmektedir. Böylece, Glu alelinin varlığı DNA hasarına karşı savunmasızlığın artmasına yol açabildiği ve bunun başta kanser olmak üzere çeşitli hastalıkların gelişimine sebep olabileceği ileri sürülmektedir (19,20,75). Yapılan araştırmalarda, APE1 148Asp/Glu gen polimorfizminin, meme (8), baş-boyun (21), endometriyum (22) ve kolorektal (56) gibi çeşitli kanser türlerinin

gelişiminde önemli bir rol oynadığı belirtilmektedir. Bazı çalışmalarda ise APE1 gen polimorfizmi ile kanser oluşum riski arasında hiçbir ilişki bulunmadığı belirtilmektedir (23,67).

2.5.3. Human 8-oksoguanin DNA glikozilaz (hOGG1) Ser326Cys gen polimorfizmi ve kanserle ilişkisi

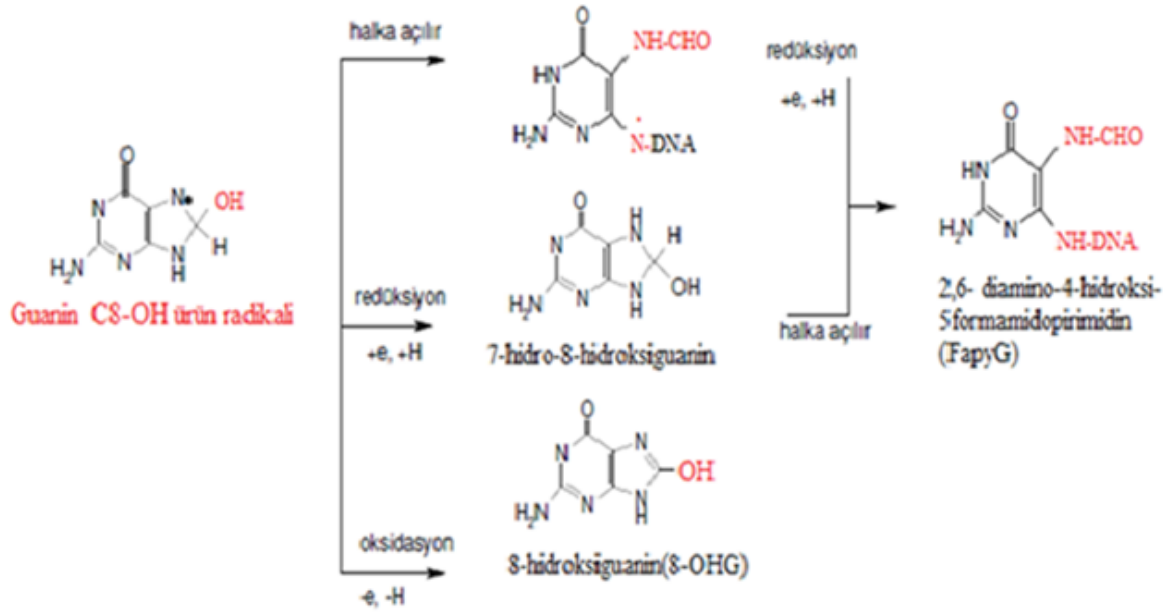
DNA'da yer alan dört baz arasında en kolay okside olan baz guanindir. 8-hidroksiguanin (8-OHG) DNA'da reaktif oksijen türleri tarafından üretilen en önemli lezyonlardan biridir ve üzerinde en çok çalışılan DNA hasar tipi olarak bilinmektedir (74). DNA'nın dört farklı bazında serbest radikallerin reaksiyonu sonucunda 20 veya daha fazla ara ürün oluşmaktadır. OH• radikallerinin reaksiyonları sonucu pürin ve pirimidin bazlarında değişimler meydana gelmektedir. Guanin bazının 4, 5 veya 8. pozisyonlarında yer alan C atomlarına OH• radikali katılarak çeşitli ürünler oluşmaktadır (şekil 2-14) (76,77).



Şekil 2-14. Guanin ürünleri

DNA'da yaklaşık olarak 15 adet guanin ürünü tanımlanmıştır. Bunların içinde en fazla oluşan 8-OHG ve FapyG'dir (Şekil 2-15). Hücrel oksidatif stresin biyogöstergesi olarak kabul

edilen 8-OHG, DNA zincirinin uzamasını engellemekte ancak DNA replikasyonu sırasında adenin ile yanlış eşleşme yaparak GC→TA transversiyonunu indüklemektedir (76-78).



Şekil 2-15. 8-hidroksiguanin (8-OHG) ve FapyG

8-hidroksiguaninden ana koruyucu mekanizmalar üç seviyede faaliyet göstermektedir:

Önleme - 8-okso-dGTP'nin hidroliziyle DNA'ya 8-okso-dGMP'nin katılmasını önlemek

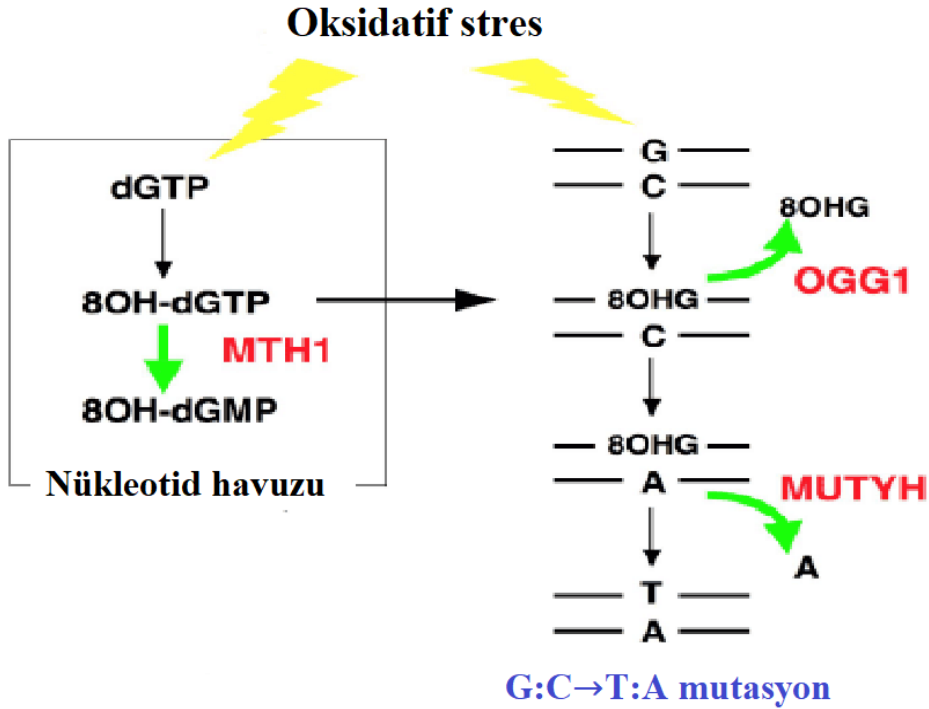
Bu reaksiyon MTH1 enzimi tarafından katalize edilir.

Onarım - DNA'dan 8-hidroksiguanini çıkarmak ve orijinal DNA dizisini geri getirmek

Bu öncelikle hOGG1 tarafından başlatılan BER yolağında 8-OHG:A baz çifti tekrar G:C baz çiftini oluşturmak için onarılmaktadır.

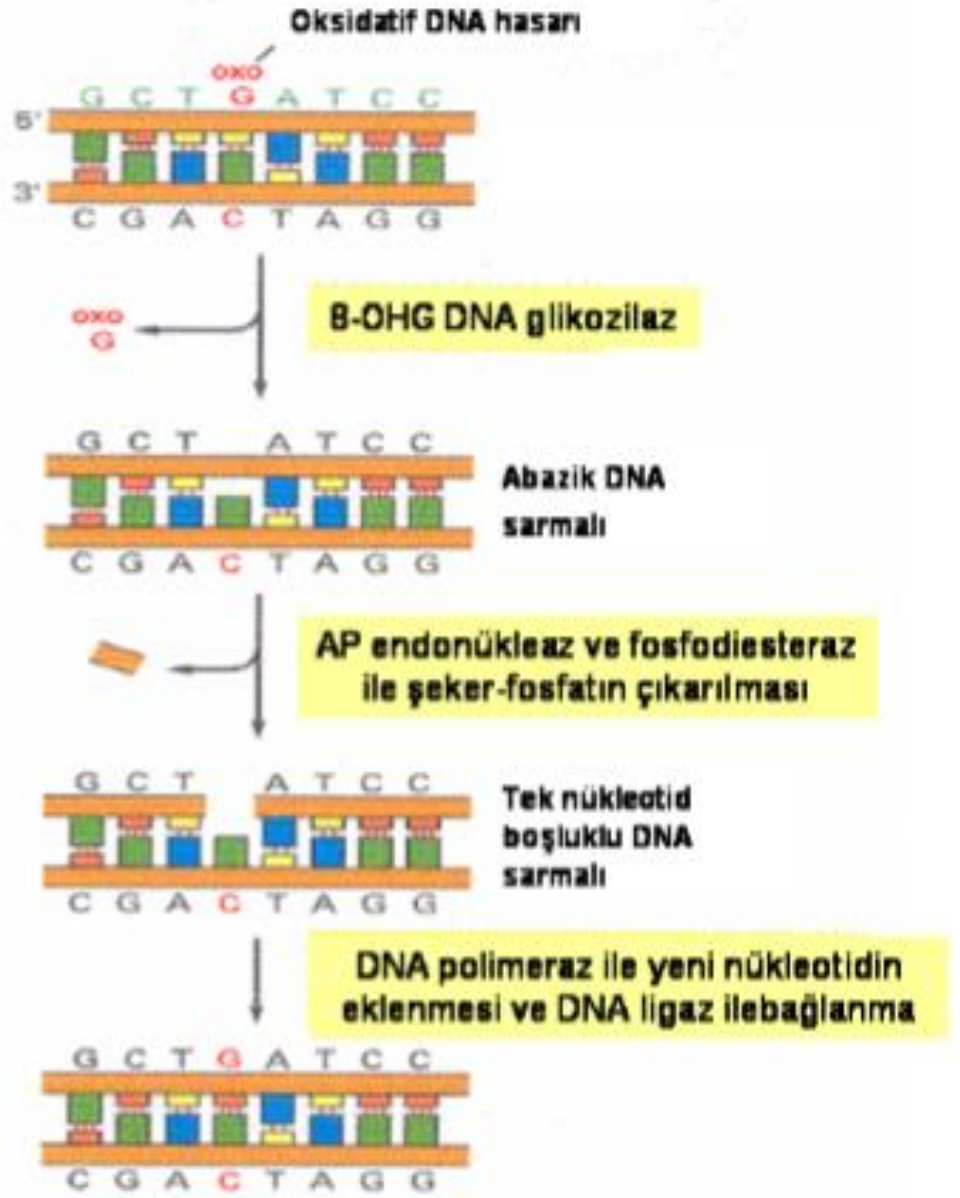
Düzeltilme - premutagenik 8-OHG:A yanlış eşleşmesinin bir 8-OHG:C baz çifti haline dönüştürülmesini sağlamak için 8-OHG ile yanlış eşleşmiş olan bir adenini çıkartmak

Bu reaksiyon MUTYH tarafından başlatılan BER ile gerçekleştirilir (Şekil 2-16) (79).



Şekil 2-16. 8-hidroksiguaninden ana koruyucu mekanizmalar

Kromozom 3p25'te bulunan hOGG1 genomik DNA'sı ~16.7 kb uzunluğunda ve 8 ekzondan oluşmaktadır. DNA baz çıkarma onarım enziminden biri olan hOGG1, 8-OHG lezyonlarının onarımında ve karsinogenezi önlemede önemli bir fonksiyona sahip olduğu belirtilmektedir. DNA glikozilazlar BER yolağındaki anahtar enzimlerden biridir. Bu onarım yolunda, en önemli fonksiyona sahip olan DNA glikozilazdan biri olan; 8-OHG'yi uzaklaştıran hOGG1 olduğu belirtilmektedir (80-83). BER yolağı enzimleri iki ana alt gruba ayrılmaktadır. Bunlardan biri sadece glikozidik bağın hidrolizini katalizleyen monofonksiyonel glikozilazlar, diğeri ise ek olarak abazik alan oluşumu için liyaz aktivitesinin de bulunduğu bifonksiyonel glikozilazlar olarak bilinmektedir (4,5,80,84). En yaygın oksidatif DNA hasarı olan 8-OHG onarımının primer yolağı BER deki kısa yolak olarak belirtilmektedir. Ancak kısa yolak componentleri olmadığında veya doygunluğa ulaştığında kısa yolak yerine uzun yolak yer almaktadır (4,5,80,85). hOGG1 okside guanin (8-OHG) ile deoksiriboz yapısı arasındaki N-glikozid bağlarını keserek 8-OHG'in uzaklaştırılmasını sağlamaktadır (Şekil 2-17). Ayrıca β eliminasyon reaksiyonu ile fosfodiester bağını keserek abazik bölge oluşmasını katalizleyen DNA glikozilaz / AP liyaz aktivitesine sahip bifonksiyonel bir enzim olarak bilinmektedir. Ancak hOGG1'in AP liyaz aktivitesi glikozilaz aktivitesinden daha zayıf olduğu belirtilmektedir (4,5,80,86,87).



Şekil 2-17. hOGG1 onarım mekanizması

Yapılan çalışmalarda hOGG1 geninde birçok SNP belirlenmesine, ekzon 7'de 1245. pozisyonda yer alan C/G polimorfizmi, kodon 326'da serinden sistein amino asit değişimine sebep olmaktadır (24,88-90).

İn vitro E. coli de yapılan bir çalışmada, Ser326 allelinin kodladığı hOGG1 proteininin DNA onarım aktivitesinin Cys326 varyantından çok daha yüksek olduğu belirtilmektedir (89). Bu polimorfizm sonucunda Cys 326 varyantının onarım kapasitesinin 7 kat daha az olduğu belirtilmekte ve bunun sonucunda DNA'da 8-OHG oluşumu için duyarlılığı artırabileceğini ileri sürülmektedir (91). Buna karşın insanda Ser326 ve Cys326 proteinlerinin aktivitelerini saptamak amacıyla yapılan bir in vitro çalışmada (92) ve insan lenfositlerinde yapılan bir in vivo çalışmada hOGG1 DNA onarım aktivitesinin polimorfizme bağlı olmadığı belirtilmektedir (93). Diğer yandan, hücre kültüründe yapılan bir çalışmada ise hOGG1 Cys326 proteininin aktivitesinin Ser326 proteininden daha düşük olduğu bildirilmektedir (94). Yine bir başka çalışmada, Ser326Cys polimorfizminin hOGG1 enzim aktivitesiyle ilişkili olduğu belirtilmektedir (95,96). Aktivite çalışmalarında çelişkili sonuçların bulunması sebebiyle aminoasit substitüsyonunun enzimin katalitik özelliğini etkileyip etkilemediği henüz çok açık olarak açıklanamamaktadır (97). Japonya'da baş boyun kanserli hastalarda Ser326Cys polimorfizminin kanser gelişme riskini artırıp artırmadığını araştırmak amacıyla yapılan çalışmada kanser tipi, alkol ve diğer risk faktörleriyle polimorfizm arasında herhangi bir ilişki bulunmazken yılda 40 paketten fazla sigara içen baş boyun kanserlilerde Cys/Cys genotipine sahip bireylerde kanser riskinde artış bildirilmektedir (98). Choi ve ark., Asyalı (Kore ve Japon popülasyonunda) kadınlarda, hOGG1 gen polimorfizmi ile meme kanseri riski arasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, meme kanseri ile Ser326Cys genotipi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkinin bulunmadığı belirtmektedirler (99). Farklı kanserlerde yapılan çalışmalarda kanserlerin oluşum riski ile Ser326Cys polimorfizmi arasında bir ilişki bulunamadığı ileri sürülmektedir (30,31,97,100). Bunun yanında bazı çalışmalarda gastrik, mesane, safra kesesi, böbrek hücreli karsinom ile Ser326Cys polimorfizmi arasında anlamlı ilişkinin olduğu belirtilmektedir (101-104). Bir diğer çalışmada ise, Türk popülasyonunda mesane kanserli hastalarda Cys326 allel sıklığının daha fazla olduğu ve yaklaşık 2,5 kat mesane kanserine yakalanma riskinin arttığı bildirilmektedir (105).

2.6. DNA TAMİRİ ve KANSER

Kanser, hücrelerin görevlerini, büyüme ve bölünmelerini kontrol eden genlerdeki değişiklikler sonucu ortaya çıkan bir hastalık olarak tanımlanmaktadır. Kansere neden olan genetik değişiklikler anne ve babadan alınan genlerle oluşabileceği gibi çevresel etkenler

sonucu gen değişiklikleri sonucu da olabilmektedir. Günümüzde kansere sebep olan en önemli çevresel etkenler birisi de sigaradır. Aflatoksin içeren besinler, özellikle şarkuteri ürünlerinde koruyucu olarak kullanılan nitritler ve türevleri, aşırı pişirilmiş et ile açığa çıkan kimyasallar DNA hasarına yol açan diğer önemli dış etkenler arasında bulunmaktadır (106).

Son zamanlarda kanser çalışmalarında, her tümörün bireysel özelliklere sahip olduğu belirtilmektedir. DNA onarım yollarındaki bireyler arası farklılıklar, kanserin doğal geçmişi ve ilerlemesini ve dolayısıyla prognozu da etkileyebilmektedir. BER yolağının, endojen ve eksojen kaynaklı baz hasarlarını onarmakta önemli rol oynadığı bilinmektedir. DNA tamir genlerindeki polimorfizmler bu genlerin mRNA ekspresyonu ve BER yolağındaki protein ekspresyonundaki değişiklikler, DNA onarım kapasitesini değiştirebilmektedir. Bu da hem kanserin ilerlemesini hem de kemoterapi ve radyoterapiye klinik yanıtları etkileyebilmektedir (107).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. ÇALIŞMA GRUPLARI

Çalışmamızda, BHK oluşumu ile XRCC1 Arg399Gln, APE1 Asp148Glu ve hOGG1 Ser326Cys DNA tamir gen polimorfizmleri arasındaki ilişki incelendi. Ayrıca WHO/ISUP grade, klinik T evresi ve metastaz gibi BHK gelişiminde rol oynayan prognostik faktörler ile bu genlerin polimorfizmleri arasındaki ilişki araştırıldı. İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalına başvurarak parsiyel/radikal nefrektomi ameliyatı olan ve biyopsi sonuçlarına göre BHK tanısı konulan 97 kişi çalışma grubumuza dahil edildi. Ayrıca, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalına çeşitli ürolojik nedenlerle başvuran sağlıklı 211 kişi kontrol grubuna dahil edildi. Kan örnekleri hasta ve kontrol grubundaki bireyler yazılı ve sözlü olarak bilgilendirildikten sonra alındı.

3.2. ÇALIŞMA MATERYALİ

Hasta ve kontrol grubundaki kişilerden venöz kan örnekleri alındı. DNA izolasyonu için 4 ml'lik steril EDTA'lı tüplere alınan kan örnekleri 24 saat içinde High Pure PCR Template Preparation Kit ile çalışıldı ve elde edilen DNA örnekleri -20 °C'de saklandı. Hastaların WHO/ISUP grade, klinik T evreleri ve metastazının olup olmadığı belirlendi. T evresi T1 ve T2 olanlar düşük evre, T3 ve T4 olanlar ise ileri evre olarak kaydedildi. Hasta ve kontrol grubuna seçilen kişilerin yaş, cinsiyet, VKI, aile öyküsünde kanser varlığı, sigara kullanımını, TNM bilgileri belirlendi. Hiç içmemiş veya kliniğe müracaat etmesinden 1 yıl veya daha fazla zaman önce sigara kullanmayı bırakmış olan kişiler sigara içmeyenler grubuna dahil edildi. Yılda 20 paket ve daha fazla sigara içenler kişiler (20 paket ≥ yıl) ise sigara içenler grubu olarak kabul edildi.

3.3. KULLANILAN ALETLER

1. pH metre (HANNA Instruments, Portugal).
2. Vorteks (MS 2 Minishaker, İKA).
3. Santrifüj (Megafuge 1.0 R, Heraeus; Mikro 24-48 R, Hettich).
4. Manyetik karıştırıcı (İKAMAG RH, İKA basic labortechnic).
5. Elektroforez için güç kaynağı (Biometra).

6. Elektroforez sistemi (Agagel Midi-VVide, Biometra).
7. PZR aleti (Techne TC412 Termal Cyclers, Barloworld Scientific, UK).
8. Hassas terazi (HR-120, AND)
9. Mikrodalga fırın
10. Pipet takımı (Biohit, Proline)
11. Otoklav (Hirayama, HV – 50L)
12. UV transilluminatör ve görüntüleme sistemi (VilberLourmant, France).

3.4. KULLANILAN KİMYASAL MALZEMELER

Kimyasal maddeler

1. Agaroz
2. dNTP seti
3. Etilendiamin tetraasetik asit dihidrat (EDTA-dihidrat)
4. Etidyum bromür
5. Glasiyal asetik asit
6. Sodyum hidroksit
7. Tris (hidroksimetil) aminometan (Trisbaz)

Kullanılan enzimler

1. Proteinaz K
2. FspBI ve ya Mael
3. PvuII
4. Fnu 4 HI Sat I
5. Taq polimeraz

Kullanılan primerler

XRCC1 Arg399Gln gen bölgesi için kullanılan primer dizisi

('forward' primer): 5'-GCC AGG GCC CCT CCT TCA A-3'

('reverse' primer): 5'-TAC CCT CAG ACC CAC GAG T -3'

APE Asp148Glu gen bölgesi için kullanılan primer dizisi:

('forward' primer): 5'-CTG TTT CAT TTC TAT AGG CTA-3'

('reverse' primer): 5'-AGG AAC TTG CGA AAG GCT TC-3'

hOGG1 Ser326Cys gen bölgesi için kullanılan primer dizisi

('forward' primer): 5'-ACT GTC ACT AGT CTC ACC AG-3'

('reverse' primer): 5'-GGA AGG TGC TTG GGG AAT-3'

3.5. KULLANILAN YÖNTEMLER

3.5.1. APE, XRCC1 ve hOGG1 Gen Polimorfizmlerinin Tayini

APE, XRCC1 ve hOGG1 gen polimorfizmlerinin tayini için aşağıdaki işlemler uygulandı.

a-DNA periferik kandan izole edildi.

b-İzole edilen DNA, PZR ile çoğaltıldı.

c-Oluşan PZR ürünleri agaroz jel elektroforezinde yürütüldü.

d-Jelde yürütülen PZR ürünleri UV altında incelendi ve polimorfizmin tipi belirlendi.

3.5.2. Periferik Kandan DNA İzolasyonu:

Periferik kandan DNA izolasyonu High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche, Mannheim, Germany) kullanılarak yapıldı.

High Pure PCR Template Preparation Kit içeriği; Doku parçalama Tamponu (Tissue Lysis Buffer), Bağlama Tamponu (Binding Buffer), Proteinaz K (Proteinase K), İnhibitör uzaklaştırma Tamponu (Inhibitor Removal Buffer), Yıkama Tamponu (Wash Buffer), Elüsyon Tamponu (Elution Buffer), Filter tüpü (High Pure Filter Tubes), Koleksiyon tüpü (Collection Tubes) .

Başlamadan önce, DNA izolasyon kiti içerisindeki İnhibitör uzaklaştırma Tamponu ve Yıkama Tamponu etiketlerinin üstündeki yönergelere uygun olarak %96-100 etanol (absolut etil alkol) eklenir. Diğer kimyasallar kullanıma hazır şekilde bulunmaktadır.

İşlem: EDTA'lı tüplere alınan periferik kan örneklerinden 1,5 ml steril ependorf içine 200 µl tam kan ve üzerine 200 µl Bağlama Tamponu ve 40 µl Proteinaz K eklenerek vortex'le karıştırıldıktan sonra 70°C'de 10 dk inkübe edildi. İnkübasyondan sonra her bir örneğe 100 µl İzopropanol eklendi, karıştırıldıktan sonra Koleksiyon tüplerinin içerisine Filtre tüpler konulup karışım bu Filtre tüplere aktarıldı ve 8000 x g'de 1 dk santrifüj edildi. Filtre tüpler yeni Koleksiyon tüplerinin içerisine konuldu ve üzerine 500 µl İnhibitör uzaklaştırma Tamponu eklendi, karıştırıldıktan sonra ve 8000 x g'de 1 dk santrifüj edildi. Sonrasında Filtre tüpler yeni Koleksiyon tüplerine konuldu ve örnek üzerine 500 µl Yıkama Tamponu eklendi. Örnekler 8000 x g'de 1 dk santrifüj ve sonrasında 15.000 x g'de 10 sn santrifüj edildi. Filtre tüpler steril ependorf içine konuldu ve örnek üzerine 150 µl Elüsyon Tamponu eklenerek karıştırıldı. 8000 x g'de 1 dk santrifüj sonrası filtre tüpler atıldı. Elde edilen DNA örnekleri -20°C'de saklandı.

3.5.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) (108):

Prensip: DNA zincirinin önceden belirlenen bir bölgesini çoğaltmak için kullanılan Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR), Kary Mullis tarafından 1984 yılında bulunan moleküler genetik alanındaki en önemli yöntemlerden biridir. PZR izole edilen veya patolojik materyallerde bulunan hedef genetik materyallerin (DNA veya RNA), spesifik kısa zincirli oligonükleotid primerler yardımıyla enzimatik olarak sayısal çoğaltılması (amplifikasyon) olarak tanımlanabilir.

PZR yöntemi ile DNA'nın çoğaltılabilmesi için reaksiyon ortamında çeşitli maddeler yer almalıdır. Bu maddeler şunlardır;

a. Kalıp DNA,

b. Primerler (çoğaltılması istenen bölgenin iki ucundaki DNA dizisini özgül olarak tanıyıp bağlayacak olan DNA primerleri)

c. DNA Polimeraz (Primerlere bağlanıp bunlara 3' ucundan nükleotidleri ekleyerek DNA sentezi yapar, *Thermus aquaticus*'tan elde edilen ısıya dayanıklı bir enzimdir),

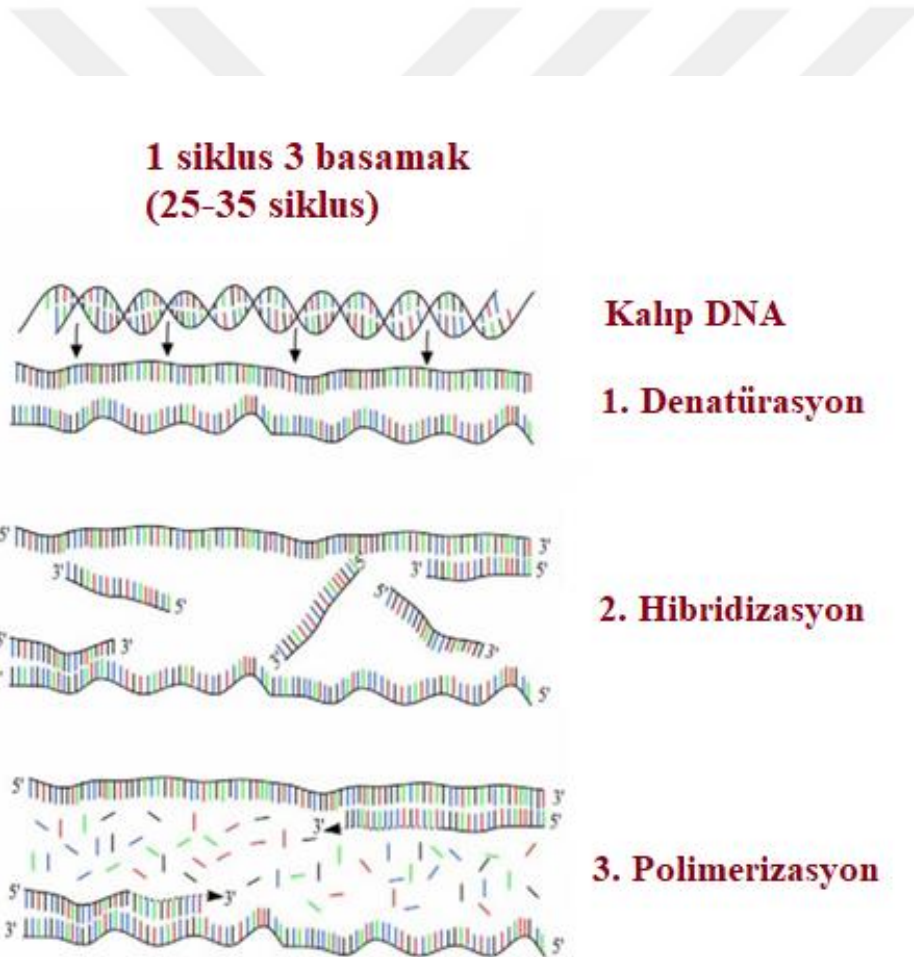
d. Deoksitribozülükleotid trifosfatlar (dNTP),

e. Polimerazın çalışması için gerekli tampon görevi yapan KCl, tris gibi maddeler,

f. Enzimin çalışması için gerekli bir kofaktör olan Mg^{+2} iyonları.

PZR'ın prensibi tekrarlanan üç basamak bir siklusu oluşturmaktadır (Şekil 3-1).

1. Denatürasyon (parçalanma)
2. Hibridizasyon (pirimerlerin yerleşmesi)
3. Polimerizasyon (sentez)



Şekil 3-1. PZR üç basamağı (genotyping.files.wordpress.com/2007/03/pcr.gif)

Denatürasyon

PCR işleminin ilk aşamasında amplifiye edilecek DNA başlangıçta 95-100⁰C'ye kadar ısıtılır. Denatürasyon için genellikle 90-95 ⁰C 30 sn ısı uygulanır. PZR basamakları için kullanılan bu dereceler ve süreler çeşitli faktörlere bağlı olarak değişebilir. Hedef DNA'nın guanin ve sitozin bakımından zengin olduğu durumlarda denatürasyon için 95⁰C'den daha yüksek bir ısı uygulanabilir.

Hibridizasyon

DNA'nın ısıyla denatüre edilmesi yani çift sarmallı DNA sarmalının birbirinden ayrılması ve sıcaklığın 50⁰C'ye düşürülmesi ile primerler DNA matrisi üzerinde yoğunlaşırlar. Primerlerden biri kendine ait 5'-terminusu ile hedef DNA'lardan birinin 3'-ucu ile ve diğer primerler de, ikinci tek iplikçik DNA'nın, anti paralel olarak diğer ucunda bulunan 3'-ucuna bağlanarak, DNA polimeraz'ın çalışması yönüne uygun olarak (5'→3') bağlanırlar. Hibridasyon ısısı genellikle primerlerin erime ısısının 5 ⁰C altında olup 55-65 ⁰C'lerde en iyi sonuç vermektedir.

Polimerizasyon (sentez)

Sentez basamağında ise primerlerin DNA polimeraz enzimi vasıtasıyla hedef DNA sarmalını tamamlamaları işlemi gerçekleşir. Yeni şekillenmiş olan sarmal orijinal hedef DNA'dan denatürasyon yolu ile ayrılır ve primer hibridizasyonunu, DNA sentezi ve denatürasyon siklusu tekrar edilir. Bütün DNA molekülleri reaksiyonun sonunda çift sarmallı olarak bulunur. TaqDNA polimeraz enzimi, 5'→3' yönünden olmak üzere, ortamdaki nükleotidleri kullanırlar, primerlerin 3' terminusuna nükleotidleri yerleştirir ve böylece hedef DNA sekansının bir kopyası elde edilir.

Normalde PZR 25-35 siklus arasında yapılmaktadır

Restriksiyon fragman uzunluğu polimorfizmi (RLFP)

Restriksiyon enzimleri spesifik bir DNA çift sarmal sekansını tanır ve DNA'yı belirli bir bölgeden keser. Genomik DNA'da oluşan sekans değişiklikleri restriksiyon enzimlerinin kesim yerlerini değiştirir ve kesim sonucu oluşan parçaların boyutları değişir. Enzim kesim yöntemi ile kesim sonucu oluşan parçalar agaroz jel üzerinde elektroforez edilir ve moleküler boyutlarına göre bandlara ayrılır (109).

PZR' NİN KULLANIM ALANLARI (110)

1. Hastalık etkeninin teşhisi

a. Bakteriyel patojenlerin saptanması: PZR özellikle çoğaltılması zor ve uzun zaman alan patojenlerin çabuk teşhisi için kullanılır.

b. Viral patojenlerin saptanması: Viral hastalıklar, viral RNA'nın varlığı aktif enfeksiyonun bir göstergesidir ve bu enfeksiyon enfekte hücrelerden elde edilmiş RNA'nın revers transkripsiyon sayesinde elde edilen cDNA kalıplarının PZR'da kullanılmasıyla teşhis edilir.

c. Paraziter hastalıkların etkenlerinin saptanması: PZR, konakçı vücudunda çok az parazit veya bir tek parazit bulunması halinde bile parazit protein yapılarından bir tanesinin genetik parçasının sağaltılarak tanınabilir hale gelmesi ile laboratuarlarda kullanılmaya başlanmıştır.

d. Patoloji ve klinik araştırmaları: Dondurulmuş cerrahi kesitler veya biopsi örnekleri materyal olarak kullanılabilir. PZR'nin etkin bir şekilde kullanılabilmesi; patoloji ve diğer klinik sahalarda yapılan araştırmaların kombine bir şekilde çalışması ile olur.

2. Genetik hastalıkların teşhisi

a) Kalıtsal ve sonradan kazanılan hastalıkların tespiti için

b) Hücrelerin izolasyonu ve identifikasyonu için

c) Gen terapisinde

d) Doku tiplmesi

e) Prenatal tanı

f) Babalık/akrabalık tayini

3.5.4. XRCC1 Arg399Gln gen bölgesinin çoğaltılması (63)

XRCC1 Arg399Gln gen bölgesi için 5'-GCCAGGGCCCCTCCTTCAA-3' ve 5'-TACCCTCAGACCCACGAGT-3' primer dizileri kullanıldı. DNA örneklerinden XRCC1 gen bölgesinin çoğaltılması için 25 µl hacminde PZR karışım çözeltisi hazırlandı. Karışım çözeltisi 17.5 µl bidistile su, 1.25 U/L Taq polimeraz enzimi, bu enzimin çalışması için gerekli 2.5 µl 10XTaq tampon, XRCC1 gen bölgesine özgü 10 pmol primer çifti, 1.5 µl

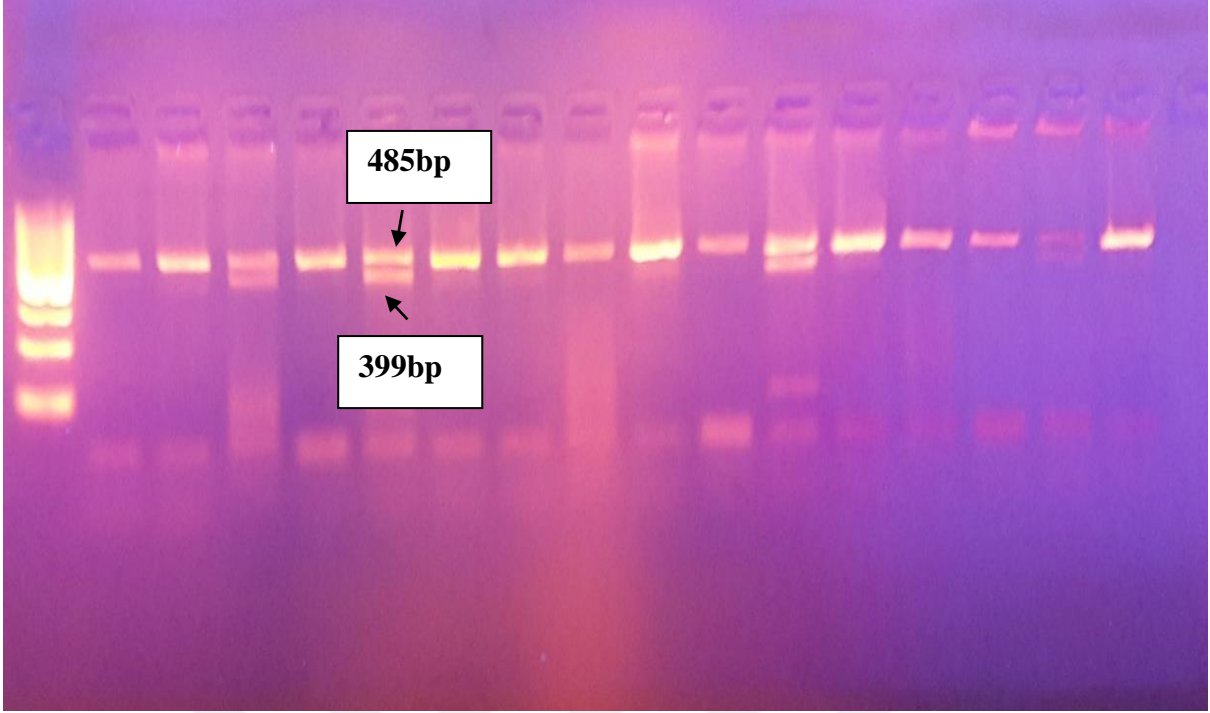
MgCl₂, 0.2 mM deoksiribonükleotid trifosfat (dNTP) karışımı içerir. Bu PZR karışımları içine 1 µl DNA örneklerinden eklenerek Progene Techne Thermal Cycler'da PZR işlemi yapıldı. PZR programı; 95°C'de 5 dk, 95°C'de 30 sn denatürasyon, 61°C'de 35 sn bağlanma, 72°C'de 45 sn uzama olmak üzere 35 döngü, 72°C'de 10 dk final uzama olarak gerçekleştirildi.

%3 Agaroz jel hazırlanması:

3g Agaroz tartılarak 100mL 1XTBE tamponuna eklendi ve manyetik karıştırıcıda karıştırılarak homojenize edildi. Jel üzerine 2-3 µl etidyum bromür eklenerek karıştırıldı. Hazırlanan jel tank içine dökülerek 30 dk kadar donması beklendi. Donma işleminden sonra daha önce hazırlanan 10 µl PZR ürünü ve 1-2 µl Bromfenol mavisi karışımı jele uygulandı. 100 mV elektrik akımında 30 dk. yürütüldü. Bantlar UV ışık altında incelenerek PZR ürünlerinin oluşup oluşmadığı kontrol edildi. Markır olarak GeneRuler 100 bp DNA Ladder kullanıldı.

PZR ürünlerinin Kesim İşlemi

PZR sonucu elde edilen ürünler kesim işlemi için 1,5 µl bidistile su, 1,4 µl 1Xtampon ve 0.3 µl PvuII enzimi içeren bir karışım çözeltisi hazırlandı. Bu karışım çözeltisine 15 µl PZR ürünlerinden eklendi ve 37°C etüvde 1 gece bekletilerek kesim işlemi gerçekleştirildi. Kesim işlemi tamamlandıktan sonra 10 µl kesim ürünü ve 1-2 µl bromfenol mavisi karışımı %3 agaroz jele uygulandı ve 100 mV elektrik akımı altında 30 dk. yürütüldü. Genotipler UV ışık altında uygun markır ile karşılaştırılarak genotipler saptandı. Buna göre, AA (Arg/Arg) genotipi içerenlerde 485 baz çiftlik bant gözlemlendi. AG (Arg/Gln) genotipi içerenlerde 485, 399 ve 194 baz çiftlik bantlar, GG (Gln/Gln) genotipi içerenlerde ise 399 ve 194 baz çiftlik bantlar görüldü (Şekil 3-2).



MarkırAA AAAGAA AG AA AA AA AA AA AG AA AA AA AG

Şekil 3-2. XRCC1 Arg399Gln gen polimorfizmi

3.5.5. APE Asp148Glu gen bölgesinin çoğaltılması (20)

APE Asp148Glu gen bölgesi için 5'-CTG TTT CAT TTC TAT AGG CTA-3' ve 5'-AGG AAC TTG CGA AAG GCT TC-3' primer dizileri kullanıldı. DNA örneklerinden APE Asp148Glu gen bölgesinin çoğaltılması için 25 µl hacminde PZR karışım çözeltisi hazırlandı. Karışım çözeltisi 17.5 µl steril distile su, 1.25 U/L Taq polimeraz enzimi, bu enzimin çalışması için gerekli 2.5 µl 10XTaq tampon, APE gen bölgesine özgü 10 pmol primer çifti, 1.5 MgCl₂, 0.2 mM deoksiniükleotid trifosfat (dNTP) karışımı içerir. Bu karışımların içine 1 µl DNA örneklerinden eklenerek Progene Techne Thermal Cycler'da PZR işlemiyapıldı. PZR programı; 95°C'de 2 dk, 95°C'de 30sn denatürasyon, 52°C'de 45 sn bağlanma, 72°C'de 45 sn uzama olmak üzere 35 döngü, 72°C'de 5dk final uzama olarak gerçekleştirildi.

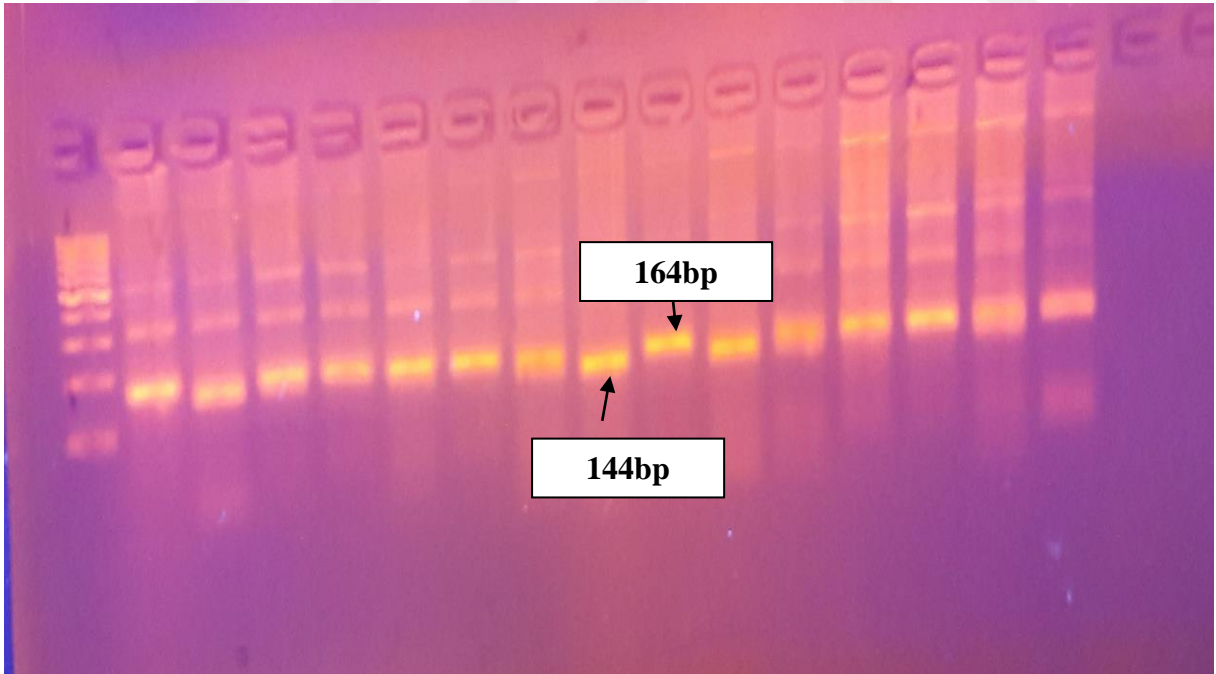
%3 Agaroz jel hazırlanması:

100 mL 1X TBE tamponuna 3g Agaroz tartılarak eklendi ve manyetik karıştırıcıda karıştırılarak homojenize edildi. Jel üzerine 2-3 µl etidyum bromür eklenerek karıştırıldı. Hazırlanan jel tank içine dökülerek 30 dk kadar donması beklendi. Donma işleminden sonra

daha önce hazırlanan 10 µl PZR ürünü ve 1-2 µl Bromfenol mavisi karışımı jele uygulandı. 100 mV elektrik akımında 30dk. yürütüldü. Bantlar UV ışık altında incelenerek PZR ürünlerinin oluşup oluşmadığı kontrol edildi. Markır olarak GeneRuler 100 bp DNA Ladder kullanıldı.

PZR ürünlerinin Kesim İşlemi

PZR sonucunda elde edilen ürünler kesim işlemi için 2,5 µl bidistile su, 2 µl Y tampon tango ve 0.5 µl FspBI ya da MaeI enzimi içeren bir karışım çözeltisi hazırlandı. Bu karışım çözeltisine 15 µl PZR ürünlerinden eklendi ve 37°C etüvde 1 gece bekletilerek kesim gerçekleştirildi. Kesim işlemi tamamlandıktan sonra 10 µl kesim ürünü ve 1-2 bromfenol mavisi karışımı %3 agaroz jele uygulandı ve 100 mV elektrik akımı altında 30dk. yürütüldü. Genotipler UV ışık altında uygun markır ile karşılaştırılarak genotipler saptandı. Buna göre, AA (Asp/Asp) genotipi içerenlerde 164 baz çiftlik bant gözlemlendi. AG (Asp/Glu) genotipi içerenlerde 164, 144, 20 baz çiftlik bantlar, GG (Glu/Glu) genotipi içerenlerde ise 144 ve 20 baz çiftlik bantlar görüldü (Şekil 3-3).



Markır AA GG AG AA AA AA AG GG AA GG AG AA AA AG AA

Şekil 3-3. APE1 Asp148Glu gen polimorfizmi

3.5.6. hOGG1 Ser326Cys gen bölgesinin çoğaltılması (78)

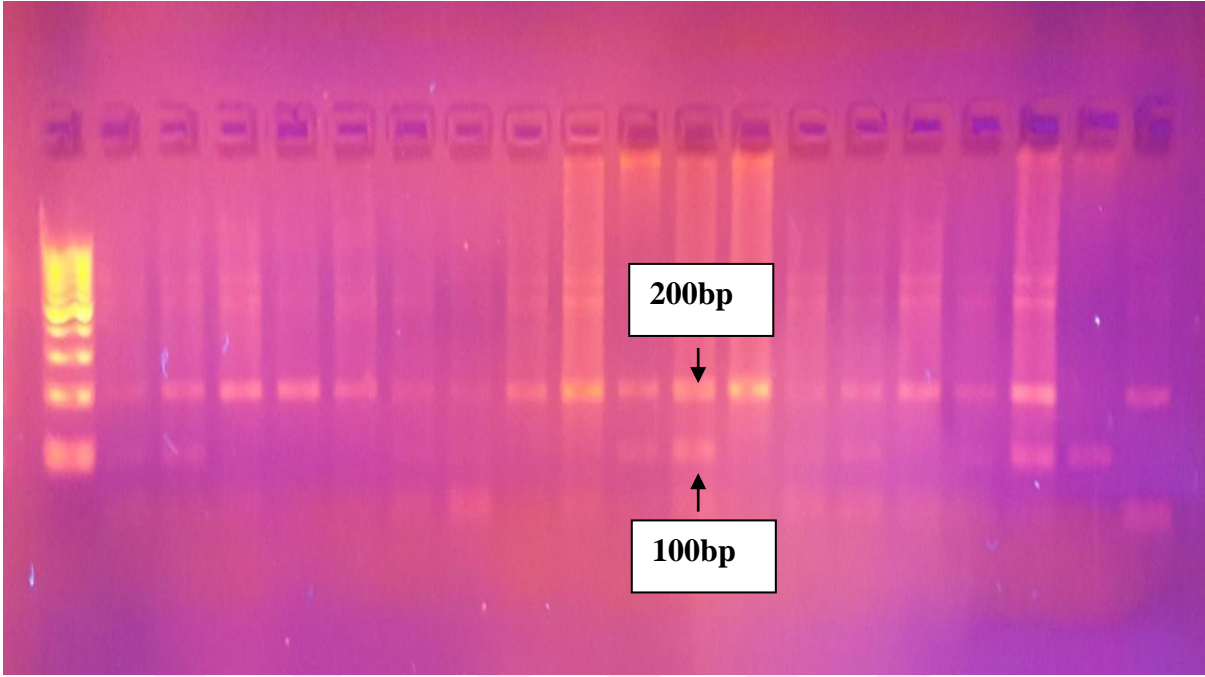
hOGG1 gen bölgesi için 5'-ACT GTC ACT AGT CTC ACC AG-3' ve 5'-GGA AGG TGC TTG GGG AAT-3' primer dizileri kullanıldı. DNA örneklerinden hOGG1 gen bölgesinin çoğaltılması için 25 µl hacminde PZR karışım çözeltisi hazırlandı. Karışım çözeltisi 17.5 µl bidistile su, 1.25 U/L Taq polimeraz enzimi, bu enzimin çalışması için gerekli 2.5 µl 10XTaq tampon, hOGG1 gen bölgesine özgü 10 pmol primer çifti, 1,5 µl, 0.2 mM deoksiribonükleotid trifosfat (dNTP) karışımı içerir. Bu PZR karışımları içine 1 µl DNA örneklerinden eklenerek Progene Techne Thermal Cycler'da PZR işlemi yapıldı. PZR programı; 95°C'de 5 dk, 95°C'de 1 dk denatürasyon, 60°C'de 1 dk bağlanma, 72°C'de 1 dk uzama olmak üzere 30 döngü, 72°C'de 7 dk final uzama olarak gerçekleştirildi.

%3 Agaroz jel hazırlanması:

3g Agaroz tartılarak 100 mL 1X TBE tamponuna eklendi ve manyetik karıştırıcıda karıştırılarak homojenize edildi. Jel üzerine 2-3 µl etidyum bromür eklenerek karıştırıldı. Hazırlanan jel tank içine dökülerek 30 dk kadar donması beklendi. Donma işleminden sonra daha önce hazırlanan 10 µl PZR ürünü ve 1-2 µl Bromfenol mavisi karışımı jele uygulandı. 100 mV elektrik akımında 30 dk yürütüldü. Bantlar UV ışık altında incelenerek PZR ürünlerinin oluşup oluşmadığı kontrol edildi. Markır olarak GeneRuler 100 bp DNA Ladder kullanıldı.

PZR ürünlerinin Kesim İşlemi

PZR sonucu elde edilen ürünler kesim işlemi için 1,5 µl bidistile su, 1,4 µl 1Xtampon G ve 0.3 µl Fnu 4 HI enzimi içeren bir karışım çözeltisi hazırlandı. Bu karışım çözeltisine 10 µl PZR ürünlerinden eklendi ve 37 °C etüvde 1 gece bekletilerek kesim işlemi gerçekleştirildi. Kesim işlemi tamamlandıktan sonra 10 µl kesim ürünü ve 1-2 µl bromfenol mavisi karışımı %3 agaroz jele uygulandı ve 100 mV elektrik akımı altında 30 dk yürütüldü. Genotipler UV ışık altında uygun markır ile karşılaştırılarak genotipler saptandı. Buna göre, SS (Ser/Ser) genotipi içerenlerde 200 baz çiftlik bant gözlemlendi. SC (Ser/Cys) genotipi içerenlerde 100 ve 200 baz çiftlik bantlar, CC (Cys/Cys) genotipi içerenlerde ise 100 baz çiftlik bant görüldü (Şekil 3-4).



MarkırSC SC SS SS SS SC SC SS SS SC SC SS SC SC SS SC SC CC SS

Şekil 3-4. hOGG1 Ser326Cys gen polimorfizmi

3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

Çalışmamızın istatistiksel analizler için SPSS 21 paket programı kullanıldı. İstatistiksel olarak anlamlılık sınırı $p < 0.05$ olarak kabul edildi. Klinik parametrelerin karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanıldı. Kontrol ve hasta grupları arasındaki genotip dağılımları ve allel sıklığının istatistiksel olarak incelenmesinde ki kare testi kullanıldı. Gruplar arası anlamlılığın belirlenmesi için lojistik regresyon analizi yapılarak aOR ve % 95 CI (yaş, VKİ ve sigara) değerleri verildi. Çalışmamızdaki XRCC1 Arg399Gln, APE1 Asp148Glu ve hOGG1 Ser326Cys gen polimorfizmleri Hardy-Weinberg denkleminde uygunluk göstermektedir. Ayrıca Power analizi sonucu ise %89 olarak bulunmuştur.

4. BULGULAR

4.1. Kontrol ve hasta gruplarının klinik değerleri

Kontrol grubu ile BHK'lu hastalar arasında yaş, cinsiyet, VKİ ve sigara kullanımı açısından anlamlı bir farklılık saptanmadı (Tablo 4-1).

Tablo 4-1. Kontrol ve böbrek hücreli karsinomlu hasta grubundaki klinik değerler

	Kontrol (n=211)	Hasta (n=97)	p
Yaş (yıl)	56.2±11.37	54.9±10.84	0.066
Cinsiyet (%) (kadın/erkek)	25.1/74.9	34.0/66.0	0.132
VKİ (kg/m ²)	27.2±11.37	28.3±5.03	0.060
Sigara durumu (%) (kullanan/kullanmayan)	41.2/58.8	42.3/57.7	0.901
Grade (Düşük/Yüksek)		61/36	
Düşük Grade (Grade 1-2)		61 (%62.9)	
Yüksek Grade (Grade 3-4)		36 (%37.1)	
Evre		63/34	
Düşük Evre (1-2)		63 (% 64.9)	
İleriEvre (3-4)		34 (%35.1)	

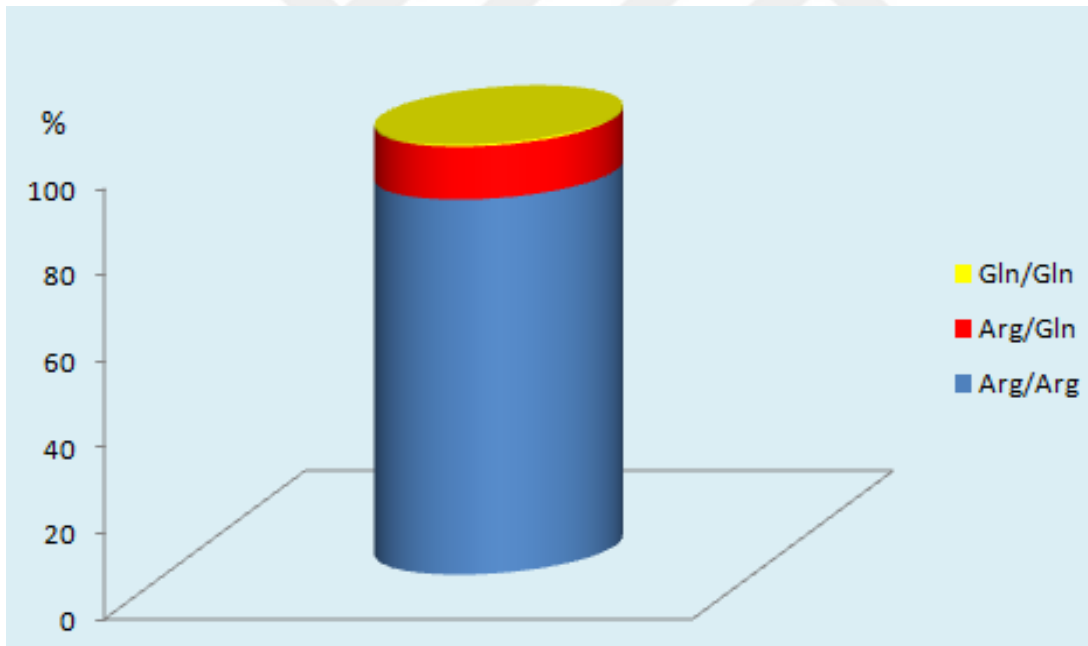
4.2. XRCC1 Arg399Gln gen polimorfizmi ile ilgili sonuçlar

a) Çalışmamızda, kontrol grubu ile BHK'lu hasta grubu kıyaslandığında, BHK'lu hasta grubunda Arg/Gln genotip dağılımının Arg/Arg genotip dağılımına göre anlamlı olarak arttığı ve 2.64 kat daha fazla risk içerdiği bulundu. Buna ilaveten, Gln alleli taşıyanların Arg/Arg genotipi taşıyanlara göre BHK'na yakalanma oranında 2.56 kat daha fazla risk taşıdığı saptandı. Ayrıca, hasta grubu kontrol grubu ile kıyaslandığında Gln allel sıklığının Arg allel sıklığına göre anlamlı olarak arttığı bulundu (Tablo 4-2). Ayrıca, Türk popülasyonunda XRCC1 Arg399Gln Arg/Arg genotip dağılımı ve Arg allel sıklığı anlamlı olarak daha yüksek bulundu (Şekil 4-1). XRCC1 Arg399Gln polimorfizmi Hardy-Weinberg denkleminde uygunluk gösterdi (p=0.93).

Tablo 4-2. Kontrol ve böbrek hücreli karsinomlu hasta grubunda XRCC1 Arg399Gln gen polimorfizminin genotip dağılımı ve allel sıklığı

	Kontrol n(%)	Hasta n(%)	OR ^a (95% CI)	p
XRCC1 Arg399Gln				
Arg/Arg	184 (87.2)	70 (72.2)	Referans	
Arg/Gln	26 (12.3)	27 (27.8)	2.64 (1.36-5.11)	0.004
Gln/Gln	1 (0.5)	0 (0.0)	0.00 (0.00-0.00)	1.000
Arg/Gln+Gln/Gln	27 (12.8)	27 (27.8)	2.56 (1.33-4.94)	0.005
Allel				
Arg	394 (93.4)	167 (86.1)	Referans	
Gln	28 (6.6)	27 (13.9)	2.27 (1.30-3.97)	0.003

^aOdds ratios (OR) ve 95% confidence intervals (CI) yaş, cinsiyet ve VKİ' e göre ayarlandı



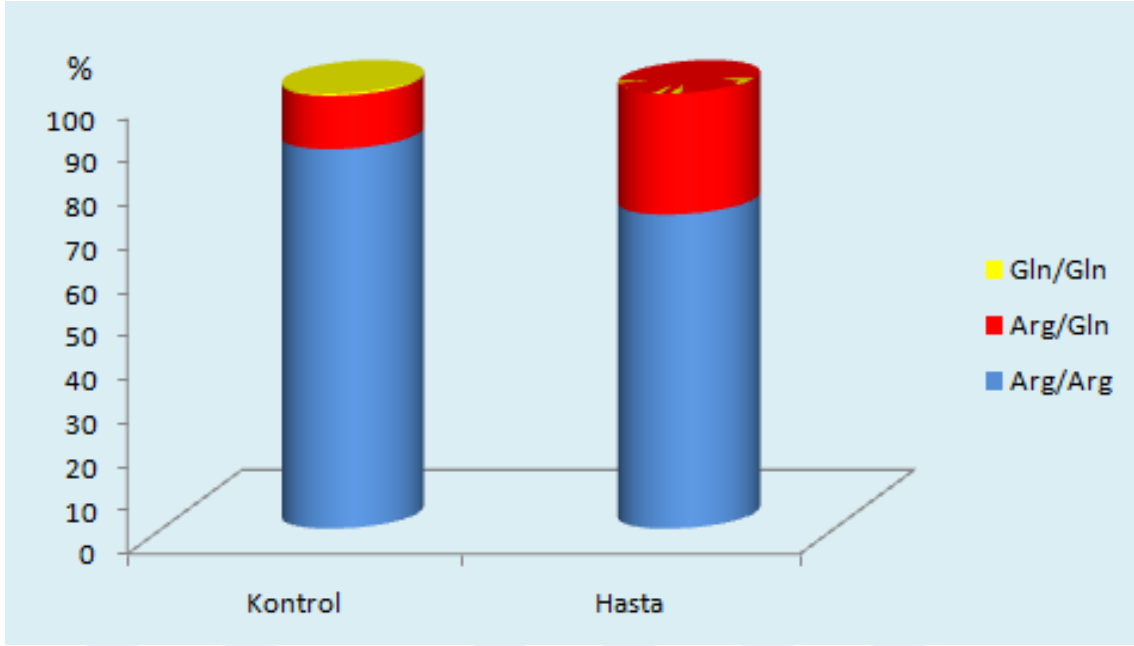
Şekil 4-1. Türk popülasyonunda XRCC1 Arg399Gln gen polimorfizminde genotip dağılımı

b) Sigara kullanmayan kontrol ve hasta grupları arasında genotip dağılımları açısından XRCC1 Arg399Gln gen polimorfizminde istatistiksel olarak bir anlamlılık bulunmadı. Oysa, sigara kullanan hasta grubunda sigara kullanan kontrol grubuna göre Arg/Gln genotip dağılımının Arg/Arg genotip dağılımına göre, ayrıca Gln allel dağılımının Arg allel dağılımına göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu saptandı (Şekil 4-2) (Tablo 4-3).

Tablo 4-3. Kontrol ve böbrek hücreli karsinomlu hasta grubunda XRCC1 Arg399Gln gen polimorfizminde genotip dağılımı ve allel sıklığının sigara kullanımı ile ilişkisi

Sigara Kullananlar				
	Kontrol n(%)	Hasta n(%)	OR ^a (95% CI)	p
XRCC1Arg399Gln				
Arg/Arg	78 (89.7)	9 (63.4)	Referans	
Arg/Gln	26 (10.3)	15 (36.6)	2.64 (1.36-5.11)	0.004
Gln/Gln	0 (0.0)	0 (0.0)	0.00 (0.00-0.00)	
Arg/Gln+Gln/Gln	26 (10.3)	15 (36.6)	2.56 (1.33-4.94)	0.005
Allel				
Arg	182 (87.5)	33 (67.7)	Referans	
Gln	26 (12.5)	15 (31.2)	2.27 (1.30-3.97)	0.003
Sigara Kullanmayanlar				
XRCC1Arg399Gln				
Arg/Arg	106 (85.5)	44 (78.9)	Referans	
Arg/Gln	17 (13.7)	12 (21.4)	1.96 (0.79-4.84)	0.143
Gln/Gln	1 (0.8)	0 (0.0)	0.00 (0.00-0.00)	1.00
Arg/Gln+Gln/Gln	18 (14.5)	12 (21.4)	1.88 (0.76-4.61)	0.166
Allel				
Arg	229 (92.3)	100 (89.3)	Referans	
Gln	19 (7.7)	12 (0.7)	0.69 (0.32-1.47)	0.339

^aOdds ratios (OR) ve 95% confidence intervals (CI) yaş, cinsiyet ve VKİ' e göre ayarlandı



Şekil 4-2. Sigara kullananların XRCC1 Arg399Gln gen polimorfizminde genotip dağılımı

c) Düşük ve yüksek grade'li tümör açısından incelendiğinde, XRCC1 Arg399Gln gen polimorfizminde Gln/Gln genotipi ile Arg/Arg genotip dağılımı arasında ve allel sıklıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (Tablo 4-4).

Tablo 4-4. XRCC1 Arg399Gln gen polimorfizmi ile tümörün grade'i arasındaki ilişki

	Düşük grade ^a	Yüksek grade ^b	OR ^c (95% CI)	p
	n(%)	n(%)		
XRCC1Arg399Gln				
Arg/Arg	47 (77.0)	23 (63.9)	Referans	
Arg/Gln	14(23.0)	13 (36.1)	1.93 (0.69-5.45)	0.209
Gln/Gln	0 (0.0)	0 (0.0)	0.98 (0.89-1.09)	0.807
Arg/Gln+Gln/Gln	14(23.0)	13 (36.1)	1.93 (0.69-5.45)	0.209
Allel				
Arg	108 (88.5)	59 (82.0)	Referans	
Gln	14(11.5)	13 (18.0)	1.70 (0.74-3.85)	0.200

^aDüşük grade: grade1-2; ^bYüksek grade: grade 3-4; ^cOdds ratios (OR) and 95% confidence intervals (CI) yaş, cinsiyet ve VKI'e göre ayarlama yapıldı

e) XRCC1 Arg399Gln gen polimorfizminde genotip dağılımı ile tümörün düşük ve yüksek klinik T evresi açısından incelendiğinde, genotip ve allel sıklıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (Tablo 4-5).

Tablo 4-5. XRCC1 Arg399Gln gen polimorfizmi ile tümörün klinik T evresi arasındaki ilişki

	Düşük Evre ^a	İleri Evre ^b	OR ^c (95% CI)	p
	n (%)	n (%)		
XRCC1Arg399Gln				
Arg/Arg	48 (76.2)	22 (64.7)	Referans	
Arg/Gln	15(23.8)	12 (35.3)	1.99 (0.69-5.75)	0.199
Gln/Gln	0 (0.0)	0 (0.0)	0.00 (0.00-0.00)	
Arg/Gln+Gln/Gln	15(23.8)	12 (35.3)	1.99 (0.69-5.75)	0.199
Allel				
Arg	111 (88.1)	56 (82.0)	Referans	
Gln	15 (11.9)	12 (18.0)	1.70 (0.74-3.85)	0.200

^aDüşük evre:1-2; ^bİleri evre: 3-4; ^cOdds ratios (OR) and 95% confidence intervals (CI) yaş, cinsiyet ve VKI'e göre ayarlama yapıldı

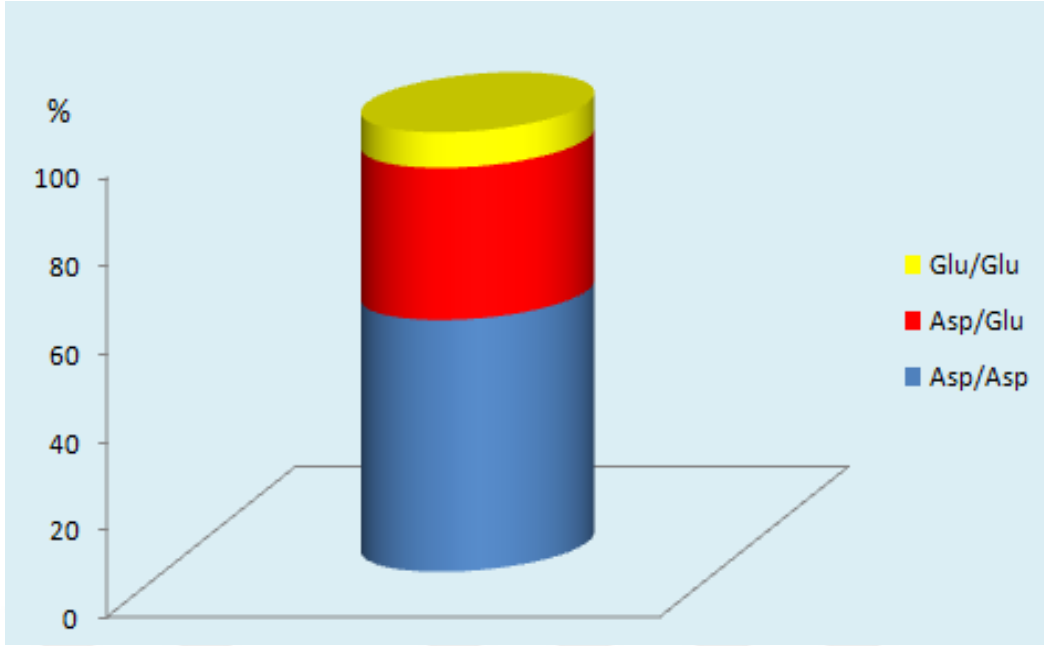
4.3. APE 1 Asp148Glu gen polimorfizmi ile ilgili sonuçlar

a) Çalışmamızda, kontrol grubu ile BHK'lu hasta grubu kıyaslandığında, BHK'lu hasta grubunda Asp/Glu ve Glu/Glu genotip dağılımlarının Asp/Asp genotip dağılımına göre anlamlı olarak arttığı bulundu. Buna ilaveten, Glu allelini taşıyanların Asp/Asp genotipi taşıyanlara göre BHK'na yakalanma oranında 2.93 kat daha fazla risk taşıdığı saptandı. Ayrıca, BHK'lu hasta grubu kontrol grubu ile kıyaslandığında Glu allel sıklığının Asp allel sıklığına göre istatistiksel olarak arttığı bulundu (Tablo 4-6). Ayrıca, Türk popülasyonunda Asp/Asp genotip dağılımı ve Asp allel sıklığı Glu/Glu genotipine ve Glu alleleline göre anlamlı olarak daha yüksek bulundu (Şekil 4-3). APE Asp148Glu polimorfizmi Hardy-Weinberg denkleminde uygunluk gösterdi ($p=0.21$).

Tablo 4-6. Kontrol ve böbrek hücreli karsinomlu hasta grubunda APE Asp148Glu gen polimorfizminde genotip dağılımı ve allel sıklığı

	Kontrol n (%)	Hasta n (%)	OR ^a (95% CI)	p
APE Asp148Glu				
Asp/Asp	121 (57.3)	32 (33.0)	Referans	
Asp/Glu	73 (34.6)	43 (44.3)	2.12 (1.16-3.89)	0.014
Glu/Glu	17 (8.1)	22 (22.7)	2.66 (1.78-3.97)	0.000
Asp/Glu+Glu/Glu	90 (42.7)	65 (67.0)	2.93 (1.68-5.10)	0.000
Allel				
Asp	315 (74.6)	107 (55.2)	Referans	
Glu	107 (25.4)	87 (44.8)	2.39 (1.67-3.42)	0.000

^aOdds ratios (OR) ve 95% confidence intervals (CI) yaş, cinsiyet ve VKI'e göre ayarlama yapıldı



Şekil 4-3. Türk popülasyonunda APE1 Asp148Glu gen polimorfizminde genotip dağılımı

b) Sigara kullanan hasta grubunda sigara kullanan kontrol grubuna göre Glu/Glu genotip dağılımlarının Asp/Asp genotip dağılımına ayrıca, Glu allel sıklığının Asp allel dağılımına göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu saptandı. Bununla beraber, sigara kullanmayan hasta grubunda sigara kullanmayan kontrol grubuna göre de Asp/Glu ve Glu/Glu genotip dağılımlarının Asp/Asp genotip dağılımına ayrıca, Glu allel dağılımının Asp allel dağılımına göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu saptandı (Tablo 4-7).

Tablo 4-7. Kontrol ve böbrek hücreli karsinomlu hasta grubunda APE Asp148Glu gen polimorfizminde genotip dağılımı ve allel sıklığının sigara kullanımı ile ilişkisi

Sigara Kullananlar				
	Kontrol n (%)	Hasta n (%)	OR ^a (95% CI)	p
APE Asp148Glu				
Asp/Asp	43 (49.5)	15 (36.6)	Referans	
Asp/Glu	33 (37.9)	15 (36.6)	1.23 (0.48-3.10)	0.660
Glu/Glu	11 (12.6)	11 (26.8)	1.90 (1.09-3.30)	0.022
Asp/Glu+Glu/Glu	44 (50.5)	26 (63.4)	1.73 (0.77-3.91)	0.163
Allel				
Asp	119 (68.4)	45 (54.9)	Referans	
Glu	55 (31.6)	37 (45.1)	1.77 (1.03-3.05)	0.035
Sigara Kullanmayanlar				
APE Asp148Glu				
Asp/Asp	78 (62.9)	17 (30.4)	Referans	
Asp/Glu	40 (32.3)	28 (50.0)	2.94 (1.28-6.73)	0.011
Glu/Glu	6 (4.8)	11 (19.6)	3.99 (2.05-7.74)	0.000
Asp/Glu+Glu/Glu	46 (37.1)	39 (69.6)	4.10 (1.89-8.92)	0.000
Allel				
Asp	196 (79.0)	62 (55.4)	Referans	
Glu	52 (21.0)	50 (44.6)	3.04 (1.87-4.92)	0.000

^aOdds ratios (OR) ve 95% confidence intervals (CI) yaş, cinsiyet ve VKI'e göre ayarlama yapıldı

c) Düşük ve yüksek grade'li tümör açısından incelendiğinde, APE Asp148Glu gen polimorfizminde genotip ve allel sıklıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (Tablo 4-8).

Tablo 4-8. APE Asp148Glu gen polimorfizminin tümörün grade'i arasında ilişkisi

	Düşük grade ^a n (%)	Yüksek grade ^b n (%)	OR ^c (95% CI)	p
APE Asp148Glu				
Asp/Asp	22 (36.1)	10 (27.8)	Referans	
Asp/Glu	24 (39.3)	19 (52.8)	1.40 (0.45-4.33)	0.551
Glu/Glu	15 (24.6)	7 (19.4)	0.97 (0.51-1.84)	0.931
Asp/Glu+Glu/Glu	39 (63.9)	26 (72.2)	1.17 (0.41-3.28)	0.763
Allel				
Asp	68 (55.7)	39 (54.2)	Referans	
Glu	54 (44.3)	33 (45.8)	1.06 (0.59-3.28)	0.831

^aDüşük grade: grade1-2; ^bYüksek grade: grade 3-4; ^cOdds ratios (OR) and 95% confidence intervals (CI) yaş, cinsiyet ve VKI'e göre ayarlama yapıldı

d) APE Asp148Glu gen polimorfizminde genotiplerin dağılımı düşük ve yüksek klinik T evresi açısından incelendiğinde, genotip dağılımı ve allel sıklıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (Tablo 4-9).

Tablo 4-9. APE Asp148Glu gen polimorfizminin tümörün klinik T evresi ile ilişkisi

	Düşük Evre ^a n (%)	İleri Evre ^b n (%)	OR ^c (95% CI)	p
APEAsp148Glu				
Asp/Asp	18 (28.6)	14 (41.2)	Referans	
Asp/Glu	30(47.6)	13 (38.2)	0.75 (0.24-2.35)	0.632
Glu/Glu	15 (23.8)	7 (20.6)	0.82 (0.43-1.53)	0.538
Asp/Glu+Glu/Glu	45 (71.4)	20 (58.8)	0.69 (0.24-1.94)	0.486
Allel				
Asp	66 (52.3)	41 (60.3)	Referans	
Glu	60 (47.6)	27 (39.7)	0.72 (0.39-1.31)	0.290

^aDüşük evre: 1-2; ^bİleri evre: 3-4; ^cODDs ratios (OR) ve 95% confidence intervals (CI) yaş, cinsiyetve VKI'egöre ayarlama yapıldı.

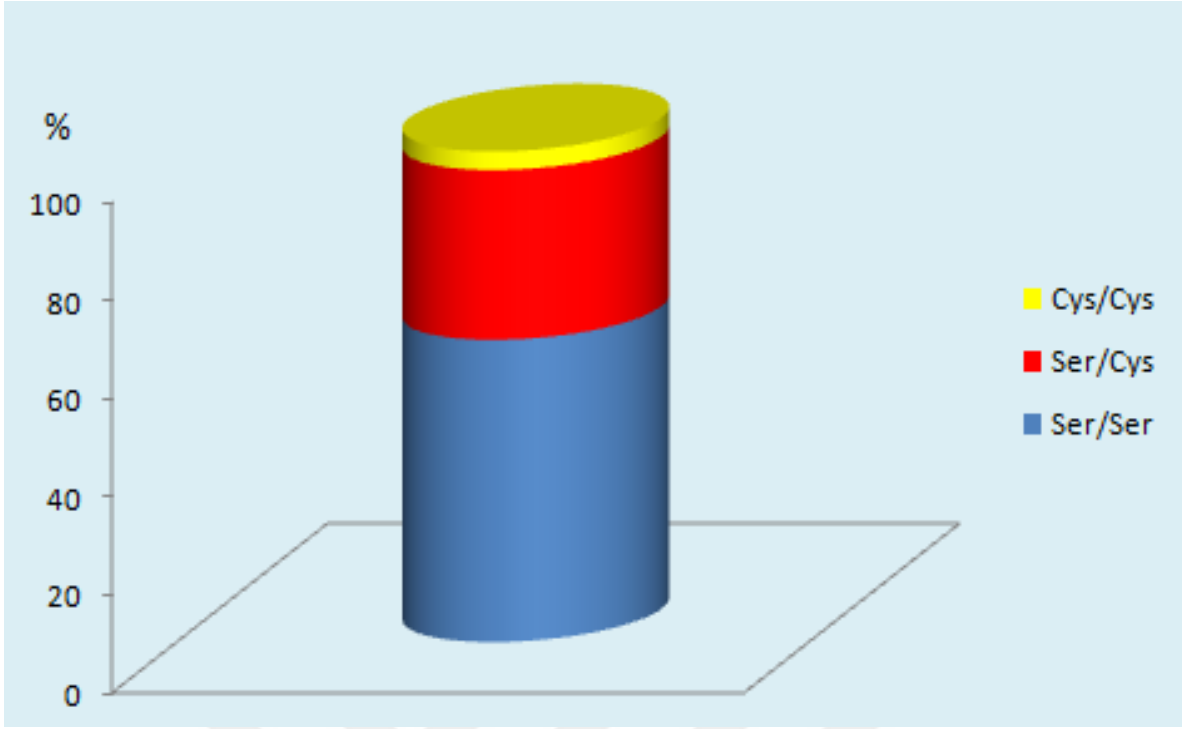
4.4. hOGG1 Ser326Cys gen polimorfizmi ile ilgili sonuçlar

a) hOGG1 Ser326Cys polimorfizminde genotip dağılımı ve allel sıklığı bakımından BHK'lu hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı (Tablo 4-10). Türk popülasyonunda hOGG1 Ser326Cys gen polimorfizminde Ser/Ser genotip dağılımı ve Ser allel sıklığı Cys/Cys genotip dağılımı ve Cys allel sıklığına göre daha yüksek bulundu (Şekil 4-4). hOGG1 geninin Ser326Cys polimorfizmi Hardy-Weinberg denkleminde uygunluk gösterdi ($p=0.56$).

Tablo 4-10. Kontrol ve böbrek hücreli karsinomlu hasta grubunda hOGG1 Ser326Cys gen polimorfizminde genotip dağılımı ve allel sıklığı

	Kontrol n (%)	Hasta n (%)	OR ^a (95% CI)	p
hOGG1 Ser326Cys				
Ser/Ser	130 (61.6)	54 (55.7)	Referans	
Ser/Cys	73 (34.6)	39 (40.2)	1.24 (0.71-2.14)	0.437
Cys/Cys	8 (3.8)	4 (4.1)	0.90 (0.40-2.01)	0.802
Ser/Cys+Cys/Cys	81 (38.4)	43 (44.3)	1.21 (0.71-2.07)	0.473
Allel				
Ser	333 (78.9)	147 (55.7)	Referans	
Cys	89 (21.9)	47 (24.3)	1.19 (0.79-1.79)	0.383

^aOdds ratios (OR) ve 95% confidence intervals (CI) yaş, cinsiyet ve VKI'e göre ayarlama yapıldı



Şekil 4-4. Türk popülasyonunda hOGG1 Ser326Cys gen polimorfizminde genotip dağılımı

b) Sigara kullanan ve kullanmayan hasta ve kontrol grupları arasında genotip dağılımları incelendiğinde, hOGG1 Ser326Cys gen polimorfizminde genotip dağılımı ve allel sıklığı açısından hem sigara kullanan, hem de kullanmayan hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak bir anlamlılık bulunmadı (Tablo 4-11).

Tablo 4-11. Kontrol ve böbrek hücreli karsinomlu hasta grubunda hOGG1 Ser326Cys gen polimorfizminde genotip dağılımı ve allel sıklığının sigara kullanımı ile ilişkisi

Sigara Kullananlar				
	Kontrol n (%)	Hasta n (%)	OR ^a (95% CI)	p
hOGG1 Ser326Cys				
Ser/Ser	53 (60.9)	23 (54.8)	Referans	
Ser/Cys	29 (33.3)	16 (39.0)	1.37 (0.69-3.14)	0.451
Cys/Cys	5 (5.7)	2 (4.9)	0.79 (0.25-2.45)	0.685
Ser/Cys+Cys/Cys	34 (38.9)	18 (43.9)	1.26 (0.56-2.81)	0.565
Allel				
Ser	135 (77.6)	62 (75.6)	Referans	
Cys	39 (22.4)	20 (24.4)	1.11 (0.60-2.07)	0.726
Sigara Kullanmayanlar				
hOGG1 Ser326Cys				
Ser/Ser	77 (62.1)	31 (55.4)	Referans	
Ser/Cys	44 (35.5)	23 (41.1)	1.26 (0.59-2.68)	0.548
Cys/Cys	3 (2.4)	2 (3.6)	1.31 (0.39-4.37)	0.659
Ser/Cys+Cys/Cys	47 (37.9)	25 (44.7)	1.27 (0.61-2.67)	0.515
Allel				
Ser	198 (79.8)	85 (75.9)	Referans	
Cys	50 (20.2)	27 (24.1)	1.25 (0.73-2.14)	0.397

^aOdds ratios (OR) ve 95% confidence intervals (CI) yaş, cinsiyet ve VKI'ye göre ayarlama yapıldı

c) Düşük ve yüksek grade'li tümör açısından incelendiğinde, hOGG1 Ser326Cys gen polimorfizminde genotip dağılımı ve allel sıklıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (Tablo 4-12).

Tablo 4-12. hOGG1 Ser326Cys gen polimorfizminin tümörün grade'i ile ilişkisi

	Düşük grade ^a n (%)	Yüksek grade ^b n (%)	OR ^c (95% CI)	p
hOGG1 Ser326Cys				
Ser/Ser	32 (52.5)	22 (61.1)	Referans	
Ser/Cys	26 (42.6)	13 (36.1)	0.85 (0.32-2.36)	0.759
Cys/Cys	3 (4.9)	1 (2.8)	0.00 (0.00-0.00)	0.999
Ser/Cys+Cys/Cys	29 (47.5)	14 (38.9)	0.77 (0.29-2.31)	0.594
Allel				
Ser	90 (73.7)	57 (79.1)	Referans	
Cys	32 (26.2)	15 (20.9)	0.74 (0.36-1.48)	0.396

^aDüşük evre: 1-2; ^bİleri evre: 3-4; ^cOdds ratios (OR) and 95% confidence intervals (CI) yaş, cinsiyet ve VKI'ye göre ayarlanmadı

d) hOGG1 Ser326Cys gen polimorfizminde genotiplerin dağılımı tümörün düşük ve yüksek klinik T evresi açısından incelendiğinde, hOGG1 Ser326Cys genotip dağılımı ve allel sıklıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (Tablo 4-13).

Tablo 4-13. hOGG1 Ser326Cys gen polimorfizminin tümörün klinik T evresi ile ilişkisi

	Düşük Evre ^a n (%)	İleri Evre ^b n (%)	OR ^c (95% CI)	p
hOGG1 Ser326Cys				
Ser/Ser	36 (57.1)	18 (52.9)	Referans	
Ser/Cys	24 (38.1)	15 (44.1)	1.59 (0.59-4.26)	0.352
Cys/Cys	3 (4.8)	1 (2.9)	1.03 (0.21-4.58)	0.970
Ser/Cys+Cys/Cys	27 (42.9)	16 (47.1)	1.60 (0.61-4.23)	0.336
Allel				
Ser	96 (76.1)	51 (75.0)	Referans	
Cys	30 (23.9)	17 (25.0)	1.06 (0.53-2.11)	0.853

^aDüşük evre: 1-2; ^bİleri evre: 3-4; ^cOdds ratios (OR) and 95% confidence intervals (CI) yaş, cinsiyet ve VKI'ye göre ayarlanmadı

5. TARTIŞMA

Böbrek kanserinin yetişkinlerde yaklaşık % 80-90'ını oluşturan BHK en yaygın böbrek kanseri türüdür (111). Sigara kullanımı, obezite ve spesifik genlerdeki mutasyonların BHK oluşumunda rol oynadığı ileri sürülmektedir (112-115). BHK'un patogenezini ve biyolojik mekanizmasını incelemek, BHK'un mevcut tanısı, tedavisi ve prognozunu etkileyebilecektir.

İnsan genomik DNA'sının bütünlüğünün, endojen ve ekzojen faktörlerin etkisiyle hasara uğrayarak bozulduğu belirtilmektedir. Endojen faktörler; DNA'da kendiliğinden meydana gelen hatalar olabildiği gibi hücre metabolizmasının yan ürünü olarak üretilen reaktif oksijen ve nitrojen türleri, lipid peroksidasyon ürünleri, endojen alkilasyon ajanları, östrojen ve kolesterol metabolitleri ve reaktif karbonil türleri de olabilmektedir. Endojen nedenler ile oluşan oksidasyon ile DNA hasarı oranı hücre başına yaklaşık 10.000 olarak belirtilmektedir. Reaktif oksijen türleri DNA'da baz kaybına, yanlış eşleşmeye veya zincir kırıklarına yol açabilmektedir. Bu hasarların içinde en az oluşan ama en zor onarılanı çift zincir kırıkları olarak bilinmektedir. Ekzojen faktörler ise ultraviyole ışığı, iyonize radyasyon, ağır metaller, hava kirliliği, sigara dumanı, kemoterapötik ilaçlar olarak sayılabilmektedir. Çevresel DNA hasar ajanlarından en önemlisi ise ultraviyole ışınlarıdır (UV). Hasarın yoğunluğuna ve tipine bağlı olarak; hücre döngüsünün durdurulması, gen ifadesinin değişmesi, DNA tamirinin uyarılması, programlı hücre ölümü (apoptoz), kanser ya da yaşlanma gibi olaylar meydana gelebilmektedir (2,116-119).

Hücreler genomik bütünlüğü korumak amacıyla karmaşık bir dizi DNA onarım mekanizmalarına sahiptirler. DNA onarımı nükleazlar, helikazlar, polimerazlar, topoizomerazlar, rekombinazlar, ligazlar, glikozilazlar, demetilazlar, kinazlar ve fosfatazların enzimatik aktivitelerine göre gerçekleştirilmektedir. İnsanda DNA onarımında 150 genin görev aldığı tahmin edilmekte ancak, bu genlerden sadece %50'sinin fonksiyonu bilinmektedir (120-122).

BER yolu, genom bütünlüğünün sağlanmasından sorumlu DNA onarım sistemlerinden biri olarak bilinmektedir. BER yolu, DNA'daki hasarı, endojen ve ekzojen mutajenlerin yol açtığı DNA tek zincir kırılmalarını sürekli olarak onararak, kanser dahil, çeşitli hastalıkların oluşumunu engellemektedir. BER yolu, tümörlerin kemoterapi ve radyoterapiye direncini etkileyebileceği için, kanser hücresi sağkalımı için etkili bir DNA

tamir sistemidir. Bu nedenlerden dolayı, BER enzimlerini hedeflemenin kişiselleştirilmiş anti kanser terapisine umut verici bir yaklaşım olabileceği genel olarak kabul edilmektedir (123).

DNA tamir genleri; genom bütünlüğünün devamlılığı, kanser ve kalıtsal genetik hastalıkları oluşturan mutasyonlardan korunmada önemli rolü olan genler olarak bilinmektedir. DNA' da hasara uğrayan hücrelerin, DNA tamir sistemindeki değişikliklerden dolayı tamir edilemediği durumlarda ya apoptoz'u ya da kontrolsüz hücre bölünme yolunu seçtikleri bilinmektedir. DNA tamir genlerindeki birçok polimorfizm, bu genlerin protein ürünlerinin işlevini etkilemektedir. Bu genlerdeki tek nükleotid polimorfizmleri sonucu oluşan proteinlerin yüksek ya da düşük aktivite göstermesinin DNA onarım kapasitesinin değişmesine sebep olduğu belirtilmektedir. Bu değişimin kişilerin çeşitli kanser türlerine yakalanma riskinin artmasına ya da azalmasına neden olduğu ileri sürülmektedir. DNA tamir sistemlerinde yer alan genlerdeki polimorfizmler ile genetik istikrarsızlık arasındaki ilişki birçok çalışmada bildirilmektedir (124-126). Sağlıklı kişilerin ve kanser hastalarının genotiplerinin farklılığının belirlenmesi, kanser etiyojisi, riski ve tedaviye verilen yanıt açısından son derece önemlidir.

BER yolağında tanımlanan DNA onarım genlerinden, XRCC1, hOGG1 ve APE1 en çok çalışılan genler olup, bu genlerin polimorfizmleri ile çeşitli kanser türleri arasındaki ilişkileri araştırılmıştır (127-131). BER yolağındaki DNA tamir gen polimorfizmleri ile BHK arasındaki ilişkiyi inceleyen sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bilebildiğimiz kadarıyla da Türk popülasyonunda bu ilişkiyi araştıran çalışma henüz yayınlanmamıştır. Bu bilgiler göz önüne alındığında, DNA hasarına bağlı BHK'da BER yolağında rol oynayan proteinlerin gen polimorfizmlerini incelemek anlamlı olmaktadır. Bu amaçla, XRCC1, hOOG1 ve APE1 tek nükleotid gen polimorfizmlerinin BHK oluşumu ve gelişimi üzerindeki etkilerini inceledik.

XRCC1 geni, DNA tamirinde çok önemli rol oynayan genlerden bir tanesidir. XRCC1 geni, serbest oksijen radikallerinin, iyonize radyasyonun, UV ve alkilleyici mutajenlerin yaptığı baz değişimi sonucu oluşan DNA tek zincir kırılmalarının onarılmasında rol alan proteini kodlamaktadır (132-134). XRCC1 proteini polimeraz β , DNA ligaz III ve poli -ADP-riboz polimeraz (PARP) ile etkileşime girerek, tek zincir kırıkları ve baz eksizyon tamirinde etkili olmaktadır. Ayrıca çift zincir kırıklarını içeren homolog olmayan uç doldurma yolağında da rol oynamaktadır (133). XRCC1 geninde amino asit değişimiyle sonuçlanan 3 farklı tek nükleotid polimorfizmi (Arg194Trp, Arg280His, Arg399Gln) bulunmaktadır. En çok çalışılan XRCC1 polimorfizmi ise Arg399Gln gen polimorfizmi olmaktadır. XRCC1

Arg399Gln gen polimorfizmi kodon 399'da Guanin /Adenin tek nükleotid değişimi sonucu oluşmaktadır (135). Yapılan çalışmalarda, 399Gln alleleline sahip bireylerde yüksek oranda DNA addüktlerinin, kardeş kromatidler değişim sıklığının ve iyonize radyosyana duyarlılığın arttığı ileri sürülmektedir (134).

Yapılan çalışmalarda, çeşitli kanser türleri ile XRCC1 Arg399Gln polimorfizmi arasında çelişkili sonuçlar bulunmaktadır. Kolon, baş-boyun ve meme kanseri ile XRCC1 Arg399Gln polimorfizmi arasındaki ilişkiyi inceleyen bir çalışmada, kolon kanserinde XRCC1 399Gln allelinin risk oluşturduğu oysa diğer kanserlerle arasında bir ilişki olmadığı öne sürülmektedir (136). Bir başka çalışmada da, XRCC1 399Gln allelinin prostat kanseri oluşumunda bir risk faktörü olduğu ileri sürülmektedir (137). Türk popülasyonunda yapılan bir çalışmada, XRCC1 399Gln alleleline sahip kişilerde gastrik kanseri riskinin Arg/Arg genotipine sahip olanlara göre 2.54 kat daha fazla olduğu belirtilmektedir (138). Yapılan bir başka çalışma sonuçlarına göre meme kanserli postmenopozal kadınlarda, XRCC1 Gln allelinin, yüksek risk içerdiği belirtilmektedir (12). Yapılan diğer bir çalışmada, XRCC1 399Gln alelinin mide kanseri için risk oluşturduğu ileri sürülmektedir (139). Bir meta-analiz çalışma sonucuna göre XRCC1 Gln/Gln genotipinin akciğer kanseri için risk oluşturduğu ileri sürülürken (140), mesane (141), akciğer ve kolorektal kanserlerin (142) araştırıldığı farklı çalışmalarda bir risk oluşturmadığını belirtmektedirler .

Sigara dumanı, reaktif oksijen türleri ve yoğun DNA addüktleri oluşturabilen çeşitli kimyasal kanserojenleri içermektedir. Reaktif oksijen türleri (O_2^- , H_2O_2 , OH^{\cdot}) oksidatif hasar oluşturarak DNA tek zincir kırıklarına neden olmaktadır. Reaktif oksijen türlerinin oluşturduğu DNA hasarının BER yolağı ile onarıldığı belirtilmektedir (143).

Sigara kullanımının, XRCC1 Arg399Gln polimorfizmi ile kanser olma riski üzerindeki etkisini inceleyen çalışmalarda çelişkili sonuçlar bulunmaktadır. XRCC1 Arg399Gln polimorfizmi ile akciğer kanseri arasındaki ilişkiyi inceleyen bir çalışma sonucuna göre sigara kullanımında Gln/Gln genotipinin kanser riskini arttırdığı öne sürülmektedir (144). Farklı bir çalışma da ise XRCC1 Arg399Gln polimorfizmi ile mesane kanseri arasında sigara içen ve içmeyenler arasında genotip dağılım açısından hiçbir fark olmadığı belirtilmektedir (145). Buna karşın, başka bir çalışmada sigara kullananlarda Arg/Gln genotipinin kolorektal kanser oluşum riskini azalttığı öne sürülmektedir (146).

Diğer yandan, Karam ve ark. 'nın yaptığı bir çalışmada, XRCC1 Arg399Gln gen polimorfizminde Arg/Arg genotipine sahip kişilerin kolorektal kanser olma riskinin Gln/Gln genotipine sahip olanlardan 2.1 kat daha yüksek olduğu belirtilmektedir. Buna ilaveten, aynı

çalışmada, Arg/Gln+Arg/Arg genotipi ile tümörün histolojik grade'i arasında anlamlı bir ilişki olduğu öne sürülmektedir (13). Natukula ve ark. XRCC1 399 Gln/Gln ve Arg/Gln genotiplerinin akciğer kanseri için bir risk faktörü olduğunu ve sadece kadınlarda Arg/Gln genotipinin hastalığın evresi ile ilişkili olduğunu belirtmektedirler (147). Sakano ve ark.'nın BHK'lu hastalarda yaptıkları çalışmada, XRCC1 Arg399Gln gen polimorfizmi ile hem kanser oluşumu, hem de tümörün histopatolojik grade ve evresi arasında anlamlı bir ilişkinin olmadığı ileri sürülmektedir (148).

Çalışmamızda, kontrol grubu ile BHK'lu hasta grubu kıyaslandığında, BHK'lu hastalarda Arg/Gln ve Arg/Gln+Gln/Gln genotiplerinin dağılımının Arg/Arg genotip dağılımına göre anlamlı olarak arttığı ve sırasıyla 2.64 ve 2.56 kat daha fazla risk içerdiği saptandı. Ancak, XRCC1 Arg/Gln ve Arg/Gln+Gln/Gln genotipleri yüksek grade ve ileri evre oluşumu açısından bir risk taşımamaktadır. Buna karşın, sigara kullanımının, 399Gln alleleline sahip kişilerde Arg alleleline sahip olan kişilere göre BHK oluşumu için bir risk oluşturmadığı saptandı. DNA hasarını takiben, PARP'ın XRCC1 üzerindeki BRCT1 domenine bağlanmasıyla XRCC1'in onarımda rol oynayan diğer BER proteinlerinin (DNA pol β ve DNA ligaz III gibi) bir araya getirilmesinde ve bu proteinlerin aktivitelerinin düzenlenmesinde önemli bir role sahip olduğu belirtilmektedir (135). XRCC1 Arg399Gln gen polimorfizmi, XRCC1'in BRCT1 domeni üzerinde (aa 315-aa 403) PARP'ın bağlandığı bölgede bulunmaktadır. Bu bölgede oluşan XRCC1 Arg399Gln gen polimorfizminde, glutamin amino asidinin arginin aminoasidi ile yer değiştirmesi, XRCC1'in PARP ve buna bağlı olarak diğer BER proteinleri arasındaki protein-protein etkileşimini değiştirebilmektedir.

Bizim çalışmamıza göre, 399Gln allelinin BHK oluşumu için bir risk faktörü olarak rol oynadığı ve bu gen varyasyonunun, DNA hasarı tamir kapasitesini olumsuz yönde etkileyebileceği ileri sürülebilir.

APE1 enziminin, DNA hasarı dışında, kanser gelişimiyle yakından ilişkili olan hücre proliferasyonu ve büyümesi, hücre döngüsü kontrolü, apoptoz ve anjiyogenez gibi birçok biyolojik süreçte kritik bir rol oynadığı ileri sürülmektedir. Buna ilaveten, APE1 enziminin DNA hasarı tamiri dışında birçok transkripsiyon faktörü için transkripsiyonel koaktivatör olarak görev aldığı bildirilmektedir (AP-1, P53, Pax-5 ve TTF-1) (66). Au ve ark.'ı tarafından yapılan bir çalışmada lenfositlere X-ışını verilerek DNA hasarı bakılmış ve APE1 148Glu allelinin artmış kromatid kırıkları, kromatid değiş tokuşu gibi kromozom değişikliklerine sebep olarak DNA hasarının tamiri üzerinde olumsuz yönde etkili olduğunu öne sürmektedirler (149).

Spontan veya kimyasal ajanlarla oluşan deaminasyon veya iyonize radyasyon ve oksidatif hasar sonucu oluşan baz değişikliklerinin uygun bir DNA glikozilaz tarafından uzaklaştırmasıyla DNA zincirinde AP bölge oluştuğu bilinmektedir. Oluşan AP bölgesi 5'-ucuna doğru APE1 enzimi tarafından çentik atılması ile AP bölgesine komşu bir 3'-OH ucu oluştuğu belirtilmektedir (66).

Birçok çalışmada APE1 Asp148Glu gen polimorfizminin çeşitli kanser türleri ile ilişkili olduğu belirtilmektedir. Bununla birlikte, bu çalışmaların sonuçları tartışmalıdır. Zhang ve ark.'ı, Asp/Glu ve Glu/Glu genotipi ile Glu allelinin yumurtalık kanseri riskini azalttığını öne sürmektedirler (150). Bir başka çalışmada da, Glu/Glu genotipinin mesane kanseri riskine karşı koruyucu etkisi olduğu öne sürülmektedir (151). Buna karşın, APE1 148Glu gen varyantının sindirim sistemi kanseri (152) ve prostat kanseri (153) için bir risk faktörü olmadığı öne sürülmektedir. Buna karşın, Zhou ve ark. APE1 Asp148Glu polimorfizminde, Glu allelinin prostat kanseri yatkınlığı için bir risk faktörü olduğunu ileri sürmektedirler (154). Farklı bir meta-analiz çalışması ise APE1 Asp148Glu polimorfizminde G allelinin özellikle gastrik kanser ile ilişkili olduğunu; buna karşın kolorektal ve özafagus kanseri ile ilişkili olmadığını belirtmektedir (155). Türk popülasyonunda yapılan çalışmalarda, Canbay ve ark. kolorektal kanserinde (56), Cincin ve ark. endometrium kanserinde (22) Glu allelinin bir risk faktörü olduğunu ileri sürmektedirler. Diğer bir meta-analiz çalışmasında, APE1 148Glu allelinin akciğer kanseri gelişiminde etkili olduğu belirtilmektedir (156).

Çin popülasyonunda yapılan bir çalışmada artan akciğer kanseri duyarlılığında, APE1 148Glu varyantı ile sigara kullanımı arasında anlamlı ilişki olduğu ileri sürülmektedir (157). Zhang ve ark. APE1 Glu/Glu genotipinin, Asp/Asp genotipine kıyasla kolorektal kanseri riskini arttırdığını, buna karşın, sigara kullanımının APE1 Asp148Glu polimorfizmi ile ilişkili olmadığını ileri sürmektedirler (146).

Bizim çalışmamıza göre, Asp/Glu ve Glu/Glu genotiplerinin BHK oluşumunda bir risk faktörü olarak rol oynadığı oysa, gelişiminde etkili olmadığı saptandı. Ayrıca, sigara kullanımının, Glu alleleline sahip kişilerde Asp alleleline sahip olan kişilere göre BHK için bir risk oluşturmadığı bulundu. BHK'da sigara kullanımı ile APE1 Asp148Glu gen polimorfizmi arasında anlamlı bir ilişki olmadığı ileri sürülebilir.

APE1 Asp148Glu gen polimorfizminin proteinin endonükleaz domeninde bulunduğu belirtilmektedir. Buna karşın, Hadi ve ark. APE1 Asp148Glu gen polimorfizminde Glu allelinin enzimin endonükleaz aktivitesi ve DNA bağlanma kapasitesi üzerine etkisi olmadığını ileri sürmektedirler (75).

Sonuç olarak, APE1 gen varyasyonunun, enzimin diğer BER proteinleri ile etkileşim kapasitesinin azalmasına yol açarak DNA onarımını etkilediğini ve bunun sonucunda BHK için bir risk faktörü olarak rol oynadığını ileri sürebiliriz.

Guanin, DNA bileşenleri içerisinde en düşük iyonizasyon potansiyeline sahip bir bileşik olup serbest radikallerin etkilerine açıktır. Hidroksil radikalının, guaninin 8. pozisyonundaki karbon atomu ile reaksiyonu sonucu oluşan 8-OHG, oksidatif DNA hasarının bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. Hasarlı bazın G:C/A:T dönüşümüne neden olduğu ve böylece mutasyonlara ve kanser gelişimine yol açtığı belirtilmektedir (77,158). BER yolağında önemli fonksiyona sahip olan DNA glikozilazlardan biri olan hOGG1 enziminin deoksiriboz ile 8-OHG arasındaki N-glikozid bağına hidroliz ederek oksitlenmiş bazı uzaklaştırdığı belirtilmektedir (83).

hOGG1 Ser326Cys gen polimorfizminin, hOGG1 geninin kodlama bölgesinde olmasından dolayı enzimin katalitik özelliğini değiştirdiğini bu nedenle de kanser oluşumunda etkili olabileceğini buna karşın, bu polimorfizmin hOGG1 aktivitesinde fark oluşturmadığını gösteren çalışmalar da bulunmaktadır. E.coli'de, Cys326 proteininin Ser326 proteinine göre yaklaşık yedi kat düşük aktivite göstermesinin (91) yanı sıra Ser326 ile Cys326 fonksiyonunda anlamlı bir farklılık olmadığını ve bunun sonucunda hOGG1 Ser326Cys polimorfizminin DNA onarımını etkilemediğini gösteren farklı sonuçlar ileri sürülmektedir (92,93).

hOGG1 Ser326Cys gen polimorfizmi ile kanser oluşum riski arasındaki ilişkiyi inceleyen klinik araştırmalarda çelişkili sonuçlar bulunmakradır. Danimarka popülasyonunda, akciğer kanseri ile hOGG1 Ser326Cys polimorfizmi arasındaki ilişkiyi incelemek amacıyla yapılan çalışmada anlamlı bir ilişkinin bulunmadığı ileri sürülmektedir (159). Bir diğer çalışmada da, hOGG1 Ser326Cys polimorfizmi ile akciğer kanser riski arasında herhangi bir ilişkinin olmadığı, ayrıca sigara kullanımının Ser326Cys polimorfizmini istatistiksel etkilemediği öne sürülmektedir (160). Yapılan diğer çalışmalarda, hOGG1 Ser326Cys polimorfizmi ile meme kanseri (161) ve gastrik kanseri (162) riski arasında anlamlı bir ilişki olmadığı öne sürülmektedir.

Diğer yandan, son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda, hOGG1 genindeki tek nükleotid polimorfizmi olan Ser326Cys polimorfizminin çeşitli kanser türlerinde önemli bir risk faktörü olduğu belirtilmektedir. Türk popülasyonunda yapılan bir çalışmada 326Cys alleli ve Ser/Cys genotipinin, Ser/Ser genotipine kıyasla kolorektal kanser riskini arttırdığını ileri sürmektedirler (56). Diğer bir çalışmada da, hOGG1 326 Cys/Cys genotipine sahip kişilerin

Ser/Ser+Ser/Cys genotipine sahip kişilere göre mesane kanseri oluşumu için daha fazla risk taşıdıkları öne sürülmektedir (145).

hOGG1 Ser326Cys gen polimorfizmi ile sigara kullanımı arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışmada baş-boyun skuamoz hücreli kanserde, sigara içen bireylerde Cys/Cys genotipinin riski arttırdığı ileri sürülmektedir (98). Buna karşın, Zhao ve ark., BHK'lu hastalarda, 326Cys allelinin sigara içmeyenlerde risk oluşturduğunu belirtmektedirler (104). 2016 yılında yapılan bir meta analiz çalışmasına göre ise, mesane kanserinde hOGG1 gen polimorfizminin özellikle sigara kullanan kişilerde bir risk faktörü olmadığı ileri sürülmektedir (163). Kolorektal kanserin progresyonu ile hOGG1 Ser326Cys gen polimorfizmi arasındaki ilişkiyi inceleyen bir çalışmada, Cys/Cys varyantının hastalığın T evresi için bir risk faktörü olmadığı ileri sürülmektedir (24).

Bizim çalışmamıza göre, hOGG1 Ser326Cys gen polimorfizminde genotip dağılımı ve allel sıklığı bakımından BHK'lu hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı. Sigara kullanan ve kullanmayan hasta ve kontrol grupları arasındaki genotip dağılımları incelendiğinde, hOGG1 Ser326Cys genotip dağılımı ve allel sıklığı açısından hem sigara kullanan, hem de kullanmayan hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak bir anlamlılık saptanmadı. Ayrıca, Cys/Cys varyantının yüksek grade ve ileri evre oluşumu açısından incelendiğinde bir risk taşımadığı saptandı.

Tüm bu bilgilerin ışığında çalışmamızın sonuçlarına göre;

1) Türk popülasyonunda XRCC1 Arg399Gln polimorfizminde Arg/Arg genotipinin, APE1 Asp148Glu polimorfizminde Asp/Asp genotipinin ve hOGG1 Ser326Cys polimorfizminde Ser/Ser genotip dağılımının anlamlı olarak daha fazla olduğu ileri sürülebilir.

2) XRCC1 Arg399Gln polimorfizminde;

BHK'lu hastalarda Arg/Gln genotip dağılımının anlamlı olarak daha yüksek bulunması, XRCC1 Arg399Gln polimorfizminin BHK oluşumunda etkili olduğu buna karşın BHK'un gelişiminde rol oynamadığı ileri sürülebilir. Sigara kullanımının, Gln allelini taşıyanlarda, taşımayanlara göre BHK oluşumunda bir risk faktörü olarak rol oynadığı ileri sürülebilir.

3) APE Asp148Glu polimorfizminde;

Asp/Glu, Glu/Glu ve Asp/Glu+Glu/Glu genotip dağılımlarının kontrol grubundaki kişilere göre anlamlı olarak farklı olduğunu ve buna göre APE Asp148Glu polimorfizminin BHK

oluşumunda önemli bir role sahip olduğunu, oysa; Asp/Glu, Glu/Glu ve Asp/Glu+Glu/Glu genotip dağılımlarının BHK gelişiminde bir risk faktörü olmadığı ileri sürülebilir. Sigara kullanımı açısından incelediğimizde, hem sigara kullanan hem de kullanmayan kişiler içinde, Glu allelini taşıyanlarda, taşımayanlara göre anlamlılık bulunması sigaranın Asp148Glu polimorfizminde BHK oluşumu için bir risk faktörü olarak rol oynamadığı ileri sürülebilir.

4) hOGG1 Ser326Cys polimorfizminde;

BHK'lu hastalarda Ser/Ser, Ser/Cys, Cys/Cys genotip dağılımlarının kontrol grubundaki kişilere göre farklı olmadığı ve buna göre hOGG1 Ser326Cys polimorfizminin BHK oluşumunda bir risk taşımadığı ayrıca, yüksek grade, ileri evre ve sigara kullanımı açısından da hiçbir anlamlılık bulunmadığı için Cys allelinin BHK gelişimi içinde risk içermediği ileri sürülebilir.

BER yolağında, XRCC1 geninde oluşan Arg399Gln tek nükleotid polimorfizmi, proteinin diğer BER enzimleri ile olan etkileşimini etkileyerek DNA tamir kapasitesini değiştirebilen amino asit değişikliği ile sonuçlandığı için önemli bir rol oynamaktadır. Tek bir gendeki polimorfizm ihmal edilebilir bir etki oluşturabilmesine rağmen, BER yolağındaki gen polimorfizmleri arasındaki etkileşimler de, kanserin oluşumu ve gelişimi açısından oldukça önemli olabilmektedir.

BER yolağında önemli yer alan XRCC1 Arg399Gln, APE Asp148Glu ve hOGG1 Ser326Cys gibi DNA tamir gen polimorfizmlerinin incelenmesinin gelecekte BHK hastalığının teşhis ve kişiye özgü tedavisi bakımından önemli olabileceğini ileri sürebiliriz.

6. KAYNAKLAR

- 1-Prognostic factor of the RCC, Renal Cell Carcinoma, 2011 EAU Guidelines
- 2-Hoeijmakers JH. DNA damage, aging, and cancer. *N Engl J Med.* 2009; 361: 1475-85. doi: 10.1056/NEJMra 0804615. Review
- 3-Kurtoğlu EL, Tekedereli İ. DNA onarım mekanizmaları. *Balıkesir Sağlık Bil Derg.* 2015; 4. DOI:10.5505/bsbd.2015.52523
- 4-Sancar A, Lindsey-Boltz LA, Unsal-Kaçmaz K, Linn S. Molecular mechanisms of mammalian DNA repair and the DNA damage checkpoints. *Annu Rev Biochem.* 2004; 73: 39-85. Review.
- 5-Thomas S. Dexheimer. DNA Repair Pathways and Mechanisms. *DNA Repair of Cancer Stem Cells.* 2012; 19-32. DOI: 10.1007/978-94-007-4590-2_2
- 6-Wilson DM 3rd, Kim D, Berquist BR, Sigurdson AJ. Variation in base excision repair capacity. *Mutat Res.* 2011; 711: 100-12. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2010.12.004
- 7- Zhou Q, Zou BW, Xu Y, Xue JX, Meng MB, Liu FJ, et al. DNA repair gene polymorphisms and clinical outcome of patients with primary small cell carcinoma of the esophagus. *Tumour Biol.* 2015; 36: 1539-48. doi: 10.1007/s13277-014-2718-y.
- 8-Hsieh WC, Lin C, Chen DR, Yu WF, Chen GJ, Hu SW, et al. Genetic polymorphisms in APE1 Asp148Glu (rs3136820) as a modifier of the background levels of abasic sites in human leukocytes derived from breast cancer patients and controls. *Breast Cancer.* 2017; 24: 420-426. doi: 10.1007/s12282-016-0719-y.
- 9-Cho EY, Hildesheim A, Chen CJ, Hsu MM, Chen IH, Mittl BF, et al. Nasopharyngeal carcinoma and genetic polymorphisms of DNA repair enzymes XRCC1 and hOGG1. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2003; 12: 1100-4.
- 10-Kiyohara C, Takayama K, Nakanishi Y. Association of genetic polymorphisms in the base excision repair pathway with lung cancer risk: a meta-analysis. *Lung Cancer.* 2006; 54: 267-83.

11-Hung RJ, Hall J, Brennan P, Boffetta P. Genetic polymorphisms in the base excision repair pathway and cancer risk: a HuGE review. *Am J Epidemiol.* 2005; 162: 925-42.

12-Luo H, Li Z, Qing Y, Zhang SH, Peng Y, Li Q, et al. Single nucleotide polymorphisms of DNA base-excision repair genes (APE1, OGG1 and XRCC1) associated with breast cancer risk in a Chinese population. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2014; 15: 1133-40.

13-Karam RA, Al Jiffry BO, Al Saeed M, Abd El Rahman TM, Hatem M, Amer MG. Arab J DNA repair genes polymorphisms and risk of colorectal cancer in Saudi patients. *Gastroenterol.* 2016; 17: 117-120. doi: 10.1016/j.ajg.2016.08.005.

14-Singh A, Singh N, Behera D, Sharma S. Association and multiple interaction analysis among five XRCC1 polymorphic variants in modulating lung cancer risk in North Indian population. *DNA Repair (Amst).* 2016; 47: 30-41. doi: 10.1016/j.dnarep.2016.09.006.

15-Li M, Yu X, Zhang ZY, Wu CL, Xu HL. Interaction of XRCC1 Arg399Gln and Alcohol Consumption Influences Susceptibility of Esophageal Cancer. *Gastroenterol Res Pract.* 2016; 2016: 9495417. doi: 10.1155/2016/9495417.

16-Chen XP, Wen HF, Zhang F, Xu WH, Ma ZC, Fu SM. Assessment of the Link between XRCC1 Arg399Gln Polymorphism and Breast Cancer: a Meta-Analysis in a Single Ethnic Group. *Clin Lab.* 2017; 63: 725-731. doi: 10.7754

17-Dyrkheeva NS, Lebedeva NA, Lavrik OI. AP Endonuclease 1 as a Key Enzyme in Repair of Apurinic/Apyrimidinic Sites. *Biochemistry (Mosc).* 2016; 81: 951-67. doi: 10.1134/S0006297916090042.

18-Zhong JH, Zhao Z, Liu J, Yu HL, Zhou JY, Shi R. Association between APE1 Asp148Glu polymorphism and the risk of urinary cancers: a meta-analysis of 18 case-control studies. *Onco Targets Ther.* 2016; 9: 1499-510. doi: 10.2147/OTT.S101456.

19-Abbotts R, Madhusudan S. Human AP endonuclease 1 (APE1): from mechanistic insights to druggable target in cancer. *Cancer Treat Rev.* 2010; 36: 425-35. doi: 10.1016/j.ctrv.2009.12.006. Review

- 20-Hu JJ, Smith TR, Miller MS, Mohrenweiser HW, Golden A, Case LD. Amino acid substitution variants of APE1 and XRCC1 genes associated with ionizing radiation sensitivity. *Carcinogenesis*. 2001; 22: 917-22.
- 21-Das S, Bhowmik A, Bhattacharjee A, Choudhury B, Naiding M, Laskar AK, et al. XPD, APE1, and MUTYH polymorphisms increase head and neck cancer risk: effect of gene-gene and gene-environment interactions. *Tumour Biol*. 2015; 36: 7569-79. doi: 10.1007/s13277-015-3472-5.
- 22-Cincin ZB, Iyibozkurt AC, Kuran SB, Cakmakoglu B. DNA repair gene variants in endometrial carcinoma. *Med Oncol*. 2012; 29: 2949-54. doi: 10.1007/s12032-012-0162-7.
- 23-Chen W, Wang Q, Liu M, Ding XB. The association of APE1 Asp148Glu gene polymorphisms and lung cancer risk: an updated meta-analysis. *Tumour Biol*. 2014; 35: 3597-603. doi: 10.1007/s13277-013-1474-8.
- 24-Park HW, Kim IJ, Kang HC, Jang SG, Ahn SA, Lee JS, Shin HR, Park JG. The hOGG1 Ser326Cys polymorphism is not associated with colorectal cancer risk. *J Epidemiol*. 2007; 17: 156-60.
- 25-Zhang Y, He BS, Pan YQ, Xu YQ, Wang SK. Association of OGG1 Ser326Cys polymorphism with colorectal cancer risk: a meta-analysis. *Int J Colorectal Dis*. 2011; 26: 1525-30. doi: 10.1007/s00384-011-1258-9.
- 26-Moreno V, Gemignani F, Landi S, Gioia-Patricola L, Chabrier A, Blanco I, et al. Polymorphisms in genes of nucleotide and base excision repair: risk and prognosis of colorectal cancer. *Clin Cancer Res*. 2006; 12: 2101-8.
- 27-Romanowicz H, Pyziak L, Jabłoński F, Bryś M, Forma E, Smolarz B. Analysis of DNA Repair Genes Polymorphisms in Breast Cancer. *Pathol Oncol Res*. 2017; 23: 117-123. doi: 10.1007/s12253-016-0110-5.
- 28-Li DP, Huang H, Chai W, He M, Deng J, Zhang HL, Guo R. Analysis of association of human 8-oxoguanine glycosylase 1 polymorphism with the susceptibility of laryngeal cancer. *Zhonghua Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi*. 2016; 51: 681-684. doi: 10.3760/cma.j.issn.1673-0860.2016.09.009.

- 29-Wang Y, Gao X, Wei F, Zhang X, Yu J, Zhao H, et al. The hOGG1 Ser326Cys polymorphism contributes to digestive system cancer susceptibility: evidence from 48 case-control studies. *Tumour Biol.* 2015;36(2):1029-38. doi: 10.1007/s13277-014-2710-6.
- 30-Ito H, Hamajima N, Takezaki T, Matsuo K, Tajima K, Hatooka Sat, et al. A limited association of OGG1 Ser326Cys polymorphism for adenocarcinoma of the lung. *J Epidemiol.* 2002; 12: 258-65.
- 31-Sanjari Moghaddam A, Nazarzadeh M, Noroozi R, Darvish H, Mosavi Jarrahi A. XRCC1 and OGG1 Gene Polymorphisms and Breast Cancer: A Systematic Review of Literature. *Iran J Cancer Prev.* 2016; 9: e3467. doi: 10.17795/ijcp-3467. Review.
- 32-Murphy WM, Beckwith JC, Farrow GM. Normal Anatomy. In: Rosai J, Sobin LH, editor. *Tumors of the kidney, bladder and related urinary structures.* AFIP; 1994. 1-11.2
- 33-Sadler TW. *Urogenital Sistem. Medikal Embriyoloji.* 6.basım. Palme Yayıncılık; 1990. 246-254.
- 34-Sadler T.W. *Langman's Medical Embryology.* Twelfth edition, Lippincott Williams& Wilkins, 2012. Urogenital System: 232-240.
- 35-Ridge CA, Pua BB, Madoff DC. Epidemiology and staging of renal cell carcinoma. *Semin Intervent Radiol.* 2014; 31: 3-8. doi: 10.1055/s-0033-1363837. Review.
- 36-Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2015. *CA Cancer J Clin.* 2015; 65: 5-29. doi: 10.3322/caac.21254.
- 37-Moch H, Cubilla AL, Humphrey PA, Reuter VE, Ulbright TM. The 2016 WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs-Part A: Renal, Penile, and Testicular Tumours. *Eur Urol.* 2016; 70: 93-105. doi: 10.1016/j.eururo.2016.02.029.
- 38-Fuhrman SA, Lasky LC, Limas C. Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol.* 1982; 6: 655-63.
- 39- James D. Brierley, Mary K. Gospodarowicz, Christian Wittekind. *TNM classification of malignant tumors.* UICC International Union Against Cancer. 8th edn. Wiley-Blackwell, 2017. 199.

40-NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology: Kidney Cancer. V 2.2014. Available at http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/kidney.pdf. Accessed: January 16, 2014

41-Häder DP, Sinha RP. Solar ultraviolet radiation-induced DNA damage in aquatic organisms: potential environmental impact. *Mutat Res.* 2005; 571: 221-33. Review

42-Onur E, Tuğrul B, Bozyiğit F. Dna hasarı ve onarım mekanizması. *Türk klinik Biyokimya Dergisi* 2009; 7: 61-70

43-Hansen RJ, Ludeman SM, Paikoff SJ, Pegg AE, Dolan ME. Role of MGMT in protecting against cyclophosphamide-induced toxicity in cells and animals. *DNA Repair (Amst).* 2007; 6: 1145-54.

44-Jacobs AL, Schär P. DNA glycosylases: in DNA repair and beyond. *Chromosoma.* 2012; 121: 1-20. doi: 10.1007/s00412-011-0347-4. Epub 2011 Nov 3. Review.

45-Wiederhold L, Leppard JB, Kedar P, Karimi-Busheri F, Rasouli-Nia A, Weinfeld M, et al. AP endonuclease-independent DNA base excision repair in human cells. *Mol Cell.* 2004; 15: 209-20. PMID: 15260972

46-Mitchell JR, Hoeijmakers JH, Niedernhofer LJ. Divide and conquer: nucleotide excision repair battles cancer and ageing. *Curr Opin Cell Biol.* 2003; 15: 232-40. Review.

47-Kulaksız G, Sancar A. Nükleotid Eksizyon Onarımı ve Kanser. *Türk Biyokimya Dergisi.* 2007; 32 (3); 104–111.

48-Patronas NJ, Shiffmann R, Brooks BP, Tamura D, Digiovanna JJ. Xerodermapigmentosum, trichothiodystrophy and Cockayne syndrome. A complex phenotype-genotype relationship. *Neuroscience.* 2007; 145: 1388-1396

49-de Boer J, Hoeijmakers JH. Nucleotide excision repair and human syndromes. *Carcinogenesis.* 2000; 21: 453-60. Review

50-Iyama T, Wilson DM. DNA repair mechanisms in dividing and non-dividing cells. *3rd.DNA Repair (Amst).* 2013; 12: 620-36. doi: 10.1016/j.dnarep.2013.04.015. Review

51-Li GM. Mechanisms and functions of DNA mismatch repair. *Cell Res.* 2008; 18: 85-98. Review.

- 52-Weaver R, Hedrick P. Mendelian Genetics. In: Genetics, W.C. Brown Publishers 1989; 14-18.
- 53-Zeynep Büşra AKSOY, Ege SOYDEMİR Polimorfizm. Güncel gastroenteroloji 21.03.2017.
- 54-Goode EL, Ulrich CM, Potter JD. Polymorphisms in DNA repair genes and associations with cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2002; 11: 1513-30.
- 55-Imyanitov E, Hanson K, Zhivotovsky B. Polymorphic variations in apoptotic genes and cancer predisposition. *Cell Death Differ.* 2005; 12: 1004-7.
- 56-Canbay E, Cakmakoglu B, Zeybek U, Sozen S, Cacina C, Gulluoglu M, et al. Association of APE1 and hOGG1 polymorphisms with colorectal cancer risk in a Turkish population. *Curr Med Res Opin.* 2011; 27: 1295-302. doi: 10.1185/03007995.2011.573544.
- 57-Hegde ML, Izumi T, Mitra S. Oxidized base damage and single-strand break repair in mammalian genomes: role of disordered regions and posttranslational modifications in early enzymes. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2012; 110: 123-53. doi: 10.1016/B978-0-12-387665-2.00006-7. Review
- 58-Tell G, Fantini D, Quadrifoglio F. Understanding different functions of mammalian AP endonuclease (APE1) as a promising tool for cancer treatment. *Cell Mol Life Sci.* 2010; 7: 3589-608. doi: 10.1007/s00018-010-0486-4. Review
- 59-Fouad H, Sabry D, Morsi H, Shehab H, Abuzaid NF. XRCC1 Gene Polymorphisms and miR-21 Expression in Patients with Colorectal Carcinoma. *Eurasian J Med.* 2017; 49: 132-136. doi: 10.5152/eurasianjmed.2017.17021
- 60-Patrono C, Sterpone S, Testa A, Cozzi R. Polymorphisms in base excision repair genes: Breast cancer risk and individual radiosensitivity. *World J Clin Oncol.* 2014; 5: 874-82. doi: 10.5306/wjco.v5.i5.874. Review.
- 61-Lunn RM, Langlois RG, Hsieh LL, Thompson CL, Bell DA. XRCC1 polymorphisms: effects on aflatoxin B1-DNA adducts and glycophorin A variant frequency. *Cancer Res.* 1999; 59: 2557-61.

62-Norjmaa B, Tulgaa K and Saitoh T. Base Excision Repair Pathway and Polymorphisms of XRCC1 Gene. *J Mol Pathol Epidemiol*. 2016, 1:1.

63-Sturgis EM, Castillo EJ, Li L, Zheng R, Eicher SA, Clayman GL, et al. Polymorphisms of DNA repair gene XRCC1 in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Carcinogenesis*. 1999; 20: 2125-9.

64-Kalikaki A, Kanaki M, Vassalou H, Souglakos J, Voutsina A, Georgoulas V, et al. DNA repair gene polymorphisms predict favorable clinical outcome in advanced non-small-cell lung cancer. *Clin Lung Cancer*. 2009; 10: 118-23. doi: 10.3816/CLC.2009.n.015

65-Xie XX, Ouyang SY, Jin HK, Wang H, Zhou JM, Hu BQ. Predictive value of Xrcc1 gene polymorphisms for side effects in patients undergoing whole breast radiotherapy: a meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2012; 13: 6121-8.

66-Thakur S, Sarkar B, Cholia RP, Gautam N, Dhiman M, Mantha AK. APE1/Ref-1 as an emerging therapeutic target for various human diseases: phytochemical modulation of its functions. *Exp Mol Med*. 2014; 46: e106. doi: 10.1038/emm.2014.42. Review.

67-Peng Q, Lu Y, Lao X, Chen Z, Li R, Sui J, Qin X, Li S. Association between OGG1 Ser326Cys and APEX1 Asp148Glu polymorphisms and breast cancer risk: a meta-analysis. *Diagn Pathol*. 2014; 9: 108. doi: 10.1186/1746-1596-9-108. Review

68-Demple B, Sung JS. Molecular and biological roles of Ape1 protein in mammalian base excision repair. *DNA Repair (Amst)*. 2005; 4: 1442-9. Review.

69-Izumi T, Hazra TK, Boldogh I, Tomkinson AE, Park MS, Ikeda S, et al. Requirement for human AP endonuclease 1 for repair of 3'-blocking damage at DNA single-strand breaks induced by reactive oxygen species. *Carcinogenesis*. 2000; 21: 1329-34.

70-Fortini P, Pascucci B, Parlanti E, D'Errico M, Simonelli V, Dogliotti E. The base excision repair: mechanisms and its relevance for cancer susceptibility. *Biochimie*. 2003; 85: 1053-71. Review.

71-Bhakat KK, Mantha AK, Mitra S. Transcriptional regulatory functions of mammalian AP-endonuclease (APE1/Ref-1), an essential multifunctional protein. *Antioxid Redox Signal*. 2009; 11: 621-38. doi: 10.1089/ARS.2008.2198. Review

72-Robson CN, Hochhauser D, Craig R, Rack K, Buckle VJ, Hickson ID. Structure of the human DNA repair gene HAP1 and its localisation to chromosome 14q 11.2-12. *Nucleic Acids Res.* 1992; 20: 4417-21

73-Evans AR, Limp-Foster M, Kelley MR. Going APE over ref-1. *Mutat Res.* 2000; 461: 83-108. Review.

74-Xi T, Jones IM, Mohrenweiser HW. Many amino acid substitution variants identified in DNA repair genes during human population screenings are predicted to impact protein function. *Genomics.* 2004; 83: 970-9.

75-Hadi MZ, Coleman MA, Fidelis K, Mohrenweiser HW, Wilson DM. Functional characterization of Ape1 variants identified in the human population. 3rd. *Nucleic Acids Res.* 2000; 28: 3871-9.

76-Gimisis T, Cismaş C. Isolation, Characterization, and Independent Synthesis of Guanine Oxidation Products. *Eur. J. Org. Chem.* 2006, 1351–1378. DOI: 10.1002/ejoc.200500

77-Yokuş B, Çakır DÜ. BIOMARKER OF INVIVO OXIDATIVE DNA DAMAGE; 8-HYDROXY-2'-DEOXYGUANOSINE. *Turkiye Klinikleri J Med Sci* 2002; 22: 535-43

78-Le Marchand L, Donlon T, Lum-Jones A, Seifried A, Wilkens LR. Association of the hOGG1 Ser326Cys polymorphism with lung cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2002; 11: 409-12. PMID: 11927502

79-Paz-Elizur T, Sevilya Z, Leitner-Dagan Y, Elinger D, Roisman LC, Livneh Z. DNA repair of oxidative DNA damage in human carcinogenesis: potential application for cancer risk assessment and prevention. *Cancer Lett.* 2008; 266: 60-72. doi: 10.1016/j.canlet.2008.02.032. Review.

80-Whitaker AM, Schaich MA, Smith MR, Flynn TS, Freudenthal BD. Base excision repair of oxidative DNA damage: from mechanism to disease. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2017; 22: 1493-1522. PMID: 28199214

81-Xu J, Zheng SL, Turner A, Isaacs SD, Wiley KE, Hawkins GA, et al. Associations between hOGG1 sequence variants and prostate cancer susceptibility. *Cancer Res.* 2002; 62: 2253-7

- 82-Monden Y, Arai T, Asano M, Ohtsuka E, Aburatani H, Nishimura S. Human MMH (OGG1) type 1a protein is a major enzyme for repair of 8-hydroxyguanine lesions in human cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999; 258: 605-10.
- 83-Karahalil B, Hogue BA, de Souza-Pinto NC, Bohr VA. Base excision repair capacity in mitochondria and nuclei: tissue-specific variations. *FASEB J.* 2002; 16: 1895-902.
- 84-Lu R, Nash HM, Verdine GL. A mammalian DNA repair enzyme that excises oxidatively damaged guanines maps to a locus frequently lost in lung cancer. *Curr Biol.* 1997; 7: 397-407.
- 85-Weiss JM, Goode EL, Ladiges WC, Ulrich CM. Polymorphic variation in hOGG1 and risk of cancer: a review of the functional and epidemiologic literature. *Mol Carcinog.* 2005; 42: 127-41. Review.
- 86-Radicella JP, Dherin C, Desmaze C, Fox MS, Boiteux S. Cloning and characterization of hOGG1, a human homolog of the OGG1 gene of *Saccharomyces cerevisiae*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997; 94: 8010-5
- 87-Sidorenko VS, Nevinsky GA, Zharkov DO. Mechanism of interaction between human 8-oxoguanine-DNA glycosylase and AP endonuclease. *DNA Repair (Amst).* 2007; 6: 317-28.
- 88-Pawlowska E, Janik-Papis K, Rydzanicz M, Zuk K, Kaczmarczyk D, Olszewski J, et al. The Cys326 allele of the 8-oxoguanine DNA N-glycosylase 1 gene as a risk factor in smoking- and drinking-associated larynx cancer. *Tohoku J Exp Med.* 2009; 219: 269-75.
- 89-Kohno T, Shinmura K, Tosaka M, Tani M, Kim SR, Sugimura H, et al. Genetic polymorphisms and alternative splicing of the hOGG1 gene, that is involved in the repair of 8-hydroxyguanine in damaged DNA. *Oncogene.* 1998; 16: 3219-25.
- 90-Elahi A, Zheng Z, Park J, Eyring K, McCaffrey T, Lazarus P. The human OGG1 DNA repair enzyme and its association with orolaryngeal cancer risk. *Carcinogenesis.* 2002; 23: 1229-1234.
- 91-Shinmura K, Kasai H, Sasaki A, Sugimura H, Yokota J. 8-hydroxyguanine (7,8-dihydro-8-oxoguanine) DNA glycosylase and AP lyase activities of hOGG1 protein and their substrate specificity. *Mutat Res.* 1997; 385: 75-82. PMID: 9372850

- 92-Dherin C, Radicella JP, Dizdaroglu M, Boiteux S. Excision of oxidatively damaged DNA bases by the human alpha-hOgg1 protein and the polymorphic alpha-hOgg1(Ser326Cys) protein which is frequently found in human populations. *Nucleic Acids Res.* 1999; 27: 4001-7
- 93-Janssen K, Schlink K, Gotte W, Hippler B, Kaina B, Oesch F. DNA repair activity of 8-oxoguanine DNA glycosylase 1 (OGG1) in human lymphocytes is not dependent on genetic polymorphism Ser326/Cys326. *Mutat Res.* 2001; 486: 207-16.
- 94-Smart DJ, Chipman JK, Hodges NJ. Activity of OGG1 variants in the repair of pro-oxidant-induced 8-oxo-2'-deoxyguanosine. *DNA Repair (Amst).* 2006; 5: 1337-45.
- 95-Yamane A, Kohno T, Ito K, Sunaga N, Aoki K, Yoshimura K ve ark. Differential ability of polymorphic OGG1 proteins to suppress mutagenesis induced by 8-hydroxyguanine in human cell in vivo. *Carcinogenesis.* 2004; 25: 1689-94.
- 96-Collins AR, Gaivao I. DNA base excision repair as a biomarker in molecular epidemiology studies. *Mol Aspects Med.* 2007; 28: 307-22. Review.
- 97-Vogel U, Olsen A, Wallin H, Overvad K, Tjønneland A, Nexø BA. No association between OGG1 Ser326Cys and risk of basal cell carcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2004; 13: 1680-1.
- 98-Hashimoto T, Uchida K, Okayama N, Imai Y, Suehiro Y, Hamanaka Y, et al. Interaction of OGG1 Ser326Cys polymorphism with cigarette smoking in head and neck squamous cell carcinoma. *Mol Carcinog.* 2006; 45: 344-8
- 99-Choi JY, Hamajima N, Tajima K, Yoo KY, Yoon KS, Park SK, et al. hOGG1 Ser326Cys polymorphism and breast cancer risk among Asian women. *Breast Cancer Res Treat.* 2003; 79: 59-62.
- 100-Zhang Y, Newcomb PA, Egan KM, Titus-Ernstoff L, Chanock S, Welch R ve ark. Genetic polymorphisms in base-excision repair pathway genes and risk of breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2006; 15: 353-8.
- 101-Tsukino H, Hanaoka T, Otani T, Iwasaki M, Kobayashi M, Hara M ve ark. hOGG1 Ser326Cys polymorphism, interaction with environmental exposures, and gastric cancer risk in Japanese populations. *Cancer Sci.* 2004; 95: 977-83

102-Ramaniuk VP1, Nikitchenko NV, Savina NV, Kuzhir TD, Rolevich AI, Krasny SA ve ark. Polymorphism of DNA repair genes OGG1, XRCC1, XPD and ERCC6 in bladder cancer in Belarus Biomarkers. 2014; 19: 509-16. doi: 10.3109/1354750X.2014.943291.

103-Jiao X, Huang J, Wu S, Lv M, Hu Y, Jianfu ve ark. hOGG1 Ser326Cys polymorphism and susceptibility to gallbladder cancer in a Chinese population. Int J Cancer. 2007; 121: 501-5.

104-Zhao H, Qin C, Yan F, Wu B, Cao Q, Wang M ve ark. hOGG1 Ser326Cys polymorphism and renal cell carcinoma risk in a Chinese population. DNA Cell Biol. 2011; 30: 317-21. doi: 10.1089/dna.2010.1135.

105-Karahalil B, Kocabas NA, Ozçelik T. DNA repair gene polymorphisms and bladder cancer susceptibility in a Turkish population. Anticancer Res. 2006; 26: 4955-8.

106-Karahalil B, Bohr VA, Wilson DM 3rd. Impact of DNA polymorphisms in key DNA base excision repair proteins on cancer risk. Hum Exp Toxicol. 2012; 31: 981-1005. doi: 10.1177/0960327112444476. Review.

107-Gossage L, Perry C, Abbotts R, Madhusudan S. Base excisionrepair factors are promising prognostic and predictive markers in cancer. Curr Mol Pharmacol. 2012; 5: 115-24. Review.

108-Erlich, H.A. PCR technology, molecular biology and biotechnology. Robert A. Meyers. (Eds) VCH publishers USA, 641-648.

109-Lewin B. Restriction sites can be used as genetic markers. In: Genes IV, Oxford University Press USA 1994; 134-142

110-Başaran N. Tıbbi Genetik Ders Kitabı, 7. Baskı. Güneş ve Nobel Tıp Kitabevleri, Bursa 1999; 10-12.

111-Ljungberg B, Campbell SC, Choi HY, Jacqmin D, Lee JE, Weikert S, et al. The epidemiology of renal cell carcinoma. Eur Urol. 2011; 60: 615-21. doi: 10.1016/j.eururo.2011.06.049. Review.

112-Beebe-Dimmer JL, Colt JS, Ruterbusch JJ, Keele GR, Purdue MP, Wacholder S ve ark. Body mass index and renal cell cancer: the influence of race and sex. *Epidemiology*. 2012; 23: 821-8. doi: 10.1097/EDE.0b013e31826b7fe9

113-Linehan WM, Srinivasan R, Schmidt LS. The genetic basis of kidney cancer: a metabolic disease. *nNat Rev Urol*. 2010 ; 7: 277-85. doi: 10.1038/nrurol.2010.47. Review

114-Kroeger N, Klatte T, Birkhäuser FD, Rampersaud EN, Seligson DB, Zomorodian N, et al. Smoking negatively impacts renal cell carcinoma overall and cancer-specific survival. *Cancer*. 2012; 118: 1795-802. doi: 10.1002/cncr.26453.

115-Yao T, Wang Q, Zhang W, Bian A, Zhang J. Identification of genes associated with renal cell carcinoma using gene expression profiling analysis. *Oncol Lett*. 2016; 12: 73-78.

116-Khanna KK, Jackson SP. DNA double-strand breaks: signaling, repair and the cancer connection. *Nat Genet*. 2001; 27: 247-54. Review.

117-De Bont R, van Larebeke N. Endogenous DNA damage in humans: a review of quantitative data *Mutagenesis*. 2004; 19: 169-85. Review.

118-Ciccia A, Elledge SJ. The DNA damage response: making it safe to play with knives. *Mol Cell*. 2010; 40: 179-204. doi: 10.1016/j.molcel.2010.09.019. Review.

119-Jeppesen DK, Bohr VA, Stevnsner T. DNA repair deficiency in neurodegeneration. *Prog Neurobiol*. 2011; 94: 166-200. doi: 10.1016/j.pneurobio.2011.04.013. Review.

120-Sherman MH, Bassing CH, Teitell MA. Regulation of cell differentiation by the DNA damage response. *Trends Cell Biol*. 2011; 21: 312-9. doi: 10.1016/j.tcb.2011.01.004. Review

121-Slupphaug G, Kavli B, Krokan HE. The interacting pathways for prevention and repair of oxidative DNA damage. *Mutat Res*. 2003; 531: 231-51. Review.

122-Morita R, Nakane S, Shimada A, Inoue M, Iino H, Wakamatsu T, et al. Molecular mechanisms of the whole DNA repair system: a comparison of bacterial and eukaryotic systems. *J Nucleic Acids*. 2010; 2010: 179594. doi: 10.4061/2010/179594.

123-Marsden CG, Dragon JA, Wallace SS, Sweasy JB. Base Excision Repair Variants in Cancer. *Methods Enzymol*. 2017; 591: 119-157. doi: 10.1016/bs.mie.2017.03.003.

124-Yu SN, Liu GF, Li XF, Fu BH, Dong LX, Zhang SH. Evaluation of Prediction of Polymorphisms of DNA Repair Genes on the Efficacy of Platinum-Based Chemotherapy in Patients With Non-Small Cell Lung Cancer: A Network Meta-Analysis. *J Cell Biochem.* 2017; 118: 4782-4791. doi: 10.1002/jcb.26147.

125-Guan Q, Chen Z, Chen Q, Zhi X. XRCC1 and XPD polymorphisms and their relation to the clinical course in hepatocarcinoma patients. *Oncol Lett.* 2017; 14: 2783-2788. doi: 10.3892/ol.2017.6522.

126-Liu XC, Guo XH, Chen B, Li ZH, Liu XF. Association between the 8-oxoguanine DNA glycosylase gene Ser326Cys polymorphism and age-related cataract: a systematic review and meta-analysis. *Int Ophthalmol.* 2017. doi: 10.1007/s10792-017-0606-3.

127-Hu JJ, Mohrenweiser HW, Bell DA, Leadon SA, Miller MS. Symposium overview: genetic polymorphisms in DNA repair and cancer risk. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2002; 185: 64-73.

128-Shen MR, Jones IM, Mohrenweiser H. Nonconservative amino acid substitution variants exist at polymorphic frequency in DNA repair genes in healthy humans. *Cancer Res.* 1998; 58: 604-8.

129-Wang L, Xu J, Duan B. Association between polymorphisms in DNA repair gene XRCC1 and non-melanoma skin cancer risk: a meta-analysis. *Onco Targets Ther.* 2017; 10: 3475-3483. doi: 10.2147/OTT.S133978.

130-Farkasova T, Gurska S, Witkovsky V, Gabelova A. Significance of amino acid substitution variants of DNA repair genes in radiosusceptibility of cervical cancer patients; a pilot study. *Neoplasma.* 2008; 55: 330-7.

131-Lai CY, Hsieh LL, Tang R, Santella RM, Chang-Chieh CR, Yeh CC. Association between polymorphisms of APE1 and OGG1 and risk of colorectal cancer in Taiwan. *World J Gastroenterol.* 2016; 22: 3372-80. doi: 10.3748/wjg.v22.i12.3372.

132-Nash RA, Caldecott KW, Barnes DE, Lindahl T. XRCC1 protein interacts with one of two distinct forms of DNA ligase III. *Biochemistry.* 1997; 36: 5207-11.

133-Masson M, Niedergang C, Schreiber V, Muller S, Menissier-de Murcia J, de Murcia G. XRCC1 is specifically associated with poly(ADP-ribose) polymerase and negatively regulates its activity following DNA damage. *Mol Cell Biol.* 1998; 18: 3563-71.

134-Duell EJ, Holly EA, Bracci PM, Wiencke JK, Kelsey KT. A population based study of the Arg 399 Gln polymorphism in XRCC1 and risk of pancreatic adenocarcinoma. *Cancer Res.* 2002; 62: 4630-6.

135-Park JY, Lee SY, Jeon HS, Bae NC, Chae SC, Joo S, Kim CH, Park JH, Kam S, Kim IS, Jung TH. Polymorphism of the DNA repair gene XRCC1 and risk of primary lung cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2002; 11: 23-7.

136-Jelonek K, Gdowicz-Klosok A, Pietrowska M, Borkowska M, Korfanty J, Rzeszowska-Wolny J, et al. Association between single-nucleotide polymorphisms of selected genes involved in the response to DNA damage and risk of colon, head and neck, and breast cancers in a Polish population. *J Appl Genet.* 2010; 51: 343-52. doi: 10.1007/BF03208865.

137-Yan J, Wang X, Tao H, Deng Z, Yang W, Lin F. Meta-Analysis of the Relationship between XRCC1-Arg399Gln and Arg280His Polymorphisms and the Risk of Prostate Cancer. *Sci Rep.* 2015; 5: 9905. doi: 10.1038/srep09905.

138-Engin AB, Karahalil B, Karakaya AE, Engin A. *Arh Hig Rada Toksikol.* Association between XRCC1 Arg399Gln and P53 Afs72Pro polymorphisms and the risk of gastric and colorectal cancer in Turkish population. 2011; 62: 207-14. doi: 10.2478/10004-1254-62-2011-2098.

139-Halim NH, Chong ET, Goh LP, Chuah JA, See EU, Chua KH, Lee PC. Variant Alleles in XRCC1 Arg194Trp and Arg399Gln Polymorphisms Increase Risk of Gastrointestinal Cancer in Sabah, North Borneo. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2016; 17: 1925-31.

140-Yang HY, Yang SY, Shao FY, Wang HY, Wang YD. Updated assessment of the association of the XRCC1 Arg399Gln polymorphism with lung cancer risk in the Chinese population. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2015; 16: 495-500

141-Narter KF, Ergen A, Agaçhan B, Görmüs U, Timirci O, Isbir T. Bladder cancer and polymorphisms of DNA repair genes (XRCC1, XRCC3, XPD, XPG, APE1, hOGG1). *Anticancer Res.* 2009; 29: 1389-93

142-Improta G, Sgambato A, Bianchino G, Zupa A, Grieco V, La Torre G, et al. Polymorphisms of the DNA repair genes XRCC1 and XRCC3 and risk of lung and colorectal cancer: a case-control study in a Southern Italian population. *Anticancer Res.* 2008; 28: 2941-6

143-Metsola K, Kataja V, Sillanpää P, Siivola P, Heikinheimo L, Eskelinen M, Kosma VM, Uusitupa M, Hirvonen A. XRCC1 and XPD genetic polymorphisms, smoking and breast cancer risk in a Finnish case-control study. *Breast Cancer Res.* 2005; 7: R987-97

144-Ito H, Matsuo K, Hamajima N, Mitsudomi T, Sugiura T, Saito T, et al. Gene-environment interactions between the smoking habit and polymorphisms in the DNA repair genes, APE1 Asp148Glu and XRCC1 Arg399Gln, in Japanese lung cancer risk. *Carcinogenesis.* 2004; 25: 1395-401.

145-Arizono K, Osada Y, Kuroda Y. DNA repair gene hOGG1 codon 326 and XRCC1 codon 399 polymorphisms and bladder cancer risk in a Japanese population. *Jpn J Clin Oncol.* 2008; 38: 186-91. doi: 10.1093/jjco/hym176.

146-Zhang SH, Wang LA, Li Z, Peng Y, Cun YP, Dai N et al. APE1 polymorphisms are associated with colorectal cancer susceptibility in Chinese Hans. *World J Gastroenterol.* 2014; 20: 8700-8. doi: 10.3748/wjg.v20.i26.8700

147-Natukula K, Jamil K, Pingali UR, Attili VS, Madireddy UR. The codon 399 Arg/Gln XRCC1 polymorphism is associated with lung cancer in Indians. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2013; 14: 5275-9.

148-Sakano S, Hinoda Y, Okayama N, Kawai Y, Korenaga Y, Eguchi S, et al. The association of DNA repair gene polymorphisms with the development and progression of renal cell carcinoma. *Ann Oncol.* 2007; 18: 1817-27.

149-Au WW, Salama SA, Sierra-Torres CH. Functional characterization of polymorphisms in DNA repair genes using cytogenetic challenge assays. *Environ. Health Perspect.* 2003; 111: 1843-50

150-Zhang X, Xin X, Zhang J, Li J, Chen B, Zou W. Apurinic/aprimidinic endonuclease 1 polymorphisms are associated with ovarian cancer susceptibility in a Chinese population. *Int J Gynecol Cancer.* 2013; 23: 1393-9. doi: 10.1097/IGC.0b013e3182a33f07

151-Gangwar R, Ahirwar D, Mandhani A, Mittal RD. Influence of XPD and APE1 DNA repair gene polymorphism on bladder cancer susceptibility in north India. *Urology*. 2009; 73: 675-80. doi: 10.1016/j.urology.2008.09.043.

152-Li H, Zou J, Mi J, Wei X, Zhao D, Zhang S, et al. Association of APE1 Gene Asp148Glu Variant with Digestive Cancer: A Meta-Analysis. *Med Sci Monit*. 2015; 21: 2456-66. doi: 10.12659/MSM.893954

153-Chen Y, Li J, Mo Z. Association between the APEX1 Asp148Glu polymorphism and prostate cancer, especially among Asians: a new evidence-based analysis *Oncotarget*. 2016; 7: 52530-52540. doi: 10.18632/oncotarget.9693. Review.

154-Zhou X, Wei L, Jiao G, Gao W, Ying M, Wang N, et al. The association between the APE1 Asp148Glu polymorphism and prostate cancer susceptibility: a meta-analysis based on case-control studies. *Mol Genet Genomics*. 2015; 290: 281-8. doi: 10.1007/s00438-014-0916-3.

155-Dai ZJ, Shao YP, Kang HF, Tang W, Xu D, Zhao Y, et al. Relationship between apurinic endonuclease 1 Asp148Glu polymorphism and gastrointestinal cancer risk: An updated meta-analysis. *World J Gastroenterol*. 2015; 21: 5081-9. doi: 10.3748/wjg.v21.i16.5081. Review.

156-Cai L, Fu Y, Zhang Y. APE1 Asp148Glu polymorphism and lung cancer susceptibility. *Tumour Biol*. 2014; 35: 5237-44. doi: 10.1007/s13277-014-1681-y.

157-Li X, Wei J, Xu P, Yin X, Hu D, Zhang X, et al. The interaction of APEX1 variant with polycyclic aromatic hydrocarbons on increasing chromosome damage and lung cancer risk among male Chinese. *Mol Carcinog*. 2015; 54: E103-11. doi: 10.1002/mc.22195.

158-Xu Z, Yu L, Zhang X. Association between the hOGG1 Ser326Cys polymorphism and lung cancer susceptibility: a meta-analysis based on 22,475 subjects. *Diagn Pathol*. 2013 23; 8: 144. doi: 10.1186/1746-1596-8-144. Review.

159-Vogel U, Nexø BA, Olsen A, Wallin H, Overvad K, Tjønneland A, et al. No Association Between Base Excision Repair Gene Polymorphisms and Risk of Lung Cancer. *Biochemical Genetics* 2004; 42: 453-460.

160-Sorensen M, Ole R, HANSEN RD, Jonneland AT, Overvad K, Vogel U. Interactions between the OGG1 Ser326Cys polymorphism and intake of fruit and vegetables in relation to lung cancer. *Free Radical Research* 2006; 40: 885-891.

161-Gu D, Wang M, Zhang Z, Chen J. Lack of association between the hOGG1 Ser326Cys polymorphism and breast cancer risk: evidence from 11 case-control studies. *Breast Cancer Res Treat.* 2010; 122: 527-31. doi: 10.1007/s10549-009-0723-4.

162-Hu WG, Pan RJ, Cai W, Wang ZT, Zhu ZG. Lack of association between the hOGG1 gene Ser326Cys polymorphism and gastric cancer risk: evidence from a case-control study and a meta-analysis. *Genet Mol Res.* 2015; 14: 14670-9. doi: 10.4238/2015.

163-Wenjuan C, Jianzhong L, Chong L, Yanjun G, Keqing L, Hanzhang W, et al. The hOGG1 Ser326Cys gene polymorphism and susceptibility for bladder cancer: a meta-analysis. *Int Braz J Urol.* 2016; 42: 883-896. doi: 10.1590/S1677-5538.IBJU.2015.0446.

7. ÖZGEÇMİŞ

A.KİŞİSEL BİLGİLER

Doğum Tarihi ve Yeri: 11.03.1987, Azerbaycan

Uyruğu: YABANCI

Medeni Hali: Evli

Tel: 0(212) 4142000-33224-32353

E-mail: parvana.mikailova@gmail.com

B. EĞİTİM, MESLEKİ VE AKADEMİK DENEYİMLER

Tıpta Uzmanlık Eğitimi: İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya ABD, 2013-2018

Lisans: Azerbaycan Tıp Üniversitesi, Bakü, 2005-2011

Uluslararası Yayınlar:

1. Aydın AF, Mikailova P, Omer B, Genc S. Evaluation of High Performance Liquid Chromatography and Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Methods for 25 (OH) D3 Assay. . Clin Lab. 2016;62:1017-1022.