



**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**BAZAL HÜCRELİ KARSİNOMDA BÜYÜME
İNHİBE EDİCİ FAKTÖR-2'NİN (ING-2)
FONKSİYONLARININ
ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Metin TEMEL

PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ

ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Yard. Doç. Dr. Arif TÜRKMEN

TEMMUZ – 2011

T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

BAZAL HÜCRELİ KARSİNOMDA BÜYÜME
İNHİBE EDİCİ FAKTÖR-2'NİN (ING-2)
FONKSİYONLARININ
ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

Dr. Metin TEMEL
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ
ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Yard. Doç. Dr. Arif TÜRKMEN

TEZ ONAY SAYFASI

**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ
ANABİLİM DALI**

**BAZAL HÜCRELİ KARSİNOMDA BÜYÜME İNHİBE EDİCİ
FAKTÖR-2'NİN (ING-2) FONKSİYONLARININ
ARAŞTIRILMASI**

Dr. Metin TEMEL

TARİH: 28.07.2011

Tıp Fakültesi Dekanlığı Onayı:

Prof.Dr. Abdurrahman KADAYIFÇI
Tıp Fakültesi Dekanı

Bu tez çalışmasının “Tıpta Uzmanlık” derecesine uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

Prof.Dr. Mehmet MUTAF
Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımdan okunmuş ve her yönü ile “Tıpta Uzmanlık” tezi olarak uygun ve yeterli bulunmuştur.

Tez Danışmanı:
Yard. Doç. Dr. Arif TÜRKMEN
Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi
Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

TEZ JÜRİSİ:

İMZA

1. Prof.Dr. Avni GÖKALP (Genel Cerrahi A.B.D.)
2. Prof.Dr. Mehmet MUTAF (Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi A.B.D.)
3. Prof.Dr. Bülent Hayri ÖZOKUTAN (Çocuk Cerrahi A.B.D.)
4. Prof.Dr. Mehmet SUBAŞI (Ortopedi ve Travmatoloji A.B.D.)
5. Yard. Doç. Dr. Arif TÜRKMEN (Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi A.B.D.)

I. ÖNSÖZ

Tüm ihtisasım süresince olduğu gibi, bitirme tezimde de değerli bilgileri ile bana yön veren sayın hocalarım Prof. Dr. Mehmet MUTAF, Doç. Dr. Mehmet BEKEREÇİOĞLU, Yard. Doç. Dr. Arif TÜRKMEN başta olmak üzere, Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Yard. Doç. Dr. Beyhan CENGİZ, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı öğretim üyesi Yard. Doç. Dr. Serdar ÖZTUZCU, Arş. Gör. Bülent GÖĞEBAKAN'a ve Patoloji laboratuvarında çalışmalarına destek olan Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın Prof. Dr. İbrahim SARI'ya ve bu çalışmanın başından sonuna kadar yanımda olup yardım eden Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı'ndaki tüm mesai arkadaşlarıma, yardımcı sağlık personellerine teşekkür ederim.

Bu zorlu dönemde varlıkları ile beni hayata bağlayan çocuklarım Murat Kağan, Ömer ve eşim Sevinç'i sevgi ile kucaklıyorum.

Daima yanımda olup beni destekleyen fedakâr anne ve babama minnettarlığımı belirterek sonsuz saygılarımı sunarım.

Dr. Metin TEMEL

Gaziantep, 2011

II. İÇİNDEKİLER

I. ÖNSÖZ	I
II. İÇİNDEKİLER	II
III ÖZET	V
IV. ABSTRACT	VI
V. KISALTMALAR	VII
VI. TABLO LİSTESİ	VII
VII. ŞEKİL LİSTESİ	IX
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1.Deri Kanserleri	4
2.1.1. Bazal Hücreli Karsinom	4
2.1.1.1.Tanım	4
2.1.1.2.Tarihçe, İnsidans ve Epidemiyoloji	4
2.1.1.3.Bazal Hücreli Karsinomun Etiyolojisi	5
2.1.1.4.Bazal Hücreli Karsinomun Patogenezi	7
2.1.1.4.Bazal Hücreli Karsinomun Klinik Özellikleri	14
2.1.1.5.Bazal Hücreli Karsinomun Klinik Tipleri	15
2.1.1.6. Tanı	17
2.1.1.7. Bazal Hücreli Karsinomun Histopatolojik Alt Tipleri	17
2.1.1.8.Biyolojik Davranış	19

2.1.1.9.Tedavi	21
2.1.1.10.Takip	22
2.1.1.11.Prognoz	23
2.2. Normal H ücrelerde Hücre Siklusu	23
2.3. ING (Inhibitor of Growth) Genlerinin Genel Özellikleri	25
2.3.1. ING Proteinlerinin Yapısal Özellikleri ve Fonksiyonları	29
2.3.2 ING 1 ve Fonksiyonları	31
2.3.3. ING 2 ve Fonksiyonları	34
2.3.4. ING 3 ve Fonksiyonları	38
2.3.5. ING 4 ve Fonksiyonları	39
2.3.5. ING 5 ve Fonksiyonları	41
3. GEREÇ VE YÖNTEM	42
3.1.Çalışmaya Dahil Edilen Hastalar ve Örnek Alımı	42
3.2.Cerrahi Uygulamalar	43
3.3.Genetik-Moleküler Analizler	43
3.3.Genetik-Moleküler Analizler	43
3.3.1.Dokudan RNA Elde Edilmesi	44
3.3.2.cDNA Sentezi	44
3.3.3.Real Time PCR ile ING2 Gen İfadesinin Tespiti	45
3.4. Sonuçların Değerlendirilmesi	45
3.4.1. Klinik Değerlendirme	46

3.4.1.2.Histopatolojik Değerlendirme	49
3.4.1.3. İstatistiksel Değerlendirme	46
4.BULGULAR	47
4.1. Klinik Bulgular	47
4.2. Histopatolojik Bulgular	48
4.3.Genetik-Moleküler Analiz Bulguları	50
4.4.İstatistiksel Bulgular	55
5. TARTIŞMA	57
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	60
7. KAYNAKLAR	61

III. ÖZET

BAZAL HÜCRELİ KARSİNOMDA BÜYÜME İNHİBE EDİCİ FAKTÖR- 2'NİN (ING-2) FONKSİYONLARININ ARAŞTIRILMASI

Dr. Metin TEMEL

Uzmanlık Tezi, Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Yard. Doç. Dr. Arif TÜRKMEN

Temmuz 2011, 81 sayfa

Tümör süpressör genlerin tanımlanmasında kullanılan çift vuruş hipotezinden yola çıkılarak bazal hücreli karsinomada (BCC) yapılan LOH (loss of heterozygosity) analizi sonucunda kromozom 4q22-35'daki delesyon miktarının yüksek çıkması bu bölgedeki genlerden bir tanesinin aday tümör süpressör gen olduğunu göstermekteydi.

ING2, ING gen ailesinin bir üyesi olup DNA tamiri, hücre bölünmesi ve apoptoziste görev almaktadır. BCC'lerde bu genin fonksiyonunu anlamak için bu genin normal ve tümörlü dokulardaki m-RNA ekspresyon miktarları kıyaslandı.

Sonuç olarak, tümörlü dokulardaki ING2 geninin m-RNA ekspresyonunun normal dokulara kıyasla azalmış olması ING2 geninin BCC'ler için tümör süpressör gen olduğuna işaret etmektedir.

Anahtar Kelimeler: ING Gen Ailesi, BCC, Tümör Süpressör Genler, Deri Kanseri, UV Işın

IV. ABSTRACT

INVESTIGATION OF GROWTH INHIBITING FACTOR-2 FUNCTIONS IN BASAL CELL CARCINOMA

Metin TEMEL MD.

Residency Thesis, Department of Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery

Supervisor: Associated. Prof. Dr. Arif TÜRKMEN

July 2011, 81 pages

Based on double hit hypothesis used for describing tumor supressor genes, LOH (loss of heterozygosity) analysis on basal cell carcinomas (BCC) pointed out an increase in chromosome 4q22-35 deletion, which shows that one of the genes at this locus is a candidate tumor supressor gene.

ING-2 is a member of ING gene family and functions in DNA repair, cell division and apoptosis. In order to determine the function of this gene in basal cell carcinoma, the m-RNA expressions among normal and tumoral tissues were compared.

As a result, the decreased expression of m-RNA of ING-2 gene in tumoral tissues compared to that of normal tissues suggests that ING-2 gene is a tumor supressor gene for BCC.

Key words: ING Gene Family, Basal Cell Carcinomas, Tumor Supressor Genes, Skin Cancer, UV Radiation.

V. KISALTMALAR

TBG: Tümör baskılayıcı gen

SCC: Skuamoz cell carcinoma

BCC: Bazal cell carcinoma

UV: Ultraviyole ışını

HPV: İnsan papillom virüsü

PTCH: Patched gen

ING: Inhibitor of growth

AIDS: Edinsel immün yetmezlik sendromu

PUVA: Psörolen ultraviyole A

DNA: Deoksiribo nükleik asit

SMO: Smoothened

SHH: Sonic hedgehog

Gli: Glioblastoma

TBF- β : Transforme edici büyüme faktörü- β

Nf-Kb: Nükleer faktör kappa-b

PHD: Plant homeo domain

NCR: Novel conserved region

LZL: Leucine zipper-like

HIF: Hipoksi ile indüklenebilen faktör yolağı

NER: Nucleotide excision repair

HE: Hematoksilen eozin

SD: Standart sapma

VI. TABLO LİSTESİ

Tablo Adı	Sayfa No
Tablo 1: Fitzpatrick Deri Fototipi Sınıflaması	6
Tablo 2: cDNA Sentezi Karışımı	44
Tablo 3. ING2 Primer Dizisi	45
Tablo 4. ING2/ β -Aktin RT-PCR Şartları	45
Tablo 5: Tümörlerin Yerleşim Yerleri	47
Tablo 6: Hastaların Demografik Özellikleri, Defekt Kapatım Yöntemleri ve Tanıları	49
Tablo7: Hastaların Genetik Analiz Sonuçları	51
Tablo 8: Tümörlü Dokulardaki Sonuçlar	53
Tablo 9: Normal Dokulardaki Sonuçlar	54
Tablo10: Verilerin Norma Dağılım Analiz Tablosu	56
Tablo11: Verilerin İstatistiksel Analiz Tablosu	56

VII. ŞEKİL LİSTESİ

Şekil Adı	Sayfa No
Şekil 1: Ultraviyole Işığın Dalga Boylar	5
Şekil 2: Kanseri Genleri ile Tümör Baskılayıcı Genlerin Denge Hali	8
Şekil 3: İki Vuruş Hipotezi	9
Şekil 4: ING Genleri ile Tümör Süpressör Genler Arasındaki Bağlantılar	14
Şekil 5: Hücre Siklusu Aşamaları	24
Şekil 6: p53'ün DNA Hasarına Yanıt Olarak Hücre Siklusunu Durdurması	25
Şekil 7: ING Genlerinin Yapısı	27
Şekil 8: ING2 Gen Haritası	38
Şekil 9: Tümörlerin Yerleşim Yerleri	47
Şekil 10: Oluşan Defektlerin Kapatımında Kullanılan Cerrahi Yöntemler	48
Şekil 11: Lezyonların Histopatolojik Karakteristikleri	48
Şekil 12. Real Time RT PCR ile ING2 Gen İfadesinin Tespiti	50
Şekil 13. Real Time RT PCR ile Beta Aktin Gen İfadesinin Tespiti.	50
Şekil 14: Tümörlü ve Normal Dokularda ING2 mRNA Kopya Sayıları	50

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kanser çok nedenli genetik bir hastalıktır. Yapılan birçok çalışma göstermiştir ki normal hücre bir denge içerisindeydir. Bu denge kanser genleri (onkogen) ile tümör baskılayıcı genler (TBG) arasındadır. Ne zamanki bir etken sonucu TBG ve onkogenlerde meydana gelen genetik dengesizlik sonucunda kanser meydana gelmektedir (1).

Deri kanseri insanda en sık görülen malignitelerden olup, Sağlık Bakanlığı verilerine göre, Türkiye'de görülen kanser türleri arasında deri kanseri üçüncü sıradadır. Deri kanserlerinin erkeklerde %18.45 oranı ile yine üçüncü sırada iken kadınlarda ise %14.86 ile ikinci sırada bulunmaktadır (2). Benzer biyolojik davranışları nedeniyle deri kanserleri melanomalar ve melanom dışı deri kanserleri olarak iki gruba ayrılmaktadır. Melanom dışı kanserler ise yassı hücreli karsinom (SCC) ve bazal hücreli karsinom (BCC) olarak iki alt gruba ayrılabilir. En sık görülen deri kanseri BCC, ikinci sıklıkta SCC, daha nadir olarak ise malign melanom görülmektedir.

BCC tüm deri malignitelerinin yaklaşık %90'ını oluşturur (3) ve baş boyun deri kanserlerinin yaklaşık %90'ını oluşturmaktadır. BCC'ler en yaygın görülen kutanöz tümörler olup, düşük mortalite hızlarına rağmen önemli bir halk sağlığı problemi oluşturmaktadır (4) ve yapılan çalışmalarda görülme sıklığının zaman içerisinde artış gösterdiğine dikkat çekmektedir (3). BCC'lerin epidermisin bazal tabakası ve/veya kıl follikülü gibi bölgelerden köken aldığına dair değişik görüşler bulunmaktadır (5). Ultraviyole ışınlarının (UV) birikici etkisinin BCC gelişiminde en önemli etken olduğu kabul edilir. Diğer nedensel faktörler iyonizan radyasyon, kimyasal karsinojenler, p53 gen mutasyonu, ileri yaş, kronik unstabil skar ya da ülserler, genetik sendromlar (bazal hücreli nevüs sendromu, kseroderma pigmentosa, bazex sendromu) ve olası Human Papilloma Virüs (HPV) enfeksiyonudur. BCC'nin çeşitli klinik tipleri mevcut olup farklı biyolojik davranışlar gösterirler. En sık karşılaşılan tipler arasında nodüler, yüzeysel yayılan, infiltratif, ülseronodüler ve ülseroinfiltratif olanlar sayılabilir. BCC birçok farklı morfolojik özellik sergiler. Bu özellikleri doğrultusunda çok sayıda histopatolojik subtip tanımlanmıştır (6). Literatürde

belirli histolojik subtiplerin agresif davranış sergileme ve rekürens için önemli risk taşıdığını gösteren çalışmalar mevcuttur (7). Ancak histopatolojik subtip de tümörlerin davranışlarını belirlemede yetersiz kalmakta, prognozu önceden tahmin etmek için ek bulgulara gereksinim duyulmaktadır (8). Bunun için tümörlerin ve tümör hücrelerinin karakteristiklerini yansıtabilecek çeşitli histokimyasal, immünohistokimyasal ve morfolometrik parametrelere başvurulmuştur (9,10).

BCC'nin tedavisinde temel yaklaşım cerrahi yöntem ile lezyonun tamamının eksizyonudur; postoperatif dönemde prognozu genellikle iyidir (9). Genel olarak çok düşük rekürens ve çok nadir metastaz yapma potansiyeline sahiptir. Agresif özellikte olanları ise lokal doku harabiyeti, şekil bozukluğu yanı sıra yüksek rekürens ve sonunda ölüme bile neden olabilmektedir (11).

Günümüz modern dünyasının en önemli sağlık problemi olarak kabul edilen kanser üzerinde yapılan birçok çalışma sonucunda geliştirilen teknikler sayesinde tedaviye ve kanser sebeplerine yönelik bazı gelişmeler sağlanmaktadır. Özellikle kanserli hastalardaki mikro genetik kayıplarla, kanser arasındaki ilişkinin varlığını saptamıştır (12). Bugün geniş çapta kabul gördüğü üzere 'hedge-hog' sinyal yolağında meydana gelen değişiklikler bazal hücreli karsinom gelişimine neden olan en önemli faktördür. Bu sinyal yolağı, başta Patched geni (PTCH) olmak üzere birçok gen tarafından düzenlenmekte ve hücre bölünmesini kontrol etmektedir (11). Sironi ve ark. (1) yaptığı bir çalışmada BCC'de UV'nin indüklediği mutasyonlar sonucu p53 geninde oluşan mutasyonlara bağlı olarak kromozom 9q22 de allelik kayıplar sonucu Patched genlerde (PTCH) inaktivasyon geliştiği ve bunun BCC gelişiminden sorumlulu ana genetik mekanizma olduğu belirtilmiştir. Nevroid bazal hücreli karsinom sendromundan sorumlu olduğu bilinen PTCH genindeki mutasyonlar sporadik bazal hücreli karsinom olgularında da bildirilmiştir (6). PTCH genindeki mutasyon sonucunda bu genin mRNA ekspresyonundaki azalmaya bağlı olarak, BCC gelişiminde rol oynayabilen transkripsiyon faktör Gli-I'in birikmesine neden olur (13). Sporadik olgularda bcl-2 ilişkili X protein geninde (BAX) bir mutasyon da saptanmıştır (14). Bazal hücreli karsinomlarda PTCH gen değişimlerine ek olarak p53 gen mutasyonları sıklıkla bulunduğu gibi bazı popülasyonlarda HLA-DR4 ve HLA-DR7 ilişkisi de bildirilmiştir (15).

Deri kanserlerinde yapılmış olan mikrolezyon analizlerinde özellikle kromozom 1p, 2q, 3p, 4q, 7q, 8p, 10p, 12p,13q, 17p ve 22q da yüksek oranda mikrolezyon bulunmuştur

(3). Bu bölgelerde bulunan Inhibition of Growth (ING) gibi bazı tümör baskılayıcı genlerin de bulunduğu görülmektedir (16-20).

ING gen ailesi üyelerinin, hücre içersindeki görevleri hücre bölünmesinin kontrol edilmesi ve gereken durumlarda apoptosize gitmesini sağlayan yolakların aktif hale gelmesinin sağlanmasıdır. Bu yolaklardan bir tanesi de p53 geninde içinde olduğu yolaktır (20). Deri kanserlerinde yapılan mikrodelesyon çalışmalarında, kromozom 17q13 bölgesindeki kayıplar gösterilmiştir. Yapılan pek çok çalışmada, p53 geni ile deri kanserleri arasındaki ilişkinin varlığı bilinmektedir (21). ING ailesi genleri ile birçok kanser arasında direk bir ilişki bulunduğu, daha sonra yapılan çalışmalarda ispatlanmıştır. Bu kanserlere örnek verecek olursak; baş ve boyun kanserleri, melanoma, akciğer kanserleri, lenfomalar, göğüs kanserleri, kolon kanseri ve hatta mesane kanserleri (16,22-28).

Bu çalışma Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Kliniği'ne vücudunda iyileşmeyen kronik yara şikayeti ile başvuran ve BCC ön tanısı ile tedavisi esnasında eksizyon yapılarak patolojik olarak tanısının BCC olduğu doğrulanan 26 hasta dâhil edildi. 26 hastanın tümör içeren ve makroskopik olarak sağlam kabul edilen derilerinden 0.5cm³' lük doku örnekleri alınarak sağlam ve tümörlü olan dokulardaki ING-2 geninin ekspresyonuna bakılarak BCC'deki ING2'nin fonksiyonları incelendi. Ayrıca hastaları yaşı, cinsiyeti, tümörün yerleşim yerleri, oluşan defektin kapatılmasında kullanılan yöntem, nüks veya rekürren tümör olup olmadığı gibi özellikleri incelendi.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.DERİ KANSERLERİ

Deri kanseri insanda en sık görülen malignitelerden olup, insidansı beyaz ırkta siyah ırka göre daha fazladır ve dünyada yılda 700.000 yeni olguyla karşılaşılmaktadır (29). Deri kanserlerinin %77'si BCC, %20'si SCC ve %3'ü melanoma ve diğer nadir görülen deri kanserleridir (7). BCC ve SCC'yi içeren epidermisin malign tümörleri, tüm deri malignitelerinin yaklaşık %90'ını oluşturur.

2.1.1. BAZAL HÜCRELİ KARSİNOM

2.1.1.1.Tanım

Bazal hücreli kanser epidermisin bazal hücrelerinden veya kıl follikülünün dış kök kılıfından geliştiği düşünülen malign bir neoplazidir (30). Sıklıkla kronik olarak güneşe maruz kalan bölgelerde görülür. BCC'ler stromaya bağımlıdır ve bu stromal bağımlılık bu tümörlerin düşük metastaz insidansının en olası sebebidir (6). (metastaz insidansı %0.1) Embriyonik bileşim planları BCC penetrasyonuna daha yatkındır, bu nedenle bu bölgelerde mevcut lezyonların daha geniş eksize edilmesi gerekmektedir. Tümör penetrasyonunda retiküler dermis bariyer görevi görür. Perinöral ya da perivasküler yayılımlar oldukça nadirdir, görüldüklerinde invaziv tümör göstergesi olarak kabul edilirler. Ancak yetersiz tedavi edilir ya da tedavisi ihmal edilirse geniş lokal destrüksiyon yapabilmektedir (31).

2.1.1.2.Tarihçe, İnsidans ve Epidemiyoloji

İlk defa 1827 yılında Dublin' de Jacob adlı araştırmacı tarafından yavaş destrüksiyon gösteren ve eradikasyonu zor olan bu lezyona "rodent ülser" adını vermiştir. Bazal hücreli karsinomu ilk kez 1903 yılında Krompecher tanımlamış ve bu tümörü epidermisin bazal hücrelerinin karsinomu olarak nitelemiştir (32).

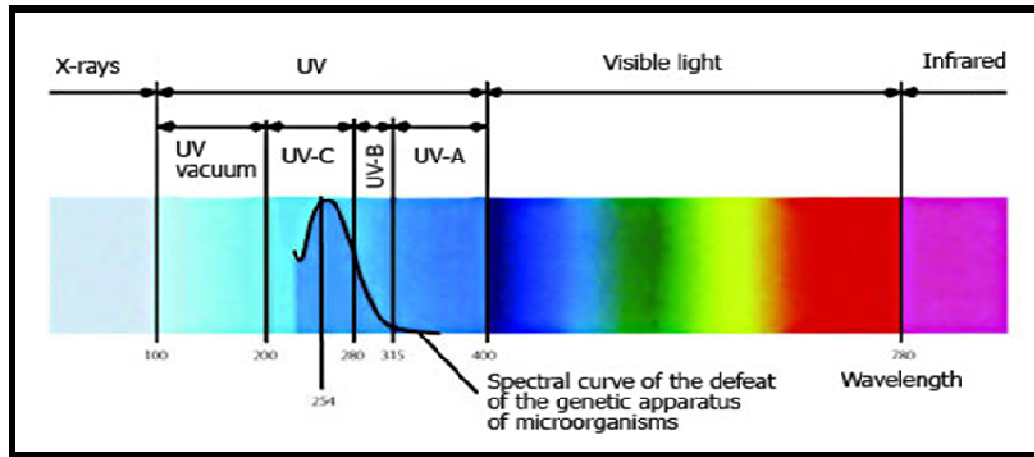
BCC, diğer deri tümörleri ile karşılaştırıldığında düşük mortalite hızlarına rağmen önemli bir halk sağlığı problemi oluşturmaktadır. Bazal hücreli kanser insidansının son üç dekada tüm dünya çapında % 20–80 oranında arttığı tahmin edilmektedir (33) ve her geçen yıl

insidansı ve mortalitesi artış göstermektedir. Bunun nedeninin bilinçsiz güneşlenme, ozon tabakasının incilmesi ve yaşam süresinin uzaması olabileceği düşünülmektedir. BCC görülme sıklığı yaşlı bireylerde belirgin bir artış gösterir (3). Erkeklerde kadınlara göre biraz daha sık görülmektedir (34).

2.1.1.3. Bazal Hücreli Karsinomun Etiyolojisi

Bazal hücreli karsinomlar her ne kadar belirli bir neden bulunmazken gelişebilirse de bazı predispozan faktörden söz edilebilir.

1. **Ultraviyole ışımına maruziyet:** BCC patogenezinde en sık UV rol alır (35). UV bandı A (315-400nm), B (290-315nm), C (1-290nm) olmak üzere 3 kısımdan oluşmuştur. (Şekil 1)



Şekil 1: Ultraviyole Işığın Dalga Boyları

Güneşin UV ışınlarının %95'i dünyaya UVA olarak ulaşır. Kalan %5'lik kısım ise UVB olarak ulaşır. Ultraviyole B, eritem (güneş yanığı), deri kanseri gelişimi ve bağışıklık sisteminin baskılanmasından sorumludur (36). Ultraviyole A (UVA) (320-400 nm) deri yaşlanmasından sorumludur ve yakın zamanda UVB ile birlikte hayvanlar ve bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda deri kanserleri gelişiminde de rol oynadığı öne sürülmüştür. UVA ışınları UVB'nin karsinojenik etkilerini artırır. Tümörün gelişimi için 20-30 yıl güneşin birikici etkisine uğramış olmak gereklidir (31).

2. **Deri tipi:** BCC açısından yüksek risk grubunu açık tenli, kızıl-sarı renk saç, açık renk gözlü ve kuru cilt özelliği olan bireyler oluşturmaktadır. En fazla risk altındaki hastalar

Fitzpatrick sınıflamasına göre Tip 1 ve 2' ye uyan, güneş yanığı öyküsü bulunan hastalardır (37). (Tablo1)

Tablo 1: Fitzpatrick Deri Fototipi Sınıflaması

DERİ FOTOTİPLERİNİN SINIFLAMASI		
	Koruyucusuz 30 dk. Güneş Maruziyetine Reaksiyon	Deri Rengi
I	Her zaman yanarlar, asla bronzlaşmazlar	Soluk beyaz
II	Kolayca yanarlar, zor bronzlaşırlar	Soluk beyaz
III	İlk güneş yanığından sonra bronzlaşırlar	Beyaz
IV	Kolayca bronzlaşır, asla yanmaz	Açık kahverengi
V	Kolayca bronzlaşır, asla yanmaz	Kahverengi
VI	Kolayca bronzlaşır, asla yanmaz	Koyu kahverengi

3. **İleri Yaş:** BCC sıklıkla ileri yaş grubu hastalarda görülmekle birlikte son yıllarda popüleritesi artan güneşlenme alışkanlığına bağlı genç yaş grubunda da görülmeye başlanmıştır. 40 yaşın altındaki hastaların çoğu kadınlardır (31).

4. Erkek cinsiyet

5. **Yanık:** Vezikülasyona yol açan özellikle çocukluk ve ergenlik döneminde gelişen güneş yanığı sayısı önem arz etmektedir.

6. Ailede deri kanseri öyküsünün bulunması

7. İyonize radyasyon (X ışınlarına maruziyet) (13)

8. **Arsenik, katran türevlerine maruziyet:** Uzun süren inorganik arsenik intoksikasyonunun neden olduğu deri karsinomlarının çoğu SCC'dir. Ancak nadiren de olsa başta süperfisiyel BCC olmak üzere BCC'ye de neden olabilir (6).

9. **Bağışıklık sisteminin baskılandığı durumlar:** Bağışıklık sisteminin deri kanseri patogeneziindeki rolü tam olarak anlaşılamamıştır. BCC, immünoşüpresyon amacıyla uzun süre ve yüksek doz steroid vb ilaçların kullanımı, renal transplant uygulanan hastalarda ve malign lenfoma veya lösemi ve AIDS ilişkili kompleks (38) gibi diğer immünoşüpresyon durumlarında da gözlenebilir. Bu durumlarda tümörler daha saldırgan davranış sergiler. Myeloproliferatif hastalıklarda uzun süreli "hidroksiüre" tedavisi

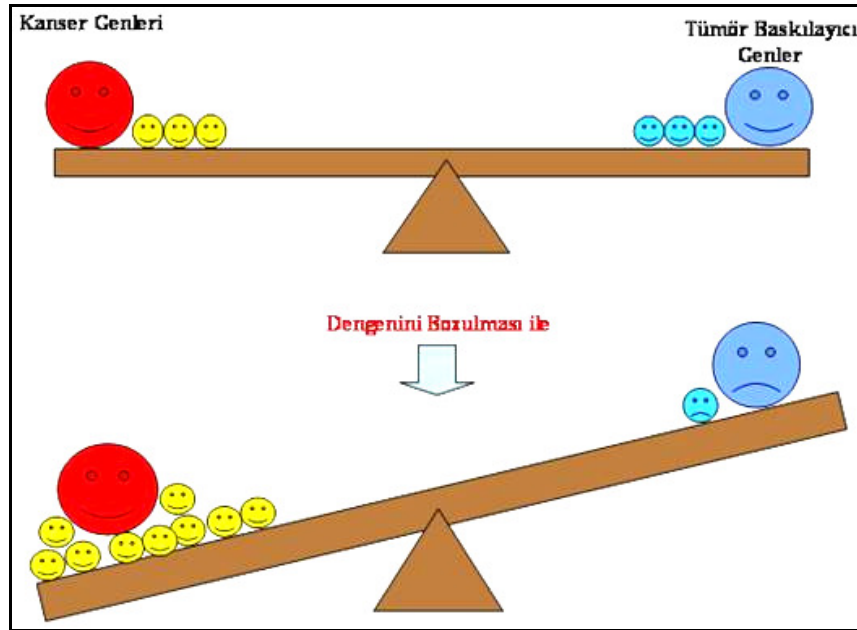
sonrasında da bazal hücreli karsinomların gözlendiği bildirilmiştir (39). Bu hastalarda metastatik BCC çoklu infundibulokistik BCC ve skar üzerinde agresif morfeiform tip BCC dahil daha agresif BCC'ler daha sık bildirilmektedir (40).

10. Diğer nadir görülen nedenler:

- a. Yoğun fotokemoterapi (41)**
- b. PUVA tedavisi:** Psöriazisli hastalarda PUVA tedavisini takiben BCC gelişebilir. (11)
- c. HPV enfeksiyonu(6)**
- d. Bacaklardaki staz dermatiti (6)**
- e. Tütün kullanımı (3)**
- f. Genodermatozlar**
- g. Nevosellüler nevüsler:** Kadınlarda, bazal hücreli karsinom gelişme riski nevosellüler nevüslerin sayısı ile ilişki gösterir (6)
- h. Jadassohn'un nevüs sebaseumu**
- i. Gorlin Sendromu (Bazal Cell Nevüs Sendromu, NBHKS),**
- j. Bazex Sendromu,**
- k. Xeroderma Pigmentosum,**
- l. Rombo Sendromu,**
- m. Albinizm, (6)**

2.1.1.4.Bazal Hücreli Karsinomun Patogenezi

Normal hücre bir denge içerisinde. Bu denge kanser genleri (onkogen) ile TBG arasındadır. Ne zamanki bir etken sonucu tümör baskılayıcı veya kanser genlerinde meydana gelen genetik dengesizlik sonucunda kanser meydana gelmektedir (1)(Şekil 2).



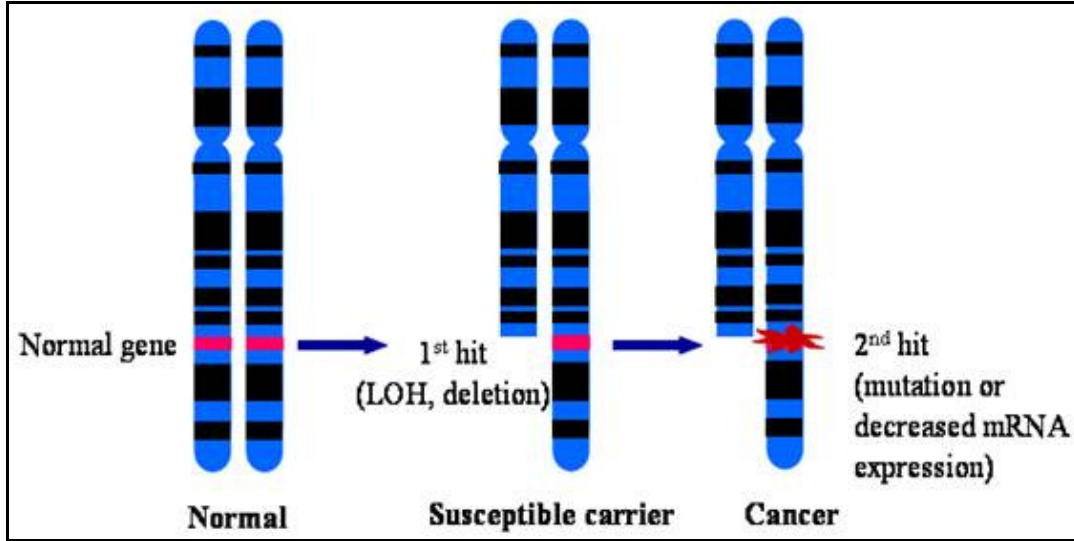
Şekil 2: Kanser genleri ile Tümör Baskılayıcı Genler bir denge içerisinde. Bu denge bozulması sonucunda kanser gelişmektedir.

Başlangıçta hücre döngüsünü düzenleyen genlerde mutasyonlar sonucu genomik yapı mutasyona uğrar. Daha sonra hücre içi ortamda değişiklik olur ve son olarak genetik değişikliklerle malign transformasyon tamamlanır. UV radyasyon maruziyeti TBG’lerde mutasyonlara yol açmaktadır. Hücre büyümesi, farklılaşması ve çoğalmasında rolü olan proto-onkogenlerde meydana gelen mutasyonlar tümör gelişimine, TBG’lerde meydana gelen mutasyonlar ise hücre siklusunun inhibisyonunu engelleyerek anormal hücre büyümesine neden olur.

Hücre homeostasis; hücre çoğalması, büyümenin durdurulması ve apoptozis (programlı hücre ölümü) ile sürdürülmektedir. Hücre büyümesi ve ölüm arasındaki dengenin bozulması hiperplazi veya neoplaziye neden olur (42). Pozitif veya negatif uyarılar genetik lezyona yatkın hücrelerde, malign çoğalmaya neden olabilir. Programlı hücre ölümü apoptozisin normal hücre döngüsünde ve fizyolojik süreçlerde ve mutant hücre çoğalmasını önleyen önemli bir yoldur. Hücre siklusu ve apoptoziste çok sayıda protein ikili rol oynar.

Çevresel faktörlerle meydana gelen DNA hasarı hücre siklus kontrol mekanizmalarının bozulmasına neden olur. Pek çok kanser tipinde hücre siklus kontrol noktalarında mutasyonlar belirlenmiştir. Büyümenin durdurulması, DNA onarımı ve apoptozis'in engellenmesi kanser gelişiminde kritik yolaklardır. TBG’lerde mutasyonlar hasarlı hücrelerin hücre sikluslarının ilerlemesine ve tümör gelişimine neden olur.

1971 yılında A. Knudson, retina blastoma (RB) üzerine yapmış olduğu istatistiksel bir çalışma ile ilk kez "Two-Hit" (iki vuruş) hipotezini ortaya koymuştur. Özellikle kanserli hastalardaki mikro genetik kayıplar ile kanser arasındaki ilişkinin varlığını saptamıştır (12). (Şekil 3).



Şekil 3: İki Vuruş Hipotezi A) Normal insan kromozom yapısını göstermektedir. Pembe ile işaretli kısım TBG bölgesini ifade etmektedir. B) Birinci vuruş ile kromozom örneklerinden bir tanesini q kolu üzerinde meydana gelen mikrodelesyon ile hasta yalnızca kanser olmaya aday veya yatkınlığı artmıştır. C) Ne zaman ki bu bölgedeki TBG üzerinde bir mutasyon meydana gelir hasta artık kanser olmuştur.

Özellikle yaşamın erken dönemlerindeki kısa sürelerde, aralıklı UV maruziyeti, kümülatif yaşam boyu maruziyete göre BCC riskini daha çok artırmaktadır (36). DNA onarım mekanizması sağlam bireylerdeki deri kanserlerinde bu mutasyonlar %30-60 oranında görülürken, DNA onarım mekanizması bozuk olan Kseroderma Pigmentozum (KP) hastalarındaki kanserlerde bu mutasyonların oranı %50-80'e çıkmaktadır (43). UV ışınları DNA hasarı yaratır, ancak bu hasar hücrel tamir mekanizmaları ile düzeltilir. Özellikle UVB'ye maruziyet DNA'da komşu primidinler arasında kovalent bağlar oluşmasını indükleyerek 6-4 primidin primidon fotoürünleri veya siklobütan dimerleri oluşumuna yol açmaktadır (44). Birçok vakada diprimidin sırasında görülen C→T tek baz veya CC→TT ikili transition (dönüşüm) mutasyonları 'UVB signature (imza)' mutasyonları olarak adlandırılır. Bu mutasyonlar, güneşe maruz kalan vücut bölgelerindeki deri kanserlerinde ras onkogeni, p53 ve PTCH TBG gibi çeşitli genlerde gösterilmiştir (43). UVB'den farklı olarak UVA, DNA üzerine reaktif oksijen ürünleri yoluyla daha dolaylı bir etkiye sahiptir. Ayrıca, UV'nin deri üzerinde bölgesel bağışıklık sistemi baskılayıcı etkisi, tümöre karşı

oluşan bağışıklık cevabını ortadan kaldırarak, tümör hücrelerinin yok edilmesini engelliyor olabilir (35).

p53 genin hücre hasarındaki görevleri DNA onarımı, hücre döngüsü durması ve apoptozdur. 1979 yılında SV40 virüsünün büyük T antijeni ile eş zamanlı çöken protein olarak bulunmuştur (45) Bir TBG olan p53, 17p13.1 kromozomu üzerinde lokalize olup 20 kb boyutunda ve 11 ekzon içerir (46). p53 proteini 53 kDa ağırlığında, nükleus yerleşimli ve DNA'ya bağlanan bir transkripsiyon faktörüdür. p53 proteini karmaşık etkinliklere sahip ve hücre döngüsünü düzenleyen bir transkripsiyon faktörüdür. p53 proteini hücre büyümesinin durdurulması, kanserin baskılanması, mutant hücre çoğalmasına karşı genomun korunması, programlanmış hücre ölümü, hücre farklılaşması ve DNA tamir mekanizmasının başlatılmasında da rol alır. DNA hasarı, hipoksi, onkogen aktivasyonu, mutajenik kimyasallar ve UV radyasyonuna maruz kalınması gibi strese neden olan birçok duruma yanıt olarak fosforilasyon ve asetilasyon yoluyla aktive olur (47) ve primer fonksiyonu p21, GADD45, BAX, MDM2, IGF-BP3 ve siklin G gibi genlerin transkripsiyonunu düzenleyerek hücre yaşam döngüsü kontrolü ile G₁ fazının durmasına ve ve kromozomal stabilitenin sürdürülmesinde ve DNA onarımında ve DNA'sı onarılamayacak derecede hasara uğrayan hücrelerde ise apoptozun başlamasında görev alır. p53 proteininin aktivasyon derecesi başlıca protein fonksiyonunu ve protein stabilitesini etkileyen posttranslasyonel protein modifikasyonları ile düzenlenir (48).

P53 gen mutasyonları BCC'li hastalarda %33-56 oranlarında gösterilmiştir (44) ve mutasyonların %65-72'si UV radyasyon imzasını (işaretini) taşımaktadır (49). UV bu gende mutasyona neden olursa malign değişiklik kaçınılmazdır. BCC' li hastaların %56' sında p53 supressor genlerinde hasar gösterilmiştir. Bugün geniş çapta kabul gördüğü üzere 'hedge-hog' sinyal yolağında meydana gelen değişiklikler BCC gelişimine neden olan en önemli faktördür. Bu sinyal yolağı, başta PTCH olmak üzere birçok gen tarafından düzenlenmekte ve hücre bölünmesini kontrol etmektedir (5). p53'ün homozigot kaybında DNA hasarı onarılamaz, bölünen hücrelerde mutasyonlar kalıcı hal alır ve hücre tek yönlü olarak malign transformasyona doğru ilerler p53 geni bazal hücreli karsinom indüksiyonu için UV'nin başlıca hedefidir (50). UV, pirimidin dimerleri oluşmasına ve heterozigozite kaybına neden olur. İki de TBG olan P53 ve PTCH'de oluşan heterozigozite kaybı bazal hücreli karsinoma yol açmaktadır (49). P53'de heterozigozite kaybı, seçilmiş tetranükleotid

tekrarlarında artmış mikrosatellit instabilitesi ile ilişkilidir (3). PTCH genlerinde 9q22'deki heterozigozite kaybı melanom dışı deri kanserlerine neden olur (11). P53 ve PTCH için mutasyon tipleri başlıca UV etkisiyle oluşan, dipirimidin alanlarında C->T ve CC->TT transizyonlarıdır (49). Bazal hücreli karsinomlar rasGTPaz aktivasyon proteinine neden olan anlam değiştiren ("missense") mutasyonlara sahiptir (3).

Sironi ve ark. (1) yaptığı bir çalışmada BCC'de UV'nin indüklediği mutasyonlar sonucu p53 geninde oluşan mutasyonlara bağlı olarak kromozom 9q22 de allelik kayıplar sonucu PTCH genlerde inaktivasyon geliştiği ve bunun BCC gelişiminden sorumlu ana genetik mekanizma olduğu belirtilmiştir. Nevoid bazal hücreli karsinom sendromundan sorumlu olduğu bilinen PTCH genindeki mutasyonlar sporadik BCC olgularında da bildirilmiştir (6). PTCH genindeki mutasyon sonucunda bu genin mRNA ekspresyonundaki azalmaya bağlı olarak, bazal hücreli karsinom gelişiminde rol oynayabilen transkripsiyon faktör Gli-1'in birikmesine neden olur (13). Sporadik olgularda Bax geninde (bcl-2 ilişkili X protein) bir mutasyon da saptanmıştır (14). Bazal hücreli karsinomlarda PTCH gen değişimlerine ek olarak p53 gen mutasyonları sıklıkla bulunduğu gibi bazı popülasyonlarda HLA-DR4 ve HLA- DR7 ilişkisi de bildirilmiştir (15).

Bir TBG olan PTCH, kromozom 9q22.3'e lokalizedir ve büyümeyi uyaran Sonic Hedgehog (SHH) ileti yolağının regülasyonunda anahtar rol oynamaktadır (13). Hedgehog ileti yolağının tanımlanması BCC etyopatogenezinin anlaşılmasında çok önemli bir adım olmuştur. PTCH geninin ürünü olan PTCH proteini plazma membranının fosfolipid tabakası içinde yerleşmiştir ve SHH proteini için bir transmembran reseptör olarak görev almaktadır (51). Hedgehog sinyali yokluğunda PTCH proteininin normal fonksiyonu Smoothened (SMO) olarak adlandırılan ikinci bir transmembran proteinine bağlanarak bu proteini inhibe etmektir (13). SHH sinyal proteininin PTCH proteinine bağlanması sonrası SMO proteininin PTCH proteini tarafından inhibisyonu ortadan kalkar ve SMO proteini serbest kalır (52). PTCH gen mutasyonları, SMO proteinine bağlanamayan veya inaktive edemeyen proteinlerin oluşumuna yol açar ve sonuç olarak SHH proteininin bağlanması olmaksızın SMO protein ekspresyonu artar (13). SMO proteini, PTCH proteinine bağlanmadığında glioblastoma (Gli)-1 ve (Gli)-2 sinyal proteinlerinin ekspresyonunu arttıran sinyal iletilici olarak davranır. Gli-1 proteini, transforme edici büyüme faktörü- β (TGF- β) ekspresyonunu arttırarak fibroblast proliferasyonuna ve bunlar tarafından

metalloproteinazların artmış ekspresyonu da bazal membran materyalinin çözünmesine yol açar. Gli-2 protein ürünü kromozom 18'e, Bcl-2 proteininin ekspresyonunu arttırmak üzere bağlanır. Bcl-2, hücre ömrünü arttırmaya yardımcı olan, apoptozisi inhibe eden bir proteindir. Gli-2 proteini artışının, Bcl-2 geninin aktivasyonu yolu ile BCC'nin başlangıcında önemli rol oynuyor olabileceği öne sürülmüştür. Bcl-2'nin ekspresyonunun sporadik tip BCC'lerde arttığını gösteren çalışmaların yanında, semikantitatif analizlerle, BCC'nin yavaş büyüyen formlarında Bcl-2'nin öncelikli aşırı ekspresyonunu gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (13,53). Kıl follikülü ve interfolliküler epidermisin progenitor epitelinin Bcl-2 tarafından ölümsüzleştirilmesinin, UV ışığı tarafından sonraki mutajenik hasarlara yatkınlığı arttırabileceği öne sürülmüştür. Sporadik BCC'lerin %12-38'inde PTCH mutasyonları, %6-13'ünde SMO mutasyonları ve %1'den fazlasında SHH mutasyonları saptanmıştır (54).

Reifenberger ve ark.'nın (44) yaptıkları bir başka çalışmada, sporadik BCC'lerin 2/3'sinde PTCH mutasyonları bulunduğu gösterilmiştir. BCC patogeneğinde SHH proto-onkogen gibi görünmektedir ve PTCH TBG olarak davranmaktadır (13). BCC oluşumunda "Hedgehog" (HH) yolağı regülasyon bozukluğunun erken bir olay olduğunu gösteren en önemli kanıtlar in vivo hayvan modellerinden gelmektedir (52). Hayvan modellerinde, derisinde SHH'yi aşırı eksprese eden transgenik kobayda, HRAS ve P53 gibi diğer genlerde mutasyon olmaksızın, haftalar içinde BCC'den ayırt edilemeyen tümörler geliştiği gösterilmiştir. Bu delillerin ışığında, HH yolağı tek başına direkt olarak normal keratinositlerden hızlıca BCC oluşturabilmektedir. Bu da melanom ve SCC'nin aksine BCC'nin niçin öncül lezyon olmaksızın geliştiğini açıklamaktadır (13,52).

Ras sinyal yolağı ile ilişkili genlerde mutasyonlar, kutanöz SCC ve melanom dahil çeşitli kanserlerin patogeneğinde önemli rol oynamaktadır. BCC'de RAS gen mutasyonlarının önemi daha belirsizdir. Bazı çalışmalarda BCC'lerin %30'a varan kısmında RAS geni mutasyonları bildirilirken, bazılarında vakaların çok az bir kısmında mutasyon saptanmış veya hiç saptanmamıştır (44).

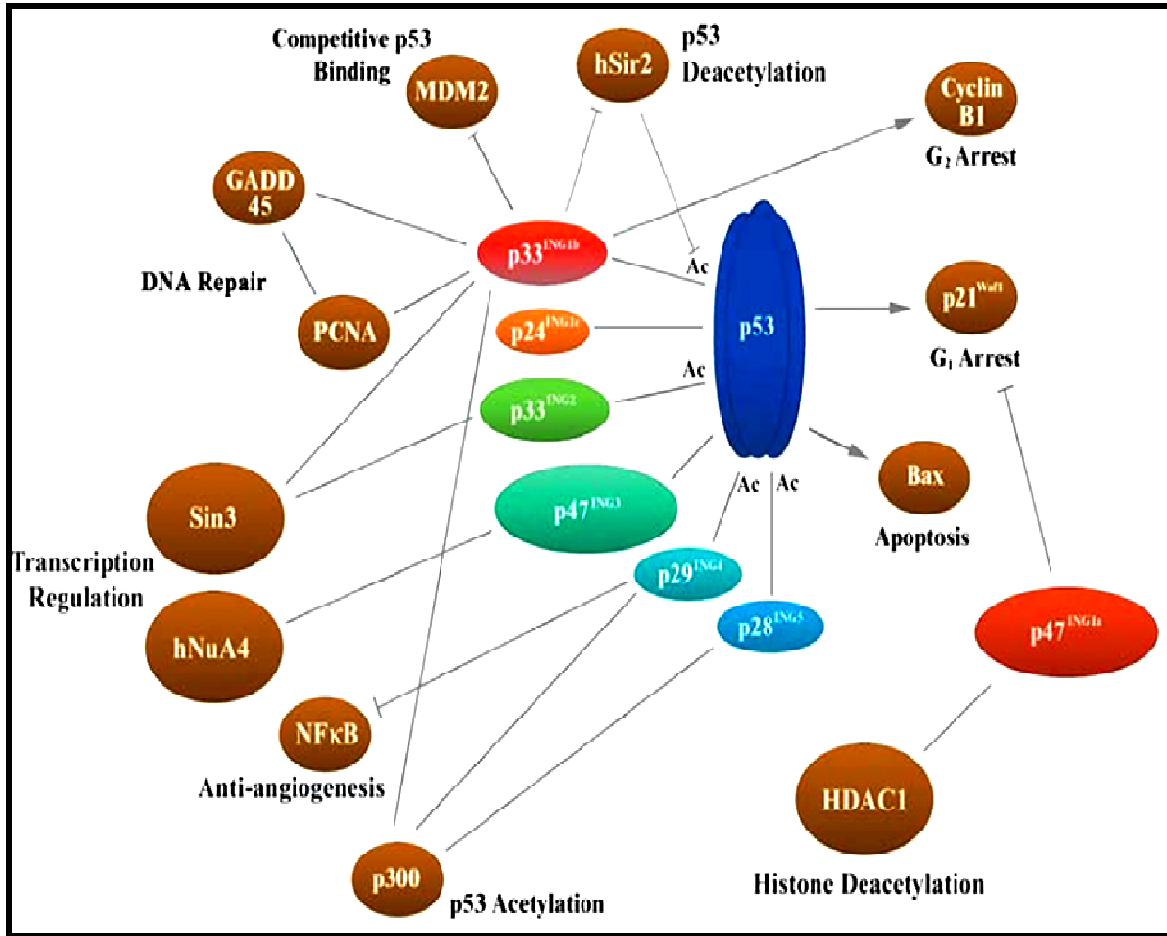
Multipl BCC gelişimi genellikle kalıtsal bazı hastalıklarla ilişkilidir. BCC'ye yatkınlığı arttıran kalıtsal hastalıklar arasında nevoid bazal hücreli karsinoma sendromu (NBHKS), Bazex sendromu, Rombo sendromu, unilateral bazal hücreli nevus sendromu yer almaktadır. NBHKS (Gorlin sendromu), olgularda son yıllarda yapılan çalışmalar bu

hastalarda bir tümör baskılayıcı gen olan PTCH geninde mutasyon olduğunu göstermektedir. Aynı gendeki mutasyonlar, sporadik BCC'lerde de tanımlanmıştır. Lineer Unilateral Bazal Hücreli Nevus Sendromu PTCH gendeki mutasyonlar, NBHKS'li vakalar dışında sporadik BCC'lerde de tanımlanmıştır (13,44,52,54).

Deri kanserlerinde yapılmış olan mikrodelesyon analizlerinde özellikle kromozom 1p, 2q, 3p, 4q, 7q, 8p, 10p, 12p,13q, 17p ve 22q da yüksek oranda mikrodelesyon bulunmuştur. Bu bölgelerde bulunan bazı tümör baskılayıcı genlerin de bulunduğu görülmektedir. Örneğin 2q37 bölgesinde ING5, 4q24 bölgesinde ING2, 7q31 bölgesinde ING3, 12q13 bölgesine ING4, 13q33-34 bölgesinde ING1 geni ve 17p bölgesinde p53 geni bulunduğu bilinmektedir. Bu genler daha önce de baş boyun kanserlerinde tümör baskılayıcı genler olarak tanımlanmıştır (17-20).

Inhibition of Growth (ING) gen ailesi üyelerinin, hücre içersindeki görevleri hücre bölünmesinin kontrol edilmesi ve gereken durumlarda apoptosize gitmesini sağlayan yolakların aktif hale gelmesinde görevlidir. Bu yolaklardan bir tanesi de p53 geninde içinde olduğu yolaktır (20). Deri kanserlerinde yapılan mikrodelesyon çalışmalarında, kromozom 17q13 bölgesindeki kayıplar gösterilmiştir. Yapılan pek çok çalışmada, p53 geni ile deri kanserleri arasındaki ilişkinin varlığı bilinmektedir (21). 2000 yılında Gündüz ve ark.'ları (16); baş boyun kanserinde kromozom kayıplarını incelerken, kromozom 13q33-34 bölgesindeki kayıp oranlarını yüksek buldular. Bu bölgede yaptıkları araştırma sonucunda, ING1 geninin baş boyun kanserlerinde tümör baskılayıcı gen olduğunu tespit ettiler. 2002 yılında Gündüz ve ark.'ları (16) yapmış oldukları yeni bir çalışma ile, kromozom 7q31 bölgesindeki mikrokayıp sıklığının fazla olduğunu tespit etmişlerdir. Bu bölgede yaptıkları çalışma sonucunda, ING1 ile aynı işlevsel bölgeleri taşıyan bir gen olan ING3 ile baş boyun kanserleri arasındaki ilişkinin varlığını ortaya koymuşlardır. Gündüz ve ark.'ları (19), kromozom 12p13 lokusunda yaptıkları inceleme sonucunda, baş boyun kanserlerinde mikrokayıp sıklığının oranını yüksek bulmuşlardır. Bu bölge incelendiğinde; bu bölgede bulunan ING4 ile baş boyun kanserleri arasında bir ilişki olduğu bulunmuştur. 2007 yılında Cengiz ve ark.'nın (20) yaptığı bir çalışmada; kromozom 2q37.3 lokusunda ağız karsinomlarında mikrokayıp sıklığının yüksek olduğu gösterilmiştir. Bu bölge üzerinde yaptıkları ayrıntılı başka bir çalışmada ING gen ailesi üyelerinden bir tanesi olan ING5 geni, göstermiş olduğu mutasyonlar ve mRNA kayıpları ile kanserde, tümör baskılayıcı göreve

sahip olduğu ortaya konmuştur. 2009 yılında Borkosky ve ark.'larının yapmış oldukları bir çalışmada (17); baş boyun kanserli 80 hastada ING2 genine özel yapılmış olan mikrostalite marker'da mikrokayıp oranı yüksek bulunmuştur (Şekil 4).



Şekil 4: ING Genleri ile TBG'ler Arasındaki Bağlantılar

2.1.1.4. Bazal Hücreli Karsinomun Klinik Özellikleri

Bazal hücreli karsinomlar genellikle erkeklerde daha sık gözlenir. Primer BCC baş-boyun bölgesinde %86 oranında görülürken, gövde ve ekstremitelerde bu oran %7 civarındadır. Baş-boyunda en sık bulunduğu yerler; burun (%25.5), yanak (%16), periorbital alan (%14), skalp (%11), periauriküler alan (%11)'dir (31). Bununla birlikte daha korunmalı bölgeler olan postauriküler, nazolabiyal ve iç kantal bölgede de yerleşim görülmektedir.

Bazal hücreli karsinom saptanan olguların yaklaşık %40'ında 10 yıl içerisinde bir veya daha fazla BCC gelişmesi beklenir (41).

2.1.1.5.Bazal Hücreli Karsinomun Klinik tipleri

Bazal hücreli karsinomların başlıca beş klinik tipi tanımlanmıştır: (6)

(a) *Rodent ülseri de içeren nodüloülseratif bazal hücreli karsinom:* En sık görülen BCC tipidir. Sıklıkla yüzeyinde az sayıda küçük telenjektatik damarların gözlendiği küçük, mumsu görünümde bir nodül olarak ortaya çıkar. Nodülün boyutu genellikle yavaşça artar ve sıklıkla merkezi ülserasyona uğrar. Bundan sonra tipik lezyon soluk, yuvarlak sınırlar tarafından çevrelenen yavaş büyüyen ülser şeklini alır. Bu durum rodent ülser olarak da tanımlanır (5). Rodent ülserlerin çoğu kısıtlı büyüme potansiyeline sahip olmakla birlikte, nadiren infiltratif ve agresif davranış göstererek büyük boyutlara ulaşabilir ve derin dokulara invazyon gösterebilir. BCC'nin yayılmasında kollajenaz da büyük rol oynar. Nodüler BCC'ler sadece Tip 1 kollajenaz üretirken, agresif BCC'ler Tip 4 kollajenaz üretirler. Yüz bölgesinde, gözleri ve burnu harap edebilir veya kafatasına penetre olarak dural invazyon gösterebilir; (55) ardından ölüm meydana gelebilir (5).

(b) *Pigmente bazal hücreli karsinom:* Bazal hücreli karsinomların yaklaşık %2.5'u pigmentedir (6). Pigmente bazal hücreli karsinom nodüloülseratif tipten sadece lezyonun kahverengi pigmentasyonu ile ayrılır (5). Nadiren bu pigment varyantlar malign melanomu taklit eder. Malign melanomdan incimsi komponentin varlığı ile ayırt edilir. Dermatoloji de pigment bazal hücreli karsinomları analiz etmede ve melanositik tümörlerden ayırt etmede kullanışlıdır (3).

(c) *Morfea benzeri veya sklerozan bazal hücreli karsinom:* Kendisini soliter, düz veya hafif çöküntülü, sert, sarımsı bir plak olarak gösterir. Yüzeyi düz ve parlaktır. Sınırları genellikle düzensizdir. Sonuçta gelişen ülserasyondan önce, uzun bir zaman süresince üstündeki deri sağlam olarak kalır. Adını lokalize sklerodermaya veya morfeaya klinik benzerliği nedeniyle almıştır.

(d) *Süperfisiyel bazal hücreli karsinom:* Periferik yayılım ile boyutu yavaşça artan bir veya birkaç eritematöz, geniş, sadece hafif derecede infiltrasyon gösteren plaklardan oluşur (5).

Genellikle yüz bölgesinde yerleşim gösteren ilk üç tip bazal hücreli karsinomun tersine, süperfisiyel bazal hücreli karsinom baskın olarak gövdede ortaya çıkar (56).

(e) Fibroepitelyoma: Genellikle sadece bir, nadiren birkaç kabarık, orta sertlikte, küçük saplı ve düz, hafif kırmızılaşmış deri ile çevrelenen nodüllerden oluşur. Klinik olarak fibromu andırır. En sık yerleşim yeri sırttır (5). Bu 5 klinik varyanta ek olarak, nadir gözlenen lineer ve polipoid formları da bildirilmiştir (6).

Bazal hücreli karsinomun önemli bölümünü oluşturduğu üç klinik sendrom mevcuttur:

(a) Nevoid bazal hücreli karsinom sendromu (Gorlin sendromu): Otozomal dominant kalıtılan bu sendrom erken başlangıçlı multipl bazal hücreli karsinomlar, odontojenik keratokistler, mental retardasyon, avuç içi ve/veya ayak tabanında çukurlar, kutanöz kistler, iskelet anomalileri, nörolojik anomaliler ve ektopik kalsifikasyonlar ile karakterize multisistem hastalığıdır (46). Sıklıkla hipertelorizm ve genişlemiş “calvarium” ile karakterli tipik bir yüz yapısı bulunur (6). Etkilenen bireylerin sadece %15’inde puberteden önce bazal hücreli karsinom gelişir (46). Tümörler puberteden önce genellikle zararsızdır. İlerleyen yaşlarda hastalık bazen “neoplastik” evreye girer, bu evrede özellikle yüz bölgesinde olmak üzere bazal hücreli karsinomların bazıları invazif, destrüktif ve sakat bırakıcı olur. Akciğere metastazlar da olabilir. Nadiren de olsa orbita ve beyin invazyonu sonucunda ölüm gelişebilir.

(b) Lineer unilateral bazal hücreli nevüs: Lineer unilateral bazal hücreli nevüs oldukça nadirdir. Genellikle doğumdan beri mevcut olan ve bazal hücreli karsinom nodüllerinden oluşan yaygın unilateral lineer veya zosteriform erüpsiyonlar bulunur. Bu sendrom ile ilişkili bazal hücreli karsinomlar değişik histolojik görünüme sahip olabilirler. Tümör şekillenmesi solid, adenoid, keratotik veya kistik olabilir. Ek olarak, trikoepitelyomayı veya ekrin spiradenomayı çağrıştıran alanlar görülebilir.

(c) Bazex sendromu: Özellikle yüz bölgesinde multipl, küçük bazal hücreli karsinomlar ile folliküler atrofodermanın gözleendiği bu sendrom otozomal dominant kalıtım sergiler (57). Bazex sendromunda karşılaşılan bazal hücreli karsinomlar değişik histolojik görünüme sahip olabilirler. Bunlardan bazıları trikoepitelyomadan ayırt edilemez. Sonuç olarak, iyi tanımlanmış klinik görünümüne rağmen, bazal hücreli karsinomların klinik tanılarındaki doğruluk oranı hala %60-70 düzeyindedir (6).

2.1.1.6. TANI

Bazal hücreli kanserin kesin tanısı lezyondan alınan biyopsinin histopatolojik incelenmesi ile konulur. Shave biyopsi yüzeysel materyal sağladığı için, BCC’de punch veya eksizyonel biyopsi tercih edilmelidir.

2.1.1.7. Bazal Hücreli Karsinomun Histopatolojik Alt Tipleri

Bazal hücreli karsinomlar baskın olarak dar sitoplazmalı bazal hücre tipinden oluşan, hücre nükleuslarının periferik palizadlanmalar yaptığı, tümör adalarının merkezindeki hücrelerin gelişigüzel dağılım sergilediği, özelleşmiş stroma ile epitelyum arasında ayrışma artefaktı gözlenen lobüllerden, kolon, band veya kordonlardan oluşur (6). Tümör ile stroma ilişkisi normal epidermisi dermise bağlayan hemidesmozomların olmaması nedeniyle zayıftır. Derine yayılım ya diffüz olarak ya da deri ekleri yolu ile gerçekleşir. Subkütan dokunun veya burun ve kulak lezyonlarında alttaki kıkırdak dokusunun tutulumu oldukça nadirdir. Perinöral invazyon olguların yaklaşık %1’inde bulunur; agresif varyantlarda ise bu oran daha yüksektir (58).

Tümör hücre adalarını çevreleyen yeni şekillenmiş ve bitişiğindeki dermisten farklı olan stroma değişik miktarlarda asit mukopolisakkarit içerir. Tümör adaları ile stroma arasında sıklıkla retraksiyon alanları bulunur ve peritümöral lakünaların oluşmasına neden olur. Bu lakünalar bazal hücreli karsinomlar için oldukça tipik olduğundan bunların varlığı bazal hücreli karsinomu skuamöz hücreli karsinom gibi diğer tümörlerden ayırmada yardımcıdır (5). Bazal hücreli karsinomların morfolojisinde belirgin farklılıklar olması nedeniyle çok sayıda histopatolojik subtip tanımlanmıştır (6). Ayrıca histopatolojik subtip ile karakterize büyüme paterninin tümörün agresif davranışı ile ilişkili olduğunu gösteren çok sayıda çalışma mevcuttur (59). Tümörün sahip olduğu subtipin bilinmesi, tedavinin düzenlenmesi açısından da önemlidir. Bazı morfolojik özellikler, subtiplerin birden fazlası tarafından paylaşılır. Örneğin morfea benzeri ve mikronodüler bazal hücreli karsinomun görünimleri sıklıkla aynı lezyonda bir arada bulunur. Baskın subtipi belirlemek için tüm tümörün %50’sinden fazlasını temsil eden komponent göz önüne alınır. Histopatolojik olarak tanımlanmış olan birçok alt varyantı mevcuttur: (13)

1. Nodüler (Solid) Tip

2. Süperfisiyel (Süperfisiyel Multifokal) Tip

3. İnfiltratif Tip
4. Sklerozan/Morfea Benzeri Tip
5. Kistik Tip
6. Mikronodüler Tip
7. Adenoid Tip
8. Pigmente Tip
9. Adneksiyal Diferansiyasyon Gösteren Bazal Hücreli Karsinom
10. Keratotik Tip
11. Fibroepitelyal Bazal Hücreli Karsinom (Pinkus'un Fibroepiteliyoması)
12. Bazoskuamöz Karsinom
13. İnfindibulokistik Tip Fibroepitelyal,
14. Berrak hücreli,
15. Taşlı yüzük hücreli,
16. Granüler hücreli,
17. Dev hücreli,
18. Adamantinoid,
19. Nöroendokrin,
20. Schwannoid

Diferansiyasyon derecesi göz önüne alınarak yapılan histopatolojik sınıflamaya göre:

- Adenoid
- Keratotik
- Pigmente
- Nodüler
- Ülseratif
- İnfiltratif

Yayılım özellikleri dikkate alınarak yapılan sınıflamaya göre: (31)

- DİFFÜZ YAYILANLAR:

1. Yüzeyel yayılan
2. Sklerozan (morfea benzeri)
3. İnfiltran
4. Mikronodüler

- SINIRLI YAYILANLAR:

1. Nodüler
2. Adenoid
3. Kistik
4. Keratotik
5. Pigmente

2.1.1.8.BİYOLOJİK DAVRANIŞ

1. Metastaz

Kural olarak bazal hücreli karsinomlar metastaz yapmaz. Bununla birlikte istisnalar bulunmaktadır (6). Metastaz insidansı patolojik örneklerde %0.01 iken, dermatolojik hastalarda %0.028'e, cerrahi merkezlerdeki hastalarda ise %0.1'e ulaşmaktadır (5,11). Bu düşük insidans olasılıkla bazal hücreli karsinomların stromal bağımlılıkları ile ilişkilidir; sadece stromaya tutunmuş büyük tümör embolilerinin implantasyonda başarılı oldukları bilinmektedir. Tipik bir metastatik bazal hücreli karsinom olgusunda primer lezyon, ülsere, lokal invazif ve destrüktif özelliktedir ve yinelenen cerrahi prosedürler veya radyoterapiye rağmen tekrarlama eğilimi gösterir. Nevoid bazal hücreli karsinom sendromunda orbita ve beyin invazyonu yanı sıra akciğere metastazlar da olabilir (60). Metastazların daha çok tümörün boyutu ve derinliği ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür. Metastaz oranı 3 cm'den büyük lezyonlarda %1-2; 5 cm'den büyük lezyonlarda %20-25 ve 10 cm'den büyük lezyonlarda %50'ye varmaktadır (13). Bazı yazarlar bazoskuamöz tip bazal hücreli karsinomun metastaz yapmaya en yatkın tip olduğunu vurgulamışlardır (61). Her ne kadar bazoskuamöz hücreli tümörler yüksek metastaz oranına sahip gibi görünse de, histopatolojik altgrubun metastaz riski açısından belirleyici bir değeri yok gibi görünmektedir (62).

Primer tümörün 10 cm'den büyük olduğu, baş-boyun bölgesinde lokalize, multipl, rekürren, uzun süre tedavi edilmeyen veya uygun şekilde tedavi edilmeyen, perinöral yayılım ve damar invazyonu bulunan, derine penetrasyon gösteren tümörü olan hastalar metastaz açısından yüksek riskli grubu oluşturmaktadır (62). Olguların %80-90'ında lenf nodlarına daha çok lenfojenik metastazlar yapan derinin metastatik skuamöz hücreli karsinomunun tersine metastatik bazal hücreli karsinomda hematojenik ve lenfojenik yayılım eşit oranda izlenir (6). Bazal hücreli kanser en sık lenf bezi (%40-83) metastazı görülür. Diğer sık metastaz yaptığı bölgeler arasında akciğer (%35-53), kemik (%20-80), deri (%10-17) ve karaciğer (% 9) yer alır (62).

Bir lezyonun metastatik BCC olarak sınıflanabilmesi için uyması gereken üç kriter bulunur (**Lattes Kriterleri**) (62)

1. Primer tümör müköz membranlar veya diğer bezlerden değil, deriden köken almalıdır
2. Metastaz primer tümörden uzak bir bölgeye olmalı ve direkt yayılım sonucu olmamalıdır
3. Metastatik ve primer tümörlerin her ikisi de benzer histopatolojiye sahip olmalıdır

Primer lezyonun tanısı ile metastaz belirtilerinin ortaya çıkması arasında geçen zaman ortalama yaklaşık 9 yıl olmasına karşın, metastazın gözlenmesi ile hastanın ölümü arasında geçen zaman yaklaşık bir yıldır (5). Nadiren uzun dönem sağkalım görülebilir.

2. Lokal İnvazyon:

Bazal hücreli kanser genellikle yavaş büyüyen, metastaz yapmaktan çok lokal invazyon gösteren bir tümördür. Tümör tedavi edilmezse subkutan doku, kas, hatta kemiğe yayılım gösterir. Anatomik füzyon bölgeleri tümör ilerlemesine düşük direnç gösterir. Nazolabial veya retroaurikular sulkustaki tümörler daha invazif olabilir, bu nedenle bu bölgelerdeki lezyonların daha geniş eksizyonu gerekir (34).

3. Perinöral İnvazyon:

Perinöral invazyonun BCC'de %0,2-3,8 oranında görüldüğü bildirilmiştir. En sık histolojik olarak agresif veya rekürren lezyonlarda görülmektedir. Önceden tedavi edilmiş deri kanseri olan bölgede ağrı, parestezi, güçsüzlük ve paralizi gibi nörolojik

semptomlar, sinir tutulumu şüphesi uyandırmalıdır (34).

4. Rekürrens

Rekürren BHK, operasyon bölgesinde endurasyon, eritem, ülserasyon veya kanama ile karakterizedir. Beş yıllık rekürrens hızı tedavi şekline bağlı olarak değişmekle birlikte yaklaşık %5'tir (6,9,63). Uzun süreli izlemlerde bu oran %9'a çıkmaktadır (64). Rekürrenslerin büyük çoğunluğu ilk cerrahi işlemi takiben üç yıl içinde görülürken, yaklaşık % 20'si cerrahiden 6-10 yıl sonra ortaya çıkmaktadır (13). Rekürrens oranı cerrahi eksizyon sonrası sınır pozitifliğini yansıtmaktadır ve histolojik tipe göre değişmektedir. Klinik açıdan bakıldığında bazal hücreli karsinomları düşük rekürrens riskli (nodüler, nodülökistik ve Pinkus'un fibroepitelyoması) ve yüksek lokal rekürrens riskli (süperfisiyel, infiltratif, sklerozan/morfea benzeri, mikronodüler) olarak sınıflamak daha pratik bir yaklaşımdır (59,65). Bunlardan mikronodüler bazal hücreli karsinom en az tanınanı olmasına karşın, olasılıkla yüksek riskli grupta yer alan diğer sub tipler kadar yüksek lokal rekürrens riski taşır (6). Sklerozan/morfea benzeri varyant da daha agresif davranış ile ilişkili olabilir (41). Mohs mikrografik cerrahisini takiben rekürrens oranının % 1'in altına düştüğü bildirilmiştir (13).

Rekürrens oranları anatomik bölgeye göre de değişiklik gösterebilir. Burun ve nazolabial oluk üzerinde yerleşim gösteren lezyonlarda rekürrens daha sıktır. Bu bölgelerde rekürrens oranlarının daha yüksek oluşunun, o anatomiye has özellikler veya cerrahın bu lokalizasyonlarda şekil bozucu cerrahiden kaçınmasının bir sonucu olabileceği ileri sürülmektedir. Radyoterapiden sonra tekrarlayan tümörler genellikle agresif ve infiltratif özelliktedir (3). Rekürrens riski multipl deri kanserine sahip hastalarda da daha fazladır.

2.1.1.9.TEDAVİ

Tedavi, lezyonun anatomik lokalizasyonu, lezyon boyutu, lezyon sayısı, sınırlarının belirgin olup olmadığı, primer ya da rekürren BCC olup olmadığı, histolojisi ve hastaya ait ek faktörler göz önünde bulundurularak planlanır. BCC tedavisinin dört ana amacı vardır:

1. Lezyonun tamamen çıkarılması
2. Normal dokuların mümkün olduğu kadar korunması
3. Fonksiyonun mümkün olduğu kadar korunması

4. Optimal kozmetiğin sağlanması.

Tedavi yöntemleri: Kür sağlamak için en iyi yol, primer BCC'nin uygun tedavisidir. Çünkü rekürren tümörlerin tedavi sonrası tekrarlama eğilimi daha yüksektir. En sık kullanılan ve tedavide “altın standart” olan yöntem cerrahi eksizyondur (9,29). Cerrahi eksizyonun diğer tedavi yöntemlerine göre basit, ekonomik oluşu ve histopatoloji için materyal sağlanması nedeniyle üstünlüğü bulunmaktadır (66).

A. Cerrahi yöntemler:

- Mohs mikrografik cerrahisi
- Standart eksizyon
- Elektrodesikasyon ve küretaj
- Kriyoterapi

B. Cerrahi olmayan yöntemler:

- Topikal tedaviler (imiquimod, 5-Florourasil)
- Radyo Terapi
- Fotodinamik tedavi

2.1.1.10.TAKİP

BCC’de rekürrensler genellikle bir ile dört yıl arasında olmaktadır. Bu nedenle en az beş yıl takip etmek önemlidir. Lezyonların mümkün olduğunca erken dönemde eksize edilmesi durumunda operasyon izi ve fonksiyonel kayıp da o kadar az olacaktır. Hastalar takiplerine uyum göstermeleri açısından bilgilendirilmeli ve eğitilmelidirler. Aynı anda birden fazla BCC’si bulunan hastalar daha sık kontrollere çağrılmalıdırlar (31). BCC eksizyonunu takiben bir yıl içinde yeni tümör oluşma olasılığı %33’ tür. Beşinci yılda yeni BCC oluşma olasılığı da %36’dır.

Tümör rekürrens olasılıklarını artıran faktörler:

- Lezyonun uzun zamandır bulunması
- Yüksek riskli bölgelerde yerleşik olması (orta yüz bölgesi gibi)

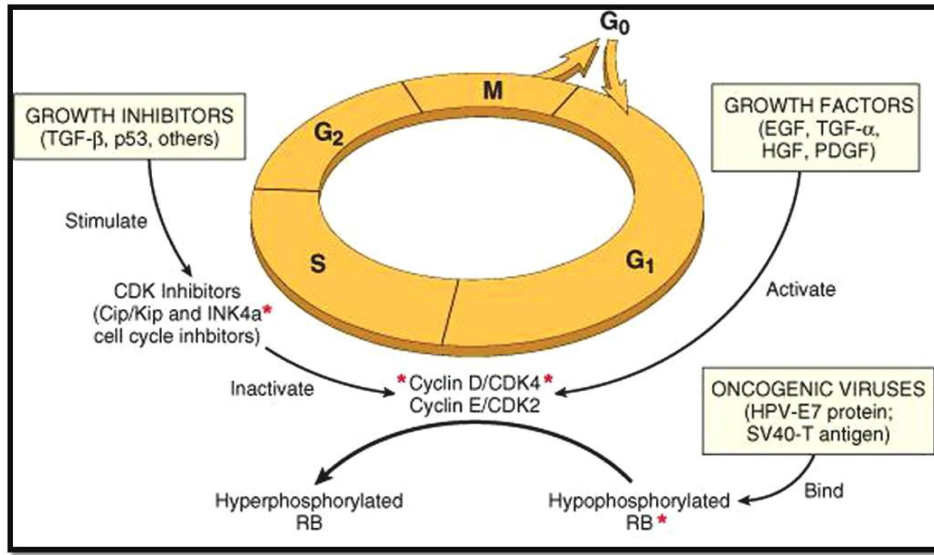
- Geniş çap
- Agresif klinik ya da histolojik özellikli olması (sklerozan/morfea benzeri ve süperfisiyel alt gruplar
- Perinöral invazyon yapmış olma
- Rekürren lezyon
- Radyasyona maruz kalma öyküsü

2.1.1.11.PROGNOZ

Uygun şekilde tedavi edilirse BHK hastalarında prognoz mükemmeldir. Mohs mikrografik cerrahisi ile kür oranı %99'a ulaşmaktadır. Primer tümörler için kür oranları yüksek olsa da, hasta rekürrens ve yeni primer tümör gelişimi açısından takip edilmelidir. İkinci primer BHK gelişme riski %36–50 olarak bildirilmiştir. Periyodik olarak tüm vücut deri muayenesi ve güneş koruyucu kullanımı önerilmektedir (34). Oral retinoid tedavisi yeni BHK'lerin gelişmesini önleyebilmekte veya geciktirebilmektedir (67). Rekürren tümörlerde, tekrarlama riski ve tümörün agresifliği artsa da, bu tümörlerde de prognoz iyidir. Rekürren hastalık öyküsü olan hastalar, çok daha sık aralıklarla takip edilmelidirler. Metastatik hastalıkta prognoz kötüdür. Ortalama yaşam süresi tanı anından itibaren 8-10 aydır (34).

2.2. NORMAL HÜCRELERDE HÜCRE SİKLUSU

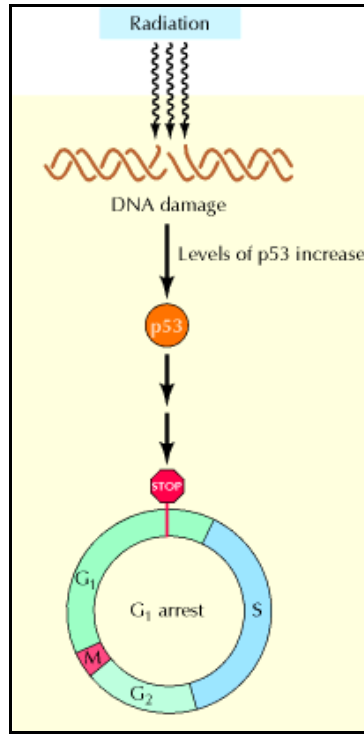
Sürekli bölünen hücrelerde mitozdan sonra siklus G_1 -S- G_2 (interfaz) ve M (mitoz) şeklinde tekrarlanır (Şekil 5). Bu süreçte hücre uyarımı ve büyüme meydana gelmekte veya bölünme sinyali almadıkları sürece istirahat fazı G_0 'da durmaktadırlar (68). G_1 , S, G_2 fazları (Interfaz) hücre siklusunun %90'nını kapsar ve 16-24 saat sürer. Mitoz bölünme ise 1-2 saat sürmektedir. Hücre büyümesi G_1 fazında kısıtlayıcı nokta (R point) tarafından koordine edilir. Kısıtlayıcı noktada hücre duracak veya hücre siklusunu tamamlayacaktır (42). G_1 fazında hücreler kendi çevrelerini kontrol eder, sinyalleri alır ve büyümeyi indükler. Bu fazda DNA sentezi (replikasyonu) için hazırlık yapılır. RNA ve protein sentezi olur. S fazında ise DNA sentezlendikten sonra, G_2 fazında hücre büyümeye devam eder aynı zamanda RNA sentezi, protein sentezi gerçekleşir ve hücre mitozu hazırlanır. Mitoz; profaz, metafaz, anafaz ve telofazdan oluşmaktadır. Telofazda sitoplazmik bölünme tamamlanır ve aynı genetik materyalli iki yeni hücre meydana gelir (69).



Şekil 5: Hücre Siklusu Aşamaları

Hücre çoğalması ve hücre siklusunun ilerlemesi büyümenin kontrolünde rolü olan genlerin ekspresyonu ile bağlantılıdır. Bu süreçte hücre uyarımı ve büyüme meydana gelir veya hücre G₀ fazında durur. Hücre siklusunda G₁-S geçişinde, G₂-M geçişinde ve metafaz-anafaz geçişinde kontrol noktaları bulunmaktadır. Hücre siklusu Siklin bağımlı kinazlar (CDK, katalitik altbirim) ve Siklin (CYC, düzenleyici altbirim) tarafından kontrol edilmektedir. Hücre siklusunda iki tip gen grubunun rolü vardır: Onkogenler (Her 2, lneu, ras, c myc vb) ve tümör baskılayıcı genler p53 ve Rb (Retinoblastoma geni) (70). Onkogenler, kanser gelişimini doğrudan ve dolaylı olarak etkileyen gen grubudur. Tümör baskılayıcı genler ise kanser gelişimini baskılar (71). p53geni işlevini kaybederse hücre büyümesinin kontrolü ortadan kalkar ve DNA tamiri olmadan hücre siklusu kontrolsüz devam eder. Normal hücrelerde DNA hasarı olduğunda, p53 genomik kararlılığı sağlar ve hücre siklusunu G₁'de inhibe eder ve hücreye tamir için zaman kazandırır. Hasar tamir edilemiyorsa hücre apoptozise gider (Şekil 6),(70).

Hücre homeostazisi hücre çoğalması, büyümenin durdurulması ve apoptozis ile sürdürülmektedir. Hücre siklusu içindeki olayları düzenleyen ve kontrol eden etkileşimler çok sayıda ve komplekstir. Hücre döngüsünü düzenleyen genlerde mutasyonlar sonucu genomik yapı mutasyona uğrar ve genetik değişikliklerle malign transformasyon tamamlanır.



Şekil 6: p53'ün DNA Hasarına Yanıt Olarak Hücre Siklusunu Durdurması

2.3. ING (INHIBITOR OF GROWTH) GENLERİNİN GENEL ÖZELLİKLERİ

ING genlerinin ilk üyesi Garkavtser ve ark.'ları tarafından (72) 1996 yılında yedi meme kanserli olgu ile normal memeli epiteli arasındaki farklılığı ortaya koymak için yaptıkları çalışmada bulunmuş ve genetik süpressör element olarak adlandırılmıştır. Bu genetik süpressör elementlerin hücre büyümesi ve transformasyonunda promotör fonksiyonu gördükleri ortaya konulmuş daha sonra yapılan çalışmalarda aynı ailenin %32 ile %76 oranında benzer homolojiye sahip olan 4 farklı üyesi daha (ING2, ING3, ING4, ING5) tanımlanmıştır (Şekil 7). ING genlerinin diğer canlılarda olup olmadığı araştırıldığında sadece insan ve mayalarda bulunduğu gösterilmiştir (73). Daha sonra farelerde yine aynı genlerin bulunduğu belirlenmiştir. ING genlerinin genomik yapısının analizinde ING-2 ve 5 hariç birçoğunun alternatif yapılaşma bölgesi içerdiği görülmüştür.

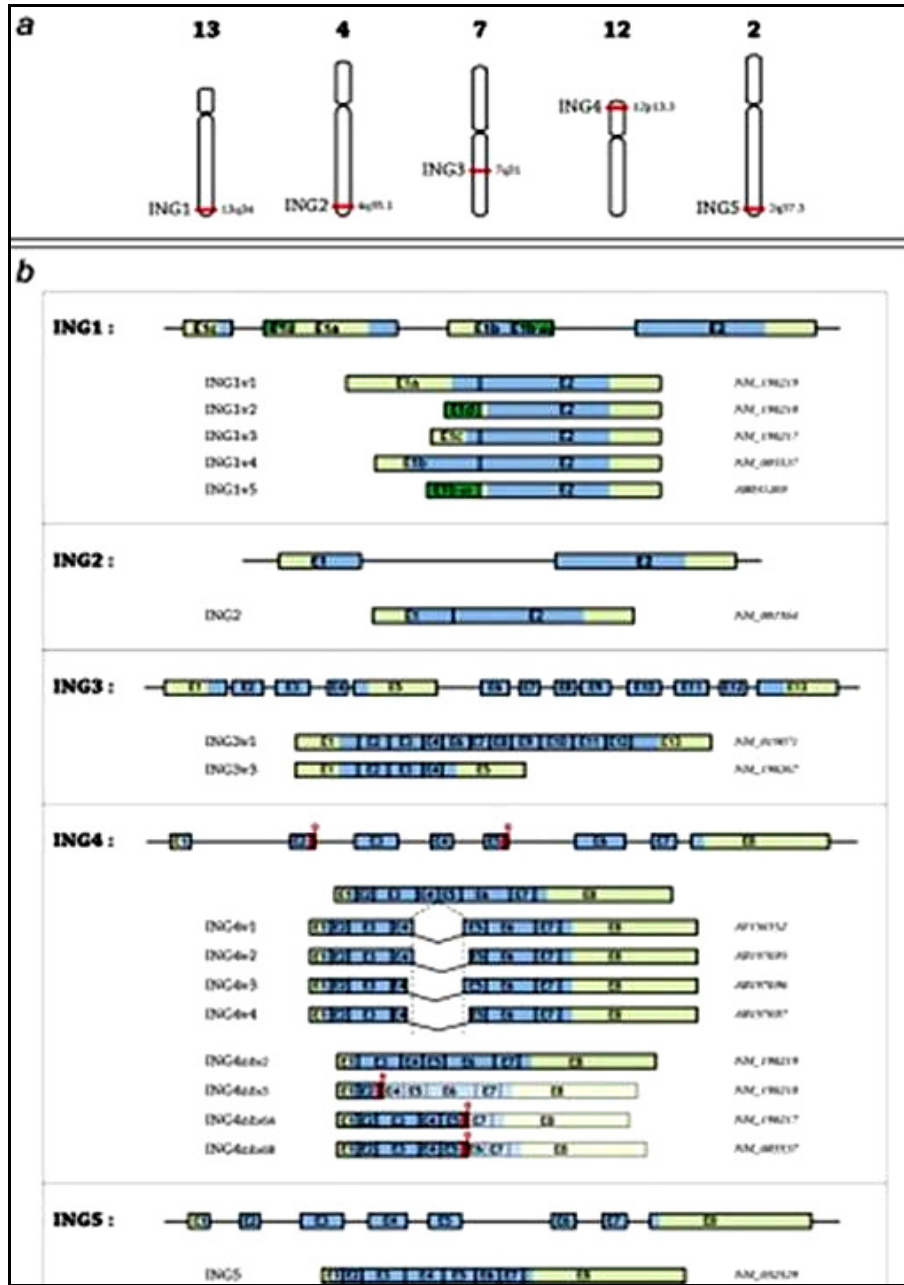
Ythier ve ark.'larının (74) yeni bir tümör süpressör gen olan ING genlerinin genomik yapıları ve kanserdeki fonksiyonları ile ilgili yaptığı çalışmada ING genleri tip 2 tümör süpressör gen olarak tanımlanmış ve 5 üyesinin bulunduğu belirtilmiştir. Bu proteinlerin özellikle apoptozis ve yaşlanma başta olmak üzere çeşitli tümör süpressör yolda görev yaptıkları ileri sürülmüştür. Ancak hücre büyümesi ve tümörögenezisteki rolleri hala tam

olarak anlaşılabilmiş değildir. İnsan tümör hücrelerinde yapılan çalışmalarda ING genlerinin inaktivasyonu ile tümör gelişimi ilişkisi ortaya konulmuştur (73). Ayrıca bazı çalışmalarda ING genlerinin ekspresyonundaki azalma ile kanser progresyonu arasında korelasyon olduğu gösterilmiştir. Biyokimyasal ve moleküler biyolojik çalışmalar göstermiştir ki tüm ING üyeleri metillenmiş histon grupları ve fosfoinozitollerle ile histon asetiltransferaz, histon deasetilaz içerdiklerinden gen transkripsiyonunda regülasyon yaptıkları düşünülmüştür. Ayrıca hücre kültürlerinde yapılan zorlu ekspresyon çalışmalarından anlaşıldığı üzere birçok ING üyesi p-53 tümör süpressör proteini ve/veya nükleer faktör kappa-b (Nf-Kb) protein kompleksi ile etkileşmektedir. Bu etkileşimlerin bir sonucu olarak p-53 ve Nf-Kb'nin üzerinden veya onlardan bağımsız olarak DNA onarımı, hücre büyümesi ve hayatta kalması, inflamasyon, tümör süpresyonu gibi birçok hayati olayı etkilemektedirler (75).

ING gen fonksiyonlarını açıklamak için birçok mekanizma ileri sürülmüştür: (21)

1. Heterozigotide kaybı
2. CpG promoterinin hipermetilasyonu
3. Protein mislokasyonu

ING gen ekspresyonundaki değişimlerin değişik kanser türlerinin gelişimi veya progresyonunda ve kanser hücrelerinin kemoterapötiklere yanıtında etkili olduğu bulunmuştur. ING genlerindeki nokta mutasyonlar ve heterozigotide kaybının spesifik bir ailesel kansere neden olmadığı ancak hücre siklusunun regülasyonu, hücre transformasyonu ve apoptoziste önemli rol aldıkları gösterilmiştir (76). Şu ana kadar ING tümör süpressör genlerinin kromotinleri modifiye edebilen ve birçok hücresel olayı değiştirebilen özelliklerinin olduğu bilinmesine rağmen hücre büyümesi, hücre ölümü, tümörögenезis ile ilgili her ING üyesinin ayrı ayrı birçok fonksiyonlarının moleküler düzeyde nasıl gerçekleştiği hala yanıt bekleyen konulardandır.



Şekil 7: ING Genlerinin Yapısı

Kemoterapi kanser tedavisinin vazgeçilmez bir komponentidir. Yapılan çalışmalarda kanser hücrelerinin kemoterapötiklere olan yanıtında ING proteinlerinin önemli fonksiyonlar üstlendiği gösterilmiştir. Örneğin beyin tümörlerinin ING ekspresyonu yapanlarında antimitotik ajan olan Vinkristine dirençten sorumlu olduğu vurgulanmıştır. Bunun aksine melanoma hücrelerinde Kamptotesine bağlı hücre ölümleri ING proteinlerinden bağımsız olarak gerçekleşmektedir (77,78).

ING ailesi üyelerinden hakkında en fazla bilgi sahibi olunanı ING1dir. ING1 ekspresyonu kolorektal kanser, pankreas kanseri, baş-boyun yassı hücreli kanseri ve meme kanseri gibi birçok kanser tipinde heterozigotide kaybı ile azalmıştır. ING1'in ekspresyonunun yüksek gradeli olanlarda düşük gradeli astrositomlara nazaran daha fazla olması astrositomlardaki malign progresyondada rol aldığı düşündürmektedir. Östrojen ve progesteron reseptörleri bakımından negatif olan malign meme kanserinde de ING1'in nükleer ekspresyonunda azalma olduğu gösterilmiştir (79). Ayrıca bu çalışmaların birçoğunda p53 proteininde de fonksiyon kaybı olduğu belirlenmiştir. Primer over tümörlerinde yapılan çalışmalarda ING1'in ekspresyonunun azaldığı ve tedaviye dirençli olgularda özellikle dirençli olmayanlara nazaran ING1 ekspresyonunun azaldığı belirlenmiştir. Bunun aksine miyeloid lösemi, melanoma gibi bazı kanserlerde ise ING1'in arttığı belirtilmiştir. Ancak melanoma hücrelerinde ING1 genlerinde mutasyon olduğunda belirtilmektedir (80). ING1'in yapısındaki PHD domainde gerçekleşen mutasyonlar tümör süpressör fonksiyonlarda bozulmaya neden olmaktadır. Bu tür mutasyonlar melanomada, baş-boyun SCC'lerinde, özafageal karsinomda, meme kanserinde, pankreas kanserinde, kolon kanserinde gösterilmiştir (81). Sürpriz bir bulgu olarak glioblastoma çalışmalarında ING1'in aşırı eksprese olduğu (82) ancak mislokasyon gösterdiği belirtilmiş ve bunu destekleyici olarak normal oral mukoza ile oral mukozal SCC arasında da bu şekilde bir mislokasyonun olduğu vurgulanmıştır (83).

Yapılan çalışmalarda ING proteinleriyle kanser gelişimi arasındaki ilişki ortaya konulmuştur. ING-2'de mutasyon olmaksızın akciğer kanseri, melanoma, kolon kanserlerinde ekspresyonunda azalma olduğu gösterilmiştir (84,85). Ayrıca ING-2 melanomada radial, vertikal büyüme fazları ile metastatik melanomalarda, displastik nevüsler karşılaştırıldığında azalmış olduğu görülmüştür. Ancak ING-2 düzeyindeki azalmanın tümörün evresi, subtipi ve 5 yıllık sağ kalım oranları üzerinde etkili bulunmamıştır. Bunun aksine ING-2'nin hepatosellüler karsinomda ekspresyon ile tümör ilerlemesi ve hayatta kalışta etkili bulunmuştur. Bu bilgiler ışığında ING-2'nin azalması veya eksprese olmaması tümörün başlaması ve progresyonunda etkilidir (1). BCC üzerinde yapılan çalışmalarda 9q22.3 ve 17p13 kromozomlarında lokalize Patched geni ve p53 genlerinin bu tümörün başlamasında major sebep olduğu göstermiştir. Sironi ve ark.'ları (1) 19 BCC tanısı almış hasta üzerinde yaptıkları çalışmada tümörlü dokular ve aynı hastaların kontrol grubu olarak ise kan örnekleri alınarak incelenmiş. 19 vakada başka bir tümör süpressör genin ilgili olup olmadığını

araştırmak için heterozigotluk kaybına bakılmış ve sonuç olarak sporadik BCC gelişimi ile ilgili olarak 4. kromozomun uzun kolunun sorumlu olabileceği vurgulanmıştır. Delesyon tespit edilen 4q32-35 bölgesindeki gendeki delesyon sonucu hücre siklusunun kontrol noktasını düzenleyen p53, ING2 ve ING1 ve Sap30 gibi genlerin bulunması nedeniyle bu genlerdeki değişimlerin tam olarak belirlenebilmesi için daha ileri araştırmalara ihtiyaç olduğu belirtilmiştir.

ING-3'de ING-2'ye benzer bulgulara sahip olup 5 yıllık yaşamda farklılıklar tespit edilmiş ING-3'ün ekspresyonu iyi olan olgularda 5 yıllık yaşam %93 iken bu oran ekspresyonun azaldığı olgularda %44'e düşmektedir (86). ING-3'ün ekspresyonunun az olduğu olgularda hayatta kalmanın ve tümör başlangıcının daha agresif olduğu belirtilmiştir.

ING-4'ekspresyonunda glioblastoma, baş-boyun kanserlerinde, miyelomada, meme kanserinde azalmış olarak bulunmuştur. ING-4'meme ve baş-boyun kanserlerinde heterozigotide kaybı ile miyeloma ve glioblastomada ise progresyonda etkili olduğu ve ING-4 düzeyi ile tümördeki agresif davranış arasında ilişki olduğu belirtilmiştir (19,87). ING-4'ün ekspresyonu melanomada displastik nevüsle karşılaştırıldığında azalmış olduğu görülmüş ancak prognozla ilişkisinin zayıf olduğu belirtilmiştir (88).

ING-5 ile ilgili Cengiz ve ark.'larının yaptığı çalışmada(89) oral kanseri bulunan olgularda kromozom 2'nin uzun kolunda heterozigotide kaybı olduğu belirtilmiştir. Bu genomik bölgedenin incelenmesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

2.3.1. ING PROTEİNLERİNİN YAPISAL ÖZELLİKLERİ VE FONKSİYONLARI

Tüm ING genleri, Nuclear Localization Signal (NLS) bazılarında çok sayıda NLS bölgesi içermektedir. Bu güne kadar NLS'nin rolü sadece ING-1 üzerinde ayrıntılı olarak çalışılmıştır ve bu çalışmalara göre NLS delesyonu sitoplâzmada protein birikimine neden olmaktadır. Ayrıca ING-1'in NLS bölgesi UV etkisi ile gerçekleşen apoptoziste görevli olan iki adet nükleolar translokasyon sinyalinin kopyasında içermektedir. Diğer ING proteinlerinde benzer fonksiyonlu bölgelerin olup olmadığı bilinmemektedir. ING-4 NLS proteinlerindeki delesyon sonucu p-53'e fazla uzun süre bağlanamayan varyantların oluşumuna neden olmaktadır (90).

C-terminallerinde ise fonksiyonu bilinmeyen Plant Homeo Domain (PHD), Novel Conserved Region (NCR) denilen bölgeler içermektedir. PHD bölgesi yaklaşık 60 aminoasit

içerir ve iki adet Zn^{+2} bağlar (91). PHD bölgesinde kaç protein bulunduğu tam olarak bilinmemektedir. Ancak Aasland ve ark.'nın (92) yaptığı çalışmaya göre tahminen 150 protein bulunmaktadır. PHD proteinleri kromatinlerin remodelizasyonunda görev yapmaktadır (93). Yakın zamanda ING proteininin PHD uzantılarının direk olarak metillenmiş histonlara bağlandığı özellikle H3K4me2 ile H3K4me3'e ve nükleozomlara bağlandığı belirlenmiştir (94).

Ayrıca ING proteinlerinden ING 2-5 arasındakilerin N-terminalinde LZL olarak adlandırılan (Leucine Zipper-Like) 4-5 adet lösin veya isolösin içeren hidrofobik alan bulunmaktadır.

ING genlerinin fonksiyonları gen ekspresyonu düzeyinde kontrol ediliyor olabilir. Fare ve insan hücrelerinde yapılan ekspresyon çalışmalarında ING1'in ekspresyonunun p53 tarafından kontrol edilmeyip, RUNX3 tarafından kontrol edildiği gösterilmiştir (95). Bunun aksine ING-2 nin promoter bölgesinde iki adet bağlanma bölgesi bulunduğu gösterilmiştir (96). İlginç olarak ING2'nin ekspresyonu DNA hasarı oluşturan Etoposid ve Neokarzinostatin tarafından arttırılmakta ancak p53'ün upregülasyona neden olan gama-radyasyon veya Doksorubisin gibi ajanlardan ise etkilenmemektedir. Burdan çıkarılacak sonuç ise daha ileri analizlerle p53'ün ING2 ekspresyonundaki fonksiyonlarının belirlenmesini sağlayacaktır.

ING proteinlerinin aktiviteleri posttranslasyonel modifikasyonlarla değiştiriliyor olabilir. ING1'in izoformu olan p33^{ing1b} stressiz durumlarda veya CHK1 ile olan DNA hasarlanması durumunda 126.'ci konumundaki Serin fosforillenmektedir. CHK1 normalde ATM/ATR kinaz tarafından aktive edilir bu bulgular dorultusunda p33^{ing1b} nin UV etkisiyle ATM/ATR-CHK1'in sinyalleri sonucu ekspresyonunun arttığı fikrini ortaya çıkarmaktadır. Ayrıca 126.ci konumdaki Serinin fosforilasyonu sonucu ING proteinin stabilitesindeki değişimler yarı ömründe etki etmektedir. Sonuç olarak ING fonksiyonları subsellüler lokalizasyondaki proteinler tarafından düzenlenmektedir. ING1'in sitoplazmik lokalizasyonu nedeniyle 14-3-3 ailesinin üyeleri tarafından 199.' konumundaki Serinin fosforilasyonu ile olmaktadır (97). ING2 ise hücre membranında lokalize olduğundan protein fosfoinosidaz olan PHD tarafından gerçekleştirilmektedir (91).

ING proteinlerinin fonksiyonları irdelendiğinde hücresel büyüme, apoptozis, DNA onarımı ve yaşlanma gibi birçok hücresel olayı düzenledikleri görülmektedir. ING

proteinlerinin hücre siklusunun ilerlemesinde kontrol noktalarında görev aldığı gösterilmiştir. Bu çalışmaların birçoğu ING-1 üzerinde yapılmışken ING 2-5 ile ilgili olanların sayısı azdır. Bununla birlikte ING proteinlerinin süpresyonu sonucu hücresel yayılma, hücresel migrasyonda artış kontakt inhibisyonunda azalma olmaktadır (98). Ayrıca birçok çalışma göstermiştir ki ING genleri p53 tümör süpressör gen fonksiyonları içinde gereklidir. Daha ileri araştırmalarda ise ING proteinlerinin p53'ten bağımsız gibi Nf-Kb fonksiyonlarının regülasyonu hipoksi ile indüklenebilen faktör yolağı (HIF) (99) fonksiyonlarında olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte ING proteinlerinin kromotin remodeling kompleksinin bir parçası gibi davranarak nükleustaki transkripsiyonu düzenlediği gösterilmiştir (100). ING proteinlerine ait veriler sırayla incelenecek olursa:

2.3.2 ING 1 VE FONKSİYONLARI

ING1 'in üç alt subünitinin olduğu ve bunlardan $p37^{ing1b}$, nin p53'ü inhibe ederken $p31^{ing1a}$ ve $p33^{ing1c}$ 'nin p53 aktive ettiği gösterilmiştir. Ayrıca insan tümör hücrelerinde ING1'in sıklıkla kaybı veya down-regülasyona uğradığı, bununla sıklıkla RNA düzeyinde ve epigenetik mekanizmalara bağlı olduğu belirlenmiştir.

Büyüme Regülasyonunda ING1

ING1'deki aşırı eskresyon sonucu insan diploid fibroblast kültürlerinde G0/G1 fazındaki hücre sayısında %50 artış tespit edilmiştir. Aksine ING1 bu hücrelerde hücre arrestinin sonlanmasına ve S fazına geçişi sağlar. Bu bilgilerin doğrulaması olarak Hi299 hücrelerine ektopik olarak verilen $p33^{ing1}$ G1 fazındaki birkaç hücrede doubling time'da hafif bir artış ve S fazı veya G₂/M fazında ise geçikme veya blokaja neden olmaktadır (101). Bu nedenle ING1 G1/S ve G₂/M fazlarındaki kontrol noktasını oluşturmaktadır.

ING1 Siklin-b1'in ekspresyonunun negatif regülatörü olduğundan G₂/M siklusunda kontrol olabilir. Ayrıca ING1 ekspresyonu Siklin-E ekspresyonu ilede azalmaktadır (102). Bununla birlikte bu son bulgunun daha fazla araştırılması gerekmektedir. ING1'in ekspresyonu hücre siklusu boyunca regüle edilmektedir: G₀ 'dan G₁ fazına geçişte azalmakta, geç G₁ fazında artarak S fazında maksimum düzeylere çıkmakta ve G₂ fazında ise azalmaktadır. Ek olarak $p33^{ing1}$ 'in ektopik ekspresyonu topoizomeraazII'nin inhibitörü olan Doksorubisin kullanımı ile hücre siklus arrestinde artışa ve çift iplikli DNA'da kırıklara neden

olabilir (103). Doksorubisin hücrelerin doubling time'ında artışa ve G2/M fazındaki hücre sayısında artışa neden olmaktadır.

ING1 ve Apoptozis

ING1 ekspresyonunda artış apoptozisi uyarmaktadır ve ektopik ING1 artışı c-MYC ekspresyonu ile p19 hücreleri ile rodent fibroblastlarda apoptozisi indüklemektedir (104). Aksine, ING1'deki azalma ise apoptozisten korumaktadır. Tüm bu bilgiler ışığında ING1' in hücre ölümünün regülasyonunda görev almaktadır. ING1'in apoptozisteki bu etkinliği UV uygulanımı sonrasında PCNA ile olan etkileşimlerine bağlı olarak gerçekleşmektedir (105). Ayrıca ING1'in izofromlarının apoptozis oluşturmadaki etkinliğide hücrelerin genç veya yaşlı olmasına görede değişmektedir (106). Ektopik olarak p33^{ing1b} Etoposid, Taxol ve Doksorubisin kullanımından sonra apoptozisi uyarmaktadır. Bunun aksine olarak daha yeni yapılan bir çalışmaya göre ise glioblastoma hücrelerinde ING1'in neden olduğu p53 down regülasyonu olmasına rağmen Sispatinle apoptozis indüklenebilmektedir (107). Son yapılan bir çalışmaya göre ise p33^{ing1b} aşırı salındığı durumda TNF- α ile sinerjik etki ile apoptozisi uyarmaktadır (108) Bu bilgilere göre p33^{ing1b} normalde hücreleri TNF'ye bağlı apoptozisten koruyan Nf-Kb yoluğı üzerinden indirek olarak etkiliyor olabilir (109).

ING1 ve DNA Onarımı

UV ile oluşan nükleotid hasarının onarımında görevli olan Nucleotide Excision Repair (NER) ünitesi ING1'e bağlıdır. P33^{ing1b}'nin fazla miktarda bulunduğu ortamda plazmid-DNA'sı aracılığı ile hücre içine verildiğı durumlarda Nucleotide Excision Repair (NER) ünitesinin arttığı görülmüştür (110). ING1'in bu fonksiyonunda GADD45 ile olan etkileşimleri sözkonusudur. P33^{ing1b} PHD domain mutasyonlar, Sin3a co-repressor kompleksinin bir komponenti olan Sap30 (Sin3a Associated Protein 30) ile olan etkileşimleri sonucu olarak p33^{ing1b}'nin NER fonksiyonunda bozulmaya neden olduğu radioimmün assay ile gösterilmiştir (111). Bu bilgilerden anlaşıldığı üzere DNA nükleotid hasarlarının onarımında esas olan NER'de temel fonksiyonları ING1'e bağımlı olarak gerçekleşmektedir.

ING1 ve p53 Fonksiyonları

ING proteinlerinin p53 tümör süpressör gen yolağında regülasyon yaptığı bilinmektedir (112). P53, değişik stress durumlarında DNA hasarına yanıt olarak salınmaktadır (113) ve değişik post translasyonel modifikasyonlar sonucu, hücre siklus arrestine neden olan genler

ile yaşlanma, DNA onarımı, apoptozis gibi birçok fonksiyonda görevli genlerin ekspresyonlarını etkilemektedir (114). ING proteinlerinin hücre büyümesinin inhibisyonunda p53'e bağımlı olduğu gösterilmiştir. p53'ün transkripsiyonu aktive etmesinde ING proteinlerine bağımlı olduğu bilinmektedir. Adenovirus aracılığı ile Glioma hücrelerine p53 ve ING'nin birlikte verildiği durumlarda apoptozis gelişmiş (115). Aynı sonuçlar insan özafageal kanser hücrelerindedir (116).

Yakın zamanda yapılan çalışmalarda ING1'in ARF-MDM2-p53 yolağında birçok proteinin regülasyonunda görev aldığı gösterilmiştir. ING 1'in MDM2 ile birlikte p53'e bağlanarak onu stabil hale getirdiği vurgulanmaktadır. ING 1'in ARF ile birlikte hücre siklus arrestinde görev aldığı p-19 içermeyen fare embriyonik hücrelerinde gösterilmiştir (117).

p53'den Bağımsız ING1 Fonksiyonları

ING proteinlerinin p53'den bağımsız olarak büyüme regülasyonuna ve hücre siklusu arrestine etkisi olduğu bildirilmektedir (103). ING1'in bu fonksiyonu Siklin-b1 regülasyonu ile gerçekleşiyor olabilir (118). p53 yokluğunda aşırı p33^{ing-1b} varlığında SAOS2 hücrelerinde azalma görülmüştür. ING1'in p53'den bağımsız olarak HSP70 transkripsiyonunu düzenleyici etkisinde gösterilmiştir (103). ING1'in aşırı sentezlendiği durumda H1299 akciğer karsinom hücrelerinde bölünme zamanında %10'luk artış olduğu ve Doksorubisinle indüklenen G₂/M DNA hasarı noktasında artış olduğu gösterilmiştir. Aynı bulgular glioblastom hücrelerinde Sisplatinle yapılan çalışmalarda da gösterilmiştir (107). Bu bulgular ışığında ING1'in p53 ten bağımsız olarak büyümeyi veya hücre ölümünü inhibe ettiği sonucuna varmak mümkündür.

ING1 ve Nf-Kb Yolağı

ING proteinleri Nf-Kb yolağında da düzenleyici olarak rol oynar. Nf-Kb sitoplazmada yerleşmiş Rel protein ailesinin üyelerinden biri olup dimerik yapıda transkripsiyon faktörüdür (119). Nf-Kb yolağı inflamatuvar sitokinler ve bazı mikrobiyal patojenlerin lipopolisakkarit yapıdaki komponentleri tarafından aktive edilir (120). Nf-Kb inhibitörünün yıkımı ile bu yolağın aktivasyonu sonucu nükleus içerisine translokasyon olarak hücre immün cevap ve hücre yaşamıyla ilgili genlerin ekspresyonunda up-regülasyona neden olur (121). Sonuç olarak Nf-Kb yolağının aktivasyonunun sonucu olarak apoptozis, anjiyogenezis, metastaz, proliferasyon, tümör büyümesi ve hücre yaşamı etkilenir (122). Nf-Kb tümör gelişiminde önemli olmasına karşın mutasyonu durumunda tümör gelişmemektedir.

ING1'in Kromotin Remodelizasyonu ve Gen Ekspresyonunun Regülasyonundaki Etkileri

p53, Nf-Kb sinyal yolağı ve ING1'in p33 varyantı kromotin remodelizasyonu kompleksi ile ilişkilidir. HELA nükleer ekstrelerin fraksiyonu ile endojen p33^{ing1b} 'ün komponenti olduğu gösterilmiştir. Bu kompleksin diğer üyeleri ise MSIN3, SAP30, Histon Deasetilaz 1 (HDAC1), RBAP48 ve transkripsiyonel koresptör kompleks deasetile kor histonları invitro olarak gösterilmiştir (123). Bununla birlikte Sin3/Hdac'nin transkripsiyon reseptör fonksiyonu ve transkripsiyonu arttırıcı etkileri olduğu gösterilmiştir. Son çalışmalarda p33^{ing1} ve ING2'nin Sirt1 ve Sin3/Hdac kompleksinin etkilerini arttırıcı yönde etkide bulunduğu gösterilmiştir. Sirt1, Sin3/Hdac kompleksinin transkripsiyonal represyon aktivitesini negatif yönde regüle etmektedir, bu bilgi ING proteinlerinin transkripsiyonal aktivitesindeki muhtemel rolünde göstermektedir. ING1 ve diğer ING proteinleri, Sin3/Hdac ile birlikte gen transkripsiyonunda rol almaktadır. Ayrıca Sin3/Hdac kompleksinin gerçekleştirdiği nukleozom remodelizasyonu, DNA metilasyonu, N-astilglukozamin transferaz aktivitesi ve histon metilasyonu gibi aktivitelere ING proteinleri katkıda bulunuyor olabilir (124).

Farklı ING proteinlerinin farklı izoformları, HAT veya Hdac aktivitesi ile ilişkili bulunmuştur. P33^{ing1}'in aşırı ekspresyonunda H3 ve H4 histonlarında hiperasetilasyon gerçekleşmektedir (125). Ancak p47^{ing1a}'nin aşırı ekspresyonunda ise histon deasetilasyonu gerçekleşmektedir (126). Bu etkiler farklı histon ve DNA'lar arasındaki farklı etkileşimlerden kaynaklanmaktadır. ING1 DNA metilasyonunda görevlidir. DNA metil transferaz 1 enzimi S-fazında fiziksel olarak periferik heterokromotin ve metillenmiş H3 Lizin9, histon deasetilasyon kompleksi ile fiziksel olarak temas halindedir. Ayrıca ING proteinleri h3k4'e bağlanarak gen transkripsiyonunu azaltır. PHD'deki mutasyon sonucu ING1 h3k4'e bağlanamaz ve UV etkisi ile gerçekleşecek apoptoziste görev yapamaz.

2.3.3. ING 2 VE FONKSİYONLARI

ING2'nin Hücre Büyümesinin Regülasyonu, Apoptozis ve DNA Onarımındaki Fonksiyonu

ING2'nin ektopik ekspresyonu Rko hücrelerinde G1 hücre siklusunda iken koloni formasyonunu inhibe etmektedir. ING 2'nin aşırı ekspresyonu replikatif yaşlanmaya neden olmakta ve RNA aracılığı ile ING-2'nin salınımda down regülasyon olmaktadır (127). Bununla beraber yeni yapılan insan fibroblast kültürlerinde bir çalışmada p53'ten bağımsız

yaşlanmayı başlattığı ve ING -2'nin aşırı ekspresyonu ise p53'e bağımlı yaşlanmayı arttırdığı gösterilmiştir (128). Bu çalışmalardan ING-2'nin yaşlanmada rol aldığı görülmekle birlikte bu rolün nasıl gerçekleştiği konusunda yeni çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

ING2 hücre proliferasyonunda da fonksiyon görmektedir. ING2 Snon ve Smad2 ile etkileşerek TGFβ'ya bağımlı gen ekspresyonunu artırarak hücre proliferasyonunu azaltır. Diğer ING ailesi üyelerinin TGFβ yolağındaki etkileri henüz bilinmemektedir. TGFβ yolağı sellüler proliferasyon, hücrenin hayatta kalması, apoptozis, migrasyon, invazyon, ve inflamasyon gibi etkinlikleri ile ING genleri arasındaki ilişki dikkat çekmektedir (129). ING2 Etoposid'e bağımlı apoptoziste rol alıyor olabilir (130) ve UV ile muamele edilmiş radyasyone hücrelerde ING2'nin aşırı salınımı apoptozisi arttırmaktadır. UV-B'ye maruz bırakılmış melanoma hücrelerinde Bcl-2 proteini artmakta ve ING2 salınımı aşırı artmakta ve ayrıca mitokondrial membran gradientinin değişimi ile Bax'ta mitokondriye translokasyon olmaktadır. Ayrıca ING2 Fas ekspresyonunuda regüle etmektedir. Bu bilgilerle ING-2'nin mitokondrial intrinsik ve ekstrinsik ölüm reseptörleri ile ekstrinsik apoptotik yolda regülasyon yaptığı bildirilmektedir. ING2 mutasyonu sonucu UV-B'ye maruz kalındığında apoptozis artmamaktadır (131).

Unoki ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada (132) ING ailesinin üyelerinden ING 2'nin bir alt varyantini izole etmişlerdir. ING-2b olarak adlandırdıkları bu gen ING-2a ile aynı exon üzerinde yer almakta ve p53 bağlandığı bir N-terminali içermemektedir. Ing2a ve b'nin promotor bölgesinde p53 bağlanma bölgesi bulunmamaktadır. p53 aktivasyonlarında ING 2a süprese olurken ING 2b etkilenmemektedir. p53 normal insan fibroblastlarında Mutlin3a aracılığı ile ING2a'nin down regülasyonunu sağlamaktadır. ING2a yalnızca p53 varlığında hücre büyümesini engellerken; ING2b hücre büyümesi üzerinde etkili olmayıp hücre çoğalma siklusunda duraklama ve apoptoziste aşağı yönde bir regülasyona neden olmakta ve bunu p53'den bağımsız olarak yapmaktadır. ING2b'nin promoter bölgesi p53 bağlanma bölgesi içermediğinden p53'ten bağımsız olarak fonksiyon görmektedir. ING2a ve ING2b hücre siklusu arresti ve apoptoziste kompensatuar bir rol oynamakta ve belkide kemoterapötiklere rezistanstans gelişiminde sorumlu olmaktadır. Nutlin-3a ve Adriamisin'in indüklediği p53 salınımı sonucu ING2a salınımı azalırken ING2b'nin değişmediği gösterilmiştir. Bu bilgiler insan fibroblast kültürlerinde yapılan çalışmalarda doğrulanmıştır.

ING ailesinin üyelerinde ING2 aminoasit homolojisi bakımından ING1'e en çok benzeyendir (Şekil 8). ING1 'in apoptozis ve hücre proliferasyonu üzerinde farklı etkileri bulunan 5 üyesinin bulunduğu rapor edilmiştir. Wang ve ark.'ları (130) ING2'nin N-terminalinde lösin fermuar modeline benzer bir bölgenin bulunduğunu ve bu bölgenin p53'ün modülasyonu ile p53 aracılığı ile kromotin remodelizasyonda ve apoptozisin başlatılmasında da etkili olduğu gösterilmiştir. Bu bağlanma bölgesinin fonksiyonu halen tam olarak anlaşılmamış olup; ING2a belkide p53 degradasyonunu hızlandırmakta veya p53'ü tamamen non-fonksiyone hale getirmektedir. p53 bakımından mutant olan hücrelerde hücre yaşamı tamamen ING2a ve 2b'ye bağlı olmakta ve birinin yokluğunda diğeri onu kompanse etmektedir.

Kumamoto ve ark.'ları (96) ING2' nin promoter bölgesinde p53 bağlanması ve ING2'nin down regülasyonunu sağlaması için 2 adet bağlanma bölgesi içermektedir. ING2 bir çok genin transkripsiyonunun regülasyonunda önemli bir role sahiptir.

Wang ve ark.'larının (133) p33^{ing2}'nin histon-4 asetilasyonu ve kromotin relaksasyonu ile nükleotid eksizyonu ve onarımı yaptığını göstermişlerdir. P33^{ing2}'nin genomik stabilite için gen transkripsiyonunu, hücre siklus arrestini ve p-53'e bağımlı olarak apoptozisi regüle ettiği bilinmektedir. P33^{ing2}'nin fizyolojik dozlarda bulunduğu zaman insan melanom hücrelerinde UV ile indüklenen apoptoziste rol aldığı daha önce gösterilmiş ve UV ile oluşan hücresel stres durumlarında p33^{ing1}'e benzer şekilde UV-hasarlı DNA'nın onarımını p53'e bağımlı olarak nükleotid eksizyon ve onarımı yolu ile sağladığı gösterilmiştir. Ayrıca p33^{ing2}'nin UV'nin indüklediği hızlı histon H4 asetilasyonu, kromotin relaksasyonu ve Xeroderma Pigmentosumda foto-lezyonları engellemeye çalışan grup A hasar tanıma proteinlerinin esansiyel komponentidir. Bu bigilerden ING2'nin DNA'daki hasarın algılanması, kromotin remodelizasyonu esnasında nükleotid eksizyon prosedürlerinde gerekli bir molekül olduğu düşünülmektedirler.

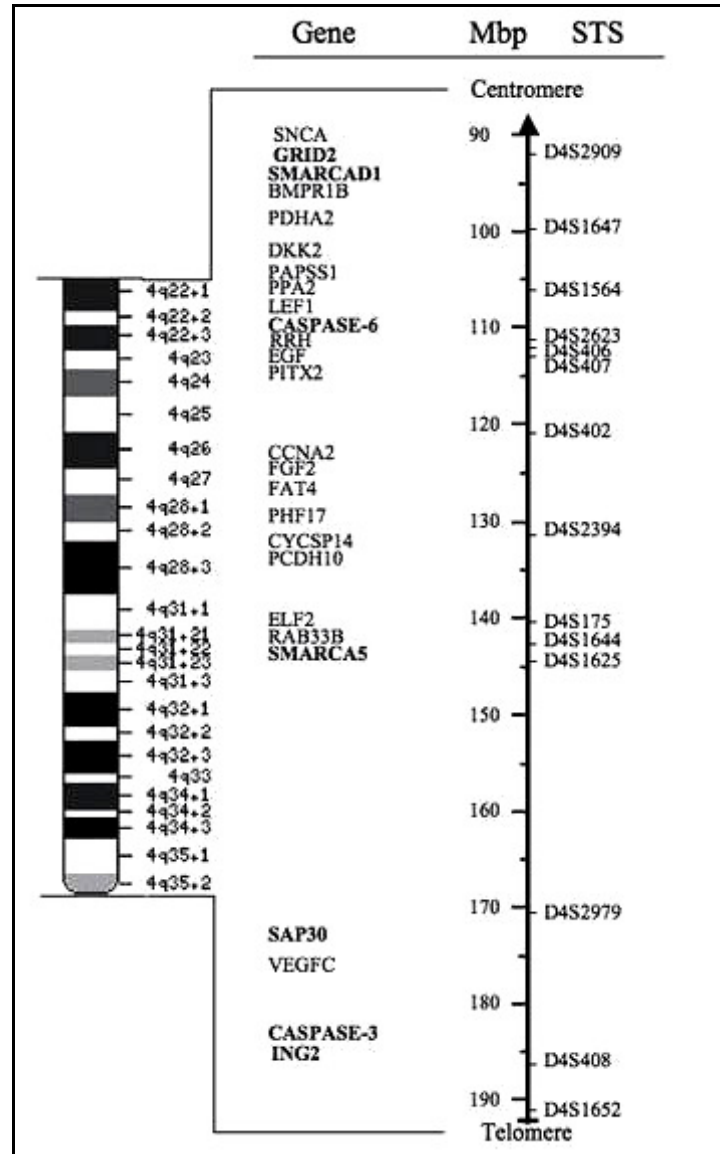
Unoki ve ark.'larının (134) yaptığı çalışmada ING-2'nin kanser tedavisinde moleküler hedef olarak işlev görüp görmediğinin incelendiği çalışmada ING protein ailesinin üyelerinin hücredeki düzeyine karsinogeneziste hem onkogen hem de TSG olarak fonksiyon görmektedir. Daha önce yapılan non-fizyolojik over-ekspresyon çalışmalarında tüm ING üyelerinin apoptozisi indüklediği ve hücre siklusunda arreste neden olması nedeniyle TSG olarak kabul edilmişlerdir. Bu nedenle bu proteinlerin kanser tedavisinde önemli

fonksiyonları olduğu bilinmektedir. Ancak ING-2’de tam tersi sonuçlar elde edilmiş, ING-2’nin azaldığı durumlarda insan fibroblastlarında ve kanser hücrelerinde büyümede azalma olduğu gösterilmiştir. ING-2 ayrıca kolorektal kanserlerde aşırı ekprese olduğu ve mmp13 yolağı üzerinden kanser hücrelerinin invazyonuna neden olduğu gösterilmiştir. ING-2a’nın ekspresyonu ING-2b’ye kıyasla daha fazla olup, bu iki izoformunda kanser hücrelerindeki miktarındaki azalma sonucu hücre siklusu arrestinde veya apoptoziste gelişen rezistansın bitmesinde önemli rol oynadığı bilinmektedir. Bu bilgiler ışığında ING-2’nin spesifik kanser tiplerinde onkogen gibi davranarak ve kanser progresyonuna neden olduğu ve potansiyel olarak kanser ilaçları için hedef oluşturmaktadır.

Nagashima ve ark.’larının (127) 2001’de yaptığı çalışmada etoposid ve neokarnazinle oluşturdıkları DNA hasarı ile indüklenen $p33^{ing2}$ salınımının $p53$ asetilasyonu aracılığı ile hücre proliferasyonunda negatif yönde etki ettiğini hücreyi G-1 fazında hücre siklus arresti ve apoptozisin başladığını göstermişlerdir. $P33^{ing1}$ proteini hücre siklusunu, yaşlanma ve apoptozisi regüle ettiği bildirilmiştir. $P33^{ing2}$,nin çok kuvvetli bir şekilde $p53$ ’ün transkripsiyonel transaktivasyonunda rol aldığı ayrıca $p33^{ing-2}$,nin ekspresyonundaki artışın $p53$ ’ün 382. pozisyonundaki lizinin asetilasyonunu sağladığı ve sonuç olarak DNA’da meydana gelen hasarlar sonucu $p33^{ing2}$ artışı ile $p53$ aktivitesinin artırılarak hücre proliferasyonunun negatif yönde regüle edildiği kaydedilmiştir.

ING2’nin Nf-Kb Yolağında ve Kromotin Remodelizasyonundaki Fonksiyonu

ING1’e benzer şekilde ING2 de Hsp70 ekspresyonunu arttırdığından Nf-Kb yolağında indirekt regülasyon yapmaktadır (108). ING2, ING1’e benzer şekilde Alien reseptörleri ile ilişkili olduğu (135), MSIN3 kompleksinden izole edildiği yani kromotin remodelizasyonunda fonksiyon gördüğü belirtilmiştir (100). Dahası ING2 ve 1 invivo ve invitro RBP1 proteini ile etkileştiği ve ING1’in karakteristik özelliklerini gösterdiği belirtilmiştir (136).



Şekil 8: ING2 Gen Haritası

2.3.4. ING 3 VE FONKSİYONLARI

ING3'ün Proliferasyon ve Apoptozisdeki Rolü

ING3 hücre siklusu ve apoptozisde ING1'e benzer şekilde fonksiyon görmektedir. Ektopik olarak ING3 verildiğinde RKO hücrelerinde koloni formasyonunda azalma S fazındaki hücre sayısında azalmaya neden olmaktadır (137). ING3'ün aşırı ekspresyonu UV etkisinde bırakılan hücrelerde Fas ekspresyonunda artışa, Bid bölünmesinde artışa, apoptoziste artışa neden olmaktadır. ING3'de ING2 gibi ekstrinsik yolla ölüm reseptörleri

üzerinden etki ediyor olabilir. Ancak diğer ING proteinlerinden farklı olarak ING3 replikatif yaşlanmada veya NER'ye olan etki bakımından benzemez ve p53 ile etkileşmez (138).

ING3 ve Kromotin Remodelizasyonu

ING3 hücre nükleus ekstresinde biyokimyasal olarak gösterilmiştir. ING3, p53, Nf-Kb, Myc, E2f1 için transkripsiyonel kofaktör ve transkripsiyonal aktivasyona bağımlı nükleer reseptör ve DNA hasarı ile oluşan apoptozis, metastaz süpresyonu ve embriyonik "stem cell"lerin tanımlanmasında fonksiyon görmektedir (139). Embriyogenez esnasında ING3 yokluğunda implantasyonda zayıflık ve lenfoma gelişiminde artış olmaktadır (140). Bu bilgiler nedeniyle Nua4/tip60 hat kompleksinin bir komponenti olduğu düşünülmektedir.

2.3.5. ING 4 VE FONKSİYONLARI

ING4'ün Hücresel Fonksiyonları

ING4'te ING-3'e benzer şekilde NER'yi regüle etmektedir. Bununla birlikte ING4'ün ektopik ekspresyonu RKO hücrelerinde koloni formasyonunu azaltarak S fazındaki hücre sayısını azaltmaktadır (137). ING4'ün aşırı ekspresyonu BAX ekspresyon düzeyi ile korele olmakta ve seruma bağlı indüklenmiş apoptoziste up-regülasyona neden olmaktadır (141). Böylece diğer ING proteinlerine benzer şekilde ING4 proteinide hücre siklusunu ve apoptozisi regüle etmektedir. Ancak diğer ING proteinlerinden farklı olarak ING4 proteini anjiogenezi ve hücre migrasyonunu değiştirmektedir.

ING4'ün Anjiogenez ve Hücre Migrasyonundaki Rolü

ING4 ile anjiogenezis arasındaki ilişki farelere yapılan kraniotomilerde glioblastom hücrelerinde kontrol gruplarına göre anlamlı bir şekilde farklılık olduğu gösterilmiştir (142). Multiple miyeloma hücrelerinde ING4'ün azalmış ekspresyonu proanjiojenik moleküller olan İL-8 ve osteopontinde azalmaya neden olmaktadır. Bununla birlikte multiple miyelom hastalarında ING4 ekspresyonundaki azalma ile mikrovasküler dansite artışı tespit edilmiştir (143).

ING4 ayrıca hücre migrasyonu, hücre yayılması ve kontakt inhibisyonunda etkilidir. ING4'ün ektopik ekspresyonu hücre kültürlerinde hücre yayılımı ve migrasyonunu azaltmaktadır (144). RKO hüclerelerinden spektroskopik analizle eskrakte edilen ING4'ün G3bp2a, Cop1b, Cabp1 ve çeşitli ribozomal proteinlerle etkileştiği gösterilmiştir (145). ING4

hücrelerin lamellipodia kısmında lokal adezyonu engelleyen Liprin- α 1 molekülü ile birlikte bulunmakta ve belki de ING4'ün hücre yayılımı ve migrasyonundaki etkilerinden sorumlu olabilir (146). İlgiç olarak ING4 kontakt inhibisyon kaybı olmuş hücrelerde aşırı ekspres edildiği belirlenmiştir. T47d meme kanseri hücrelerinin yumuşak agarda hücre sel büyüme özelliklerinin aşırı artmış ING4 ekspresyonu ile azaldığı belirlenmiştir (87).

ING4'ün, p53, Nf-Kb ve HIF-1 α Yolaklarındaki Fonksiyonları

ING4'ün p53, Nf-Kb ve HIF-1 α 'e bağlanarak onların fonksiyonunu regüle ettiği bilinmektedir. ING4'ün aşırı ekspresyonu ile p300'ün etkileri arttırılmakta ING4-p53 kompleksi oluşumu artmakta p53 asetilasyonu artmakta (147) buna rağmen bu asetilasyon sonucu oluşan etkiler bilinmemektedir. ING4'ün zorlu ekspresyonu glioblastoma hücrelerinde p65 (Rela) ile bağlanarak Nf-Kb yolağına etki etmektedir (142). Daha ileri analizlerde ING4'ün p65'in DNA'ya bağlanma aktivitesini azalttığı belirlenmiştir. Ayrıca plazmid aktarılmış hücrelerde Nf-Kb'ye bağımlı Lusiferaz aktivitesi artmaktadır. Bu bilgilerde anlaşıldığı üzere ING4 p65 ile etkileşerek Nf-Kb yolağının transkripsiyonal aktivitesini inhibe etmektedir. Hipoksik durumlarda ING4'ün azalması sonucu hedef gen olarak Nip3, Ak3'ü kullanan, HIF-1a'nin artışı ile sonuçlanır. ING4 ile HIF-1a'a arasında direk bir ilişki yokken HIF-1a'nin ekspresyonunu kontrol eden genlerle ilişkili olabilir ve belki de kromatin remodelizasyon enzimlerin etkisinede bağılı olabilir (99). Bununla birlikte ING4'ün melanoma hücrelerinde HIF-1a'nin oksijene duyarlı protein degradasyonunda süpresyonunda görevli Prolil Hidroksilaz-2 ile etkileşimi sonucu HIF-1a'nin süpresyonu ile sonuçlanır (143).

ING4 ve Kromatin Remodelizasyonu

ING4, HBO1-HAT kompleksinin bir komponentidir (148). HAT proteini histon h4'te asetilasyona neden olmakta, HBO1 ise DNA replikasyonunda S-fazının progresyonunda ve transkripsiyonunun regülasyonunda görev yapmaktadır. Ayrıca HBO1 anrojen reseptörleri ve Nf-Kb için koresptör olarak görev yapmaktadır. Bunun dışında p53'de HBO1 ile etkileşim halinde olup HBO1'in asetil transferaz aktivitesinde down regülasyona neden olmaktadır (149). ING4'ün HBO1 kompleksi üzerindeki düzenleyi etkileri için daha ileri araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

2.3.5. ING 5 ve FONKSİYONLARI

ING5 transkripsiyon ve hücre büyümesinin regülasyonunda etkili bir TSG dir. Biyokimyasal olarak ING5 ING4'e benzemektedir. ING5'de HBO1-HAT kompleksinin bir üyesi olup p53 ile etkileşmektedir. ING5, p300'ü güçlendirerek p53'ün 382. pozisyonundaki Lizinin asetilasyonuna neden olmaktadır. Ayrıca ING5, HAT kompleksinin indüklediği lösemi proteini içeren H3 spesifik histonun subunitidir. ING5 fonksiyonları ile ilgili bilinenler sınırlıdır. Ancak yapılan çalışmalardan ING5'in koloni formasyonunu engellediği, S-fazını inhibe ettiği ve p53'e bağlı olarak apoptozisi başlattığı görülmüştür. Ek olarak ING5 p53'ü hedef alan Siklin bağımlı kinaz inhibitörü p21'in ekspresyonunu artırır. Bu bilgilerden ING5'in hücre büyümesini ve p53'ün fonksiyonlarını regüle ettiği sonucuna varılmaktadır (147).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma için Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Yerel Etik Kurulu'ndan 24.05.2010 tarih ve 5/2010-10 karar no ile onay alındı. Çalışmada, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı'na derisinde iyileşmeyen yara şikayeti ile başvuran ve ön tanı olarak BCC olduğu kabul edilen 26 hastaya, hastalıkları ve yapılacak olan işlemler hakkında bilgilendirilip, hasta bilgilendirilmiş onam formu dolduruldu. Hastalara yapılacak genetik araştırma içinde ayrıca rıza formu okutularak rızaları alındı. Hastanın genel durumu ve hastalığın yaygınlığına bağlı olarak lokal ve/veya genel anestezi ile tedavi için ameliyata alındıklarında tümör eksizyonu sonrasında aynı hastanın tümörlü dokusundan ve makroskopik olarak tümör olmadığı bilinen dokularından 0,5 cm³ 'lük doku örnekleri alındı. Bununla birlikte hastadan alınanan spesmenler gerekli işaretlemler yapıldıktan sonra %10'luk formaldehit solüsyonu içinde patoloji laboratuvarına gönderilerek patolojik olarak çıkarılan lezyonun BCC olduğu doğrulandı. Hastalardan alınan tümörlü ve sağlam dokuları azot tankı içerisinde -193°C'de genetik laboratuvarına ulaştırılarak -80°C'de çalışma süresince muhafaza edildi. Alınan dokular moleküler genetik çalışmalar için Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik A.D. laboratuvarları kullanıldı.

3.1.ÇALIŞMAYA DAHİL EDİLEN HASTALAR VE ÖRNEK ALIMI

Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi kliniğine deri kanseri ön tanısı ile başvuran ve klinik olarak deri kanseri olduğu düşünülen hastalar yaş, cinsiyeti, mesleği, ailede BCC olup olmadığı, tümörün yerleşim yerleri, histolojik alt tipleri, nüks veya rekürren tümör olup olmadığı ve oluşan defektin kapatılmasında kullanılan yöntemler incelendi.

Çalışmaya dahil edilen hastaların özellikleri:

1. İlk defa BCC ön tanısı ile operasyona alınan hastalar
2. Tümör büyüklüğü patolojik ve genetik örnek alınacak kadar büyük olan hastalar,
3. Genetik çalışmaya kendi rızası ile katılan hastalar,

4. Daha önce vücudunun başka bir bölgesinden çıkarılan lezyonun BCC olarak rapor edildiği hastalar

Çalışmaya dahil edilmeyen hastaların özellikleri:

1. Daha önce BCC tanısı ile opere edilmiş ve ülsere lezyonu olmayan hastalar
2. Tümör büyüklüğü patolojik ve genetik örnek alamayacak kadar küçük olan hastalar,
3. Genetik çalışmaya rızası olmayan hastalar,
4. Daha önce vücudunun başka bir bölgesinden çıkarılan lezyonun SCC olarak rapor edildiği hastalar.

3.2.CERRAHİ UYGULAMALAR

BCC olduğu düşünülen hastalarda, lezyonun en uygun şartlarda makroskopik olarak en az 0.5 cm sağlam cerrahi sınırla eksizyonu yapıldıktan sonra spesimenden 0.5 cm³'lük tümörlü doku ile makroskopik olarak sağlam olduğu bilinen lezyona komşu dokusundan 0.5 cm³'lük tümör içermeyen doku örnekleri alındı. Oluşan defektler lezyonunun lokalizasyonu, büyüklüğü ve şekline bağlı olarak greftleme ve/veya uygun flep seçeneklerinden birisi kullanılarak kapatıldı.

3.3.GENETİK-MOLEKÜLER ANALİZLER

Çalışmaya dahil edilen hastalardan histopatolojik tanısı BCC olarak rapor edilen 26 hastadan alınan doku örnekleri moleküler genetik incelemelere ve ING-2 ekspresyon düzeylerine bakılmak üzere genetik laboratuvarına azot tankı içerisinde sıvı nitrojen ile -193 °C'de gönderildi, laboratuvara ulaşan dokular -80°C'de muhafaza edildi.

3.3.1.Dokudan RNA elde edilmesi

Azot tankı içerisinde moleküler genetik laboratuvarına ulaştırılan doku örnekleri (tümörlü ve sağlam dokular) 25 mg'lık parçalara ayrılarak parçalayıcı (homojenizatör) (Kinematica, Gmdh, Switzerland) ile parçalandı. Homojenizatör her kullanımdan sonra, bulaşmayı önlemek için doku örneği kalmayacak şekilde temizlendi.. High Pure RNA Tissue Kit (Roche, Cat. No. 12 033 674 001, Mannheim, Germany) aracılığıyla üretici firmanın önerdiği yöntem ile RNA'lar da elde edildi. Dondurulmuş dokudan elde edilen 25 mg'lık doku püresi 1,5 ml'lik

bir tüpe alındı ve üzerine 400 µl Çözme/Bağlama Tamponu (Lysis/Binding Buffer) (4,5 M guanidine- HCL, 100 mM sodium phosphate pH 6,6) eklendi ve 2 dakika 13.000xg'de santrifüj edildi. Santrifüj aşamasından sonra üstteki sıvı alınarak üzerine 200 µl etanol eklendi ve iyice karıştırıldı. Örnekler filtre tüp üzerine konuldu ve 30 saniye 13.000xg'de santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında filtre tüp üzerine 90 µl DNase Incubation Buffer (1 M NaCl, 20 mM Tris-HCl, 10 mM MnCl₂, pH 7.0) ve 10 µl DNase I ile hazırlanan çözelti eklendi ve 15 dakika oda sıcaklığında bekletildi. 500 µl Yıkama Tamponu I (Wash Buffer I) (5 M guanidine-HCl, 20 mM Tris-HCl, pH 6,6) filtre tüpü üzerine konuldu ve 15 saniye 8.000xg'de santrifüj edildi. Santrifüj sonrası filtre tüpü üzerine 500 µl Yıkama Tamponu II (Wash Buffer II) (20 mM NaCl, 2 mM Tris-HCl, pH 7.5) eklenerek 15 saniye 8000xg'de santrifüj edildi. Daha sonra 300 µl yıkama Tamponu II (20 mM NaCl, 2 mM Tris-HCl, pH 7.5)'den eklendi ve 13.000xg'de 2 dakika santrifüj edildi. Filtre tüpü 1,5 ml'lik steril bir tüple birleştirildi ve filtre tüpü üzerine 100 µl Süzme Tamponu (Nuclease-free, sterile, double distilled water) eklendi. 1 dakika 8.000xg'de santrifüjden sonra RNA'lar filtre tüpten alınmış oldu ve -85 °C'de saklandı.

3.3.2.cDNA sentezi

Bu çalışmada cDNA'lar Precision qScript reverse transkription kiti kullanılarak sentezlendi. PCR koşulları ve PCR karışımı, kullanılan Kit'de belirtildiği şekilde yapıldı (Tablo2)

Tablo 2: cDNA sentezi karışımı

Primer	1.0 µl
qScript 10X Buffer	2.0 µl
dNTP karışımı 10mM	1.0 µl
DTT 100mM	2.0 µl
RNase/DNase free su	8.0 µl
qScript enzim	1.0 µl
RNA örneği	5.0 µl
Toplam hacim	20 µl

cDNA sentezi, 65 °C’de 5 dakika, 55 °C’de 20 dakika, 75 °C’de 15 dakika olacak şekilde PCR cihazı ayarlanarak gerçekleştirildi.

3.3.3.Real Time PCR ile ING2 Gen ekspresyonunun tespiti

NM-001564 numaralı ING2 bölgesi ING2-sense ve ING2-Antisense primerleri ile çalışıldı (Tablo 3).

Tablo 3. ING2 primer dizisi

	Primer	Tm
Sense	5'-ATAGTCAAGAATTGGGAGATGAAAAA-3'	56.4
Antisense	5'-CTCGTTCACTTTTCAGCAGGAT-3'	56.6

Housekeeping gen olarak β -Aktin kullanıldı. Primer design Precision 2X qPCR mixi kullanılarak PCR yapıldı (Tablo 4).

Tablo 4. ING2/ β -Aktin RT-PCR Şartları

	ING2 mix	Beta Aktin mix
Precision 2X qPCR mix	10 μ l	10 μ l
ING2 Primer	1 μ l	1 μ l
Rnase- free water	4 μ l	4 μ l

Hazırlanan her bir mix her hasta için 15 μ l 0.1 lik tüplere dağıtıldı üzerine 5 μ l 50 ng’ a dilüe edilmiş cDNA ilave edildi. 95 °C’de 10 dak, 50 siklus 15 sn. 95 °C, 60 sn 60 °C PCR şartlarına tabi tutuldu. Gen ekspresyonunun seviyesi ING2 ve Beta aktin Ct değerleri hesaplanarak belirlendi.

3.4. SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışma sonunda çalışma kriterlerine uygun olan hastalar kendilerinin kontrol grubunu oluşturmak üzere iki gruba ayrıldı:

Grup 1 (Kontrol grubu: makroskopik olarak tümör içermeyen dokulardan ING-2 bakılan grup)

Grup 2 (Tümörlü doku alınarak ING-2 bakılan grup)

Hastalardan elde edilen tümörlü ve normal dokulardaki ΔC_T (Threshold Cycle) değerlerinin hesaplanmasında ING2 C_T değerleri ile house keeping olarak değerlendirilen β -aktinin C_T değerleri oranlanarak hesaplandı. Kopya sayısının değerlendirilmesinde şu formül kullanıldı. Kopya sayısı $= 2^{\Delta C_T}$

3.4.1. KLİNİK DEĞERLENDİRME

Hastaları yaşı, cinsiyeti, mesleği, ailede BCC olup olmadığı, tümörün yerleşim yerleri, oluşan defektin kapatılmasında kullanılan yöntem, nüks veya rekürren tümör olup olmadığı değerlendirildi.

3.4.1.2. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME

Hastalardan alınan tümörlü dokular patolojik incelemeler için gerekli işaretlemler yapılarak %10'luk formaldehit solüsyonu içerisinde tespit edildikten sonra patoloji laboratuvarına ulaştırıldı. Doku örnekleri parafin bloklara gömüldü. Mikrotomla 4 mikronluk kesitler alındı. Kesitler; Hematoksilen Eozin (H&E) boyası ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi. Histopatolojik değerlendirmede BCC veya bazoskuamoz hücreli karsinom (BSCC) tanılanarı doğrulandı.

3.4.1.3. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Çalışma sonunda alınan veriler kaydedildi. Elde edilen veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak düzenlendi. Gruplar arasındaki klinik, moleküler genetik değerlendirme verilerinin incelenmesinde GraphPad Prism-5 istatistik paket programı kullanılarak değerlendirme yapıldı. D'Agostino & Pearson omnibus normality test yapılarak grupların normal dağılımlı olup olmadığı tespit edildi. Mann Whitney-U testi ile gruplar istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Gruplar arasında 0.05 değerinin altındaki p değerleri %95'lik güven aralığında istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

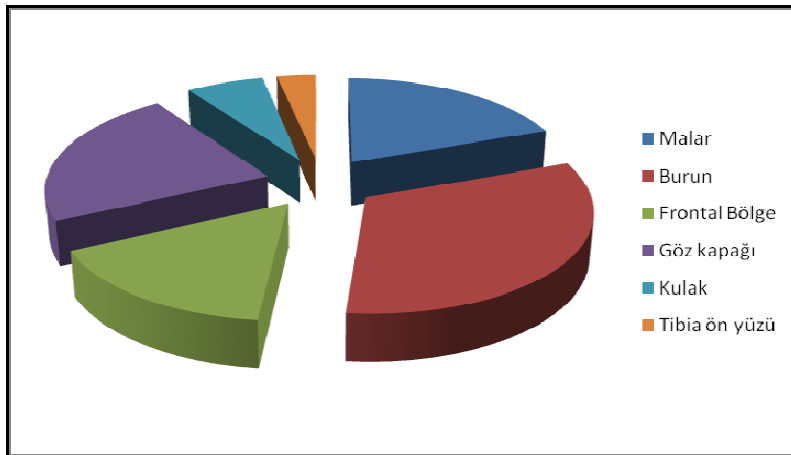
4.BULGULAR

4.1. KLİNİK BULGULAR

Çalışma sonunda parça alınan hastalardan 26'sının histopatolojik tanısının BCC olduğu tespit edildi. Ortalama 1.5 ± 0.5 yıl takip edilen ve yaş ortalaması 66 olan bu hastaların 13'ünün erkek 13'ünün kadın olduğu tümörlerin yerleşim yerlerine bakıldığında ise çoğunluğunun burunda yerleşmiş olduğu belirlendi (Tablo 5, Şekil 9)

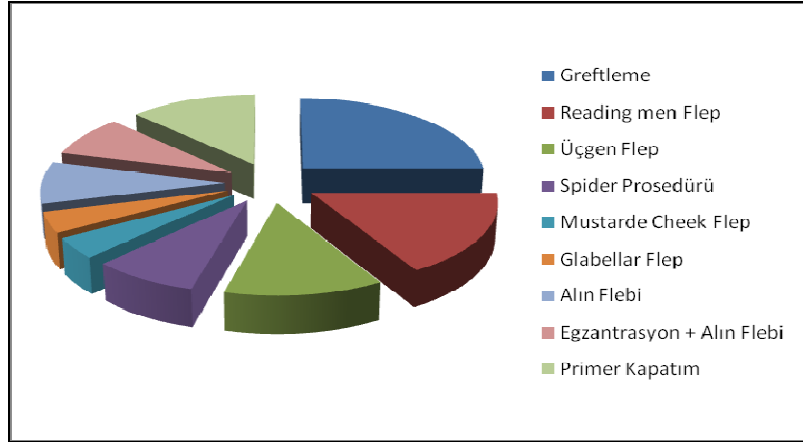
Tablo 5: Tümörlerin Yerleşim Yerleri

Tümörün yerleşim yeri	Hasta sayısı
Burun	10
Göz kapağı	8
Malar	6
Frontal	5
Kulak	2
Tibia ön yüzü	1



Şekil 9: Tümörlerin Yerleşim Yerleri

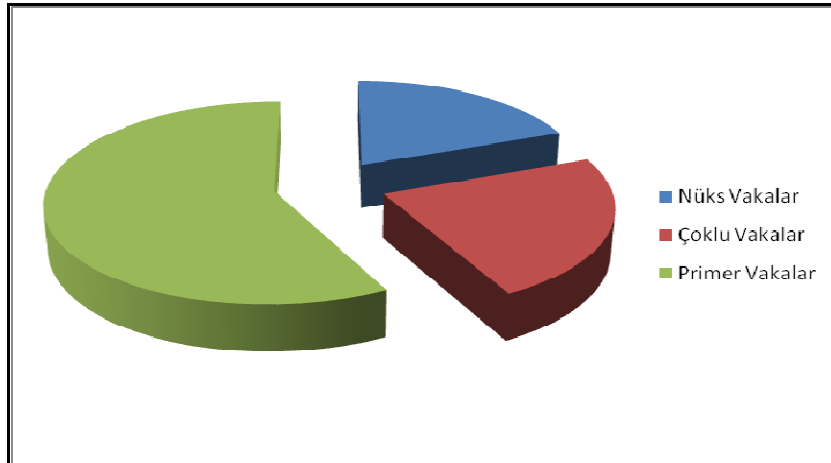
Hastalarda oluşan defektlerin kapatım yöntemleri incelendiğinde 3 hastanın defketinin primer kapatıldığı, 6 hastaya greftle defekt kapatımı yapıldığı, diğer hastalarda ise değişik flep seçenekleri ile defekt kapatımı yapıldığı belirlendi. (Tablo 6, Şekil 10)



Şekil 10: Oluşan Defektlerin Kapatımında Kullanılan Cerrahi Yöntemler

4.2. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

Hastaların histopatoloji sonuçları incelendiğinde 3 hastada bazoskuamoz hücreli karsinom, 23 hastada ise BCC olduğu bu olguların 15'inin ilk defa BCC tanısı aldıkları 6 hastada çok sayıda eş zamalı lezyon bulunduğu 5 hastada nüks gerçekleştiği belirlendi.(Tablo 6, Şekil 11)



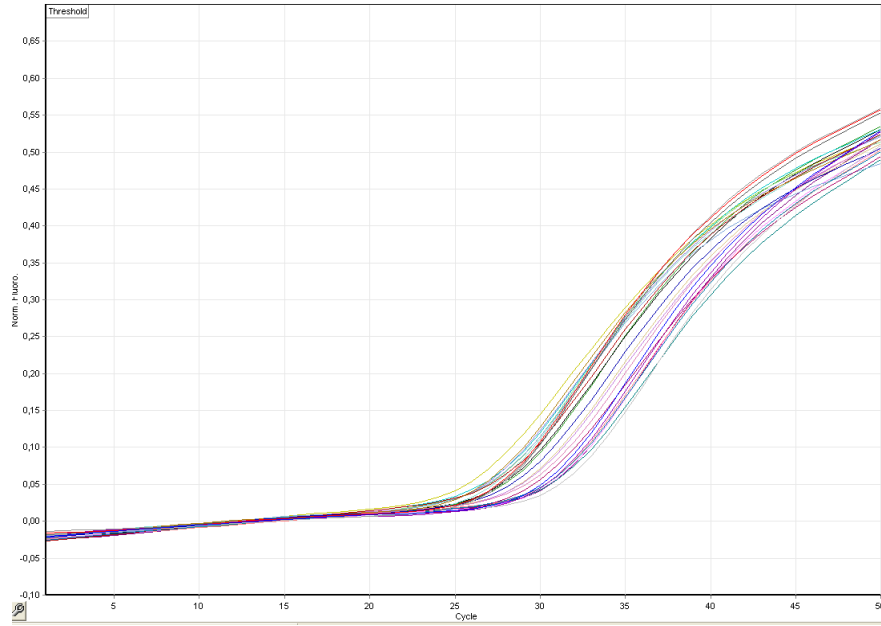
Şekil 11: Lezyonların Histopatolojik Karakteristikleri

Tablo 6: Hastaların Demografik Özellikleri, Defekt Kapatım Yöntemleri Ve Tanıları

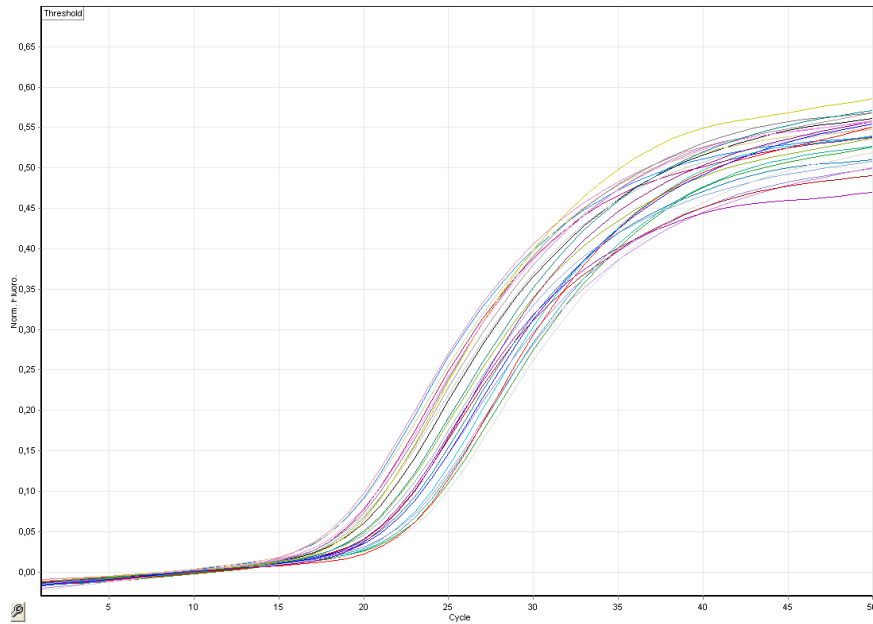
Olgu No	YAŞ	LEZYON YERLEŞİM YERİ	DEFEKT KAPATIMINDA KULLANILAN YÖNTEM	TANI	NÜSK/ÇOKLU
1	56	Sağ nazolabial sulkus	Primer kapatım	BCC	
2	72	Burun dorsumu	Reading men flep	BCC	
3	78	Sol frontotemporal bölge	Spider Prosedürü	BCC	
4	63	Burun sol kenarı	Reading men flep	BCC	
5	54	Sol alt ve üst göz kapağı	Üçgen+ Fricke flep	BCC	
6	56	Sağ alt ve üst göz kapağı lateral kantus	Üçgen+ Fricke flep	BCC	Çoklu nüks
7	57	Alın, burun, malar bölge	Greftleme	BCC	Çoklu nüks
8	44	Tibia anterioru	Greftleme	BSCC	
9	76	Sol preauriküler bölge, sağ alt göz kapağı	Greftleme+egzantrasyon+alın flebi	BCC	Çoklu nüks
10	79	Burun dorsumu	Alın flebi	BCC	
11	84	Sağ lateral kantal bölge	Spider Prosedürü	BCC	
12	70	Sol infraorbital bölge	Mustarde cheek flep	BCC	
13	79	Yüzde multiple BCC	Primer kapatım	BCC	Çoklu
14	90	Sağ malar bölge	Reading men flep	BCC	
15	63	Sağ medial kantal bölge	Glabellar flep	BCC	
16	63	Burun dorsumu	Greftleme	BSCC	
17	54	Sağ kulak ve sol frontal bölge	Reading men flep+primer kapatım+Greftleme	BCC	Çoklu
18	68	Sağ alt göz kapağı BCC	Üçgen flep	BCC	
19	69	Burun dorsumu	Greftleme	BCC	Nüks
20	61	Sol alt göz kapağı	Egzantrasyon+Alın flebi	BCC	Nüks
21	53	Burun dorsumu	Limberg flep	BCC	
22	57	Burun sol alar kanadı	Greftleme	BCC	
23	74	Sol frontotemporal bölge	Greftleme	BCC	
24	70	Burun dorsumu	Eksizyon+açık bırakma	BCC	
25	74	Sağ kulak heliksi	Primer kapatım	BCC	
26	68	Burun orsumu ve sol frontal böge	Primer kapatım +greftleme	BSCC	Çoklu BCC

4.3.GENETİK-MOLEKÜLER ANALİZ BULGULARI

Hastalardan alınan tümörlü ve normal dokuların Real-Time PCR ile ING2 ve β -aktin genlerinin m-RNA ekspresyonlarının sonuçları Şekil 12,13 ile Tablo 7,8’de gösterilmiştir.



Şekil 12. Real Time RT PCR ile ING2 Gen Ekspresyonunun Tespiti



Şekil 13. Real Time RT PCR ile Beta Aktin Gen Ekspresyonunun Tespiti.

β -aktin yapısal bir protein olduğundan referans olarak (House Keeping) alınarak ING2'deki değişimler değerlendirildi. Tümörlü dokulardaki ING2 m-RNA ekspresyonlarının normal dokulara azaldığı ve bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi (Tablo7, Şekil 14).

Tablo7: Hastaların Genetik Analiz Sonuçları

RNA No	Olgu No	Doku Türü	ING2(C _T)	β -AKTİN(C _T)	m-RNA Oranları
1	1	N	27,92	20,01	1,23987
2	1	T	26,59	15,37	
3	2	N	27,25	19,46	0,869728
4	2	T	25,6	21,02	
5	3	N	27,5	20,6	1,231733
6	3	T	25,98	15,8	
7	4	N	28,14	19,51	1,122208
8	4	T	25,93	16,02	
9	5	N	26,8	20,25	1,320359
10	5	T	23,87	13,66	
11	6	N	36,3	23,46	1,139194
12	6	T	29,86	16,94	
13	7	N	31,56	19,39	0,976705
14	7	T	25,69	16,16	
15	8	N	27,54	19,41	1,029165
16	8	T	25,89	17,73	
17	9	N	33,41	22,3	1,004451
18	9	T	27,78	18,46	
19	10	N	25,53	18,01	1,031145
20	10	T	21,56	14,75	
21	11	N	30,5	23	1,035184
22	11	T	30,42	22,16	
23	12	N	33,68	23,49	1,100584
24	12	T	30,44	19,29	
25	13	N	30,19	21,61	1,104138

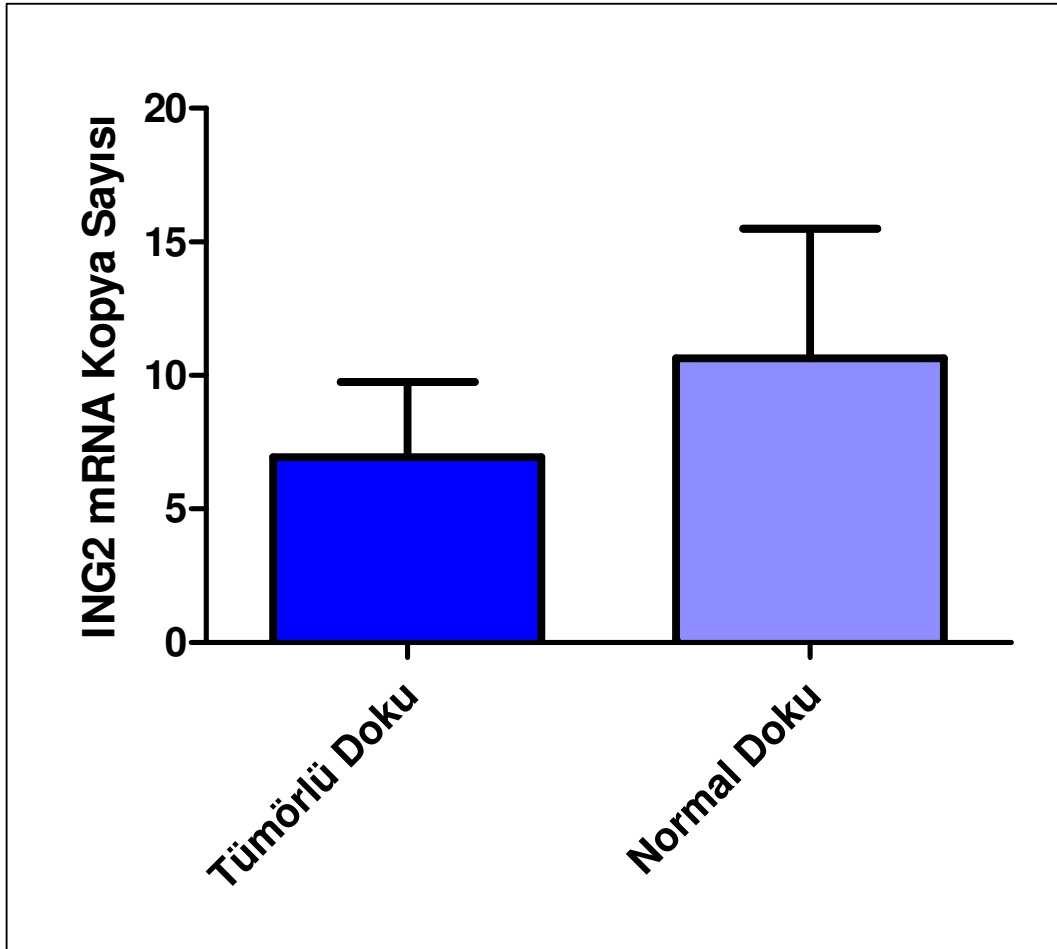
26	13	T	27,75	17,99	
27	14	N	36,4	27,5	0,914686
28	14	T	27,58	22,78	
29	15	N	26,44	20,12	1,03854
30	15	T	28,66	21	
31	16	N	26,82	21,61	1,228723
32	16	T	27,19	17,83	
33	17	N	26,76	20,56	1,280038
34	17	T	26,64	15,99	
35	18	N	28,69	19,94	0,919081
36	18	T	29	21,93	
37	19	N	26,91	20,79	1,29609
38	19	T	26,54	15,82	
39	20	N	23,47	20,51	1,068442
40	20	T	22,79	18,64	
41	21	N	30,15	22,44	1,112072
42	21	T	28,15	18,84	
43	22	N	30,24	19,01	0,990499
44	22	T	29,48	18,71	
45	23	N	32,61	25,71	1,096839
46	23	T	31,01	22,29	
47	24	N	27,65	19,18	1,06462
48	24	T	32,23	21	
49	25	N	27,52	20,75	1,120166
50	25	T	27,41	18,45	
51	26	N	33,96	24,6	1,092408
52	26	T	29,95	19,86	

Tablo 8: Tümörlü Dokulardaki Sonuçlar

RNA NO	OLGU NO		ING2(C _T)	β-AKTİN(C _T)	(Δ C _T)	Mrna/hc sayısı	Total m-RNA miktarı
2	1	T	26,59	15,37	11,22	0,000419	0,419221
4	2	T	25,6	21,02	4,58	0,04181	41,81024
6	3	T	25,98	15,8	10,18	0,000862	0,862015
8	4	T	25,93	16,02	9,91	0,001039	1,039424
10	5	T	23,87	13,66	10,21	0,000844	0,844275
12	6	T	29,86	16,94	12,92	0,000129	0,129031
14	7	T	25,69	16,16	9,53	0,001353	1,352646
16	8	T	25,89	17,73	8,16	0,003496	3,496192
18	9	T	27,78	18,46	9,32	0,001565	1,56459
20	10	T	21,56	14,75	6,81	0,008912	8,912217
22	11	T	30,42	22,16	8,26	0,003262	3,262062
24	12	T	30,44	19,29	11,15	0,00044	0,440064
26	13	T	27,75	17,99	9,76	0,001153	1,153313
28	14	T	27,58	22,78	4,8	0,035897	35,89682
30	15	T	28,66	21	7,66	0,004944	4,944362
32	16	T	27,19	17,83	9,36	0,001522	1,521806
34	17	T	26,64	15,99	10,65	0,000622	0,622344
36	18	T	29	21,93	7,07	0,007442	7,442484
38	19	T	26,54	15,82	10,72	0,000593	0,592869
40	20	T	22,79	18,64	4,15	0,056328	56,32815
42	21	T	28,15	18,84	9,31	0,001575	1,575472
44	22	T	29,48	18,71	10,77	0,000573	0,572673
46	23	T	31,01	22,29	8,72	0,002371	2,371474
48	24	T	32,23	21	11,23	0,000416	0,416326
50	25	T	27,41	18,45	8,96	0,002008	2,008035
52	26	T	29,95	19,86	10,09	0,000918	0,917503

Tablo 9: Normal Dokulardaki Sonuçlar

RNA NO	OLGU NO		ING2(C _T)	β-AKTİN(C _T)	(Δ C _T)	Mrna/hc sayısı	Total m-RNA miktarı
1	1	N	27,92	20,01	7,91	0,004158	4,157696025
3	2	N	27,25	19,46	7,79	0,004518	4,518313218
5	3	N	27,5	20,6	6,9	0,008373	8,373230176
7	4	N	28,14	19,51	8,63	0,002524	2,524126622
9	5	N	26,8	20,25	6,55	0,010672	10,67218951
11	6	N	36,3	23,46	12,84	0,000136	0,13638759
13	7	N	31,56	19,39	12,17	0,000217	0,217002608
15	8	N	27,54	19,41	8,13	0,00357	3,569654102
17	9	N	33,41	22,3	11,11	0,000452	0,452435577
19	10	N	25,53	18,01	7,52	0,005448	5,448217447
21	11	N	30,5	23	7,5	0,005524	5,524271728
23	12	N	33,68	23,49	10,19	0,000856	0,856060275
25	13	N	30,19	21,61	8,58	0,002613	2,613139755
27	14	N	36,4	27,5	8,9	0,002093	2,093307544
29	15	N	26,44	20,12	6,32	0,012517	12,51671684
31	16	N	26,82	21,61	5,21	0,027017	27,01678848
33	17	N	26,76	20,56	6,2	0,013602	13,60235255
35	18	N	28,69	19,94	8,75	0,002323	2,322670146
37	19	N	26,91	20,79	6,12	0,014378	14,37793204
39	20	N	23,47	20,51	2,96	0,128514	128,5142283
41	21	N	30,15	22,44	7,71	0,004776	4,775938585
43	22	N	30,24	19,01	11,23	0,000416	0,416325631
45	23	N	32,61	25,71	6,9	0,008373	8,373230176
47	24	N	27,65	19,18	8,47	0,00282	2,82017421
49	25	N	27,52	20,75	6,77	0,009163	9,162773041
51	26	N	33,96	24,6	9,36	0,001522	1,52180582



Şekil 14: Tümörlü ve Normal Dokularda ING2 mRNA Kopya Sayıları

4.4.İSTATİSTİKSEL BULGULAR

Bu çalışmada 26 hastadan elde edilen toplam 52 adet tümörlü ve normal doku kullanıldı. Tümörlü dokuların ING2 mRNA kopya sayısı (ING2/ β -Aktin) $6,94 \pm 2,82$ normal dokunun $10,64 \pm 4,86$ olarak bulundu. Veriler Mann Whitney-U testi kullanılarak incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0,0235$)(Tablo 10,11).

Tablo10: Verilerin Norma Dağılım Analiz Tablosu

	Tümör	Normal
Açıklama	26	26
En düşük değer	0,1290	0,1364
25% Yüzdelik	0,6150	1,950
Ortanca	1,437	4,338
75% Yüzdelik	3,858	9,540
En yüksek değer	56,33	128,5
Ortalama	6,942	10,64
Std. Sapma	14,37	24,79
Std. Hata	2,819	4,861
% 95 Güven aralığı ort altı	1,137	0,6265
% 95 Güven aralığı ort üstü	12,75	20,65
D'Agostino & Pearson omnibus normality test		
K2	30,02	59,32
P değeri	P<0.0001	P<0.0001
Passed normality test (alpha=0.05)?	No	No
P value summary	***	***
Toplam	180,5	276,6

Tablo11: Verilerin İstatistiki Analiz Tablosu

Table Analyzed	Data 1
Sütun A	Tümörlü Doku
Karşılık	Karşılık
Sütun B	Normal Doku
Mann Whitney test	
P Değeri	0,0235
Yaklaşık veya tam p değeri nedir?	Gaussian Approximation
P değeri toplamı	*
Ortancaların farkı anlamlı mı? (P < 0.05)	Yes
Tek veya iki uçlu P değeri?	One-tailed
Sütun A,B kategorilerinin toplamı	580 , 798
Mann-Whitney U	229,0

5. TARTIŞMA

Hücre siklusu iki sınıf gen tarafından kontrol edilmektedir. Hücresel büyümeyi stimüle eden protoonkogenler ve hücresel büyümeyi inhibe eden TBG dir.. Bu genlerde gerçekleşen mutasyonlar hücre büyümesinde neoplastik transformasyona doğru ilerlemeye neden olmaktadır. Başlangıçta hücre döngüsünü düzenleyen genlerde mutasyonlar sonucu genomik yapı mutasyona uğrar. Daha sonra hücre içi ortamda değişiklik olur ve son olarak genetik değişikliklerle malign transformasyon tamamlanır.

TBG'ler hücresel düzeyde hücre siklus arresti, hücre yaşlanması, DNA onarımı, sinyal transdüksiyonu, apoptoz, kromotin remodelizasyonu ve/veya histon modifikasyonu ile gen ekspresyonunda değişimler gibi birçok fonksiyon görmektedir. UV radyasyon maruziyeti TBG'de mutasyonlara yol açmaktadır.

Deri kanserlerinde yapılmış olan mikrolelesyon analizlerinde özellikle kromozom 1p, 2q, 3p, 4q, 7q, 8p, 10p, 12p,13q, 17p ve 22q da yüksek oranda mikrolelesyon bulunmuştur. Bu bölgelerde bazı tümör baskılayıcı genlerin de bulunduğu görülmektedir. Örneğin 2q37 bölgesinde ING5, 4q24 bölgesinde ING2, 7q31 bölgesinde ING3, 12q13 bölgesine ING4, 13q33-34 bölgesinde ING1 geni ve 17p bölgesinde p53 geni bulunduğu bilinmektedir (16-20).

BCC mortalitesi düşük, yavaş ilerleyen ve lokal invazyon gösteren olan ancak en sık görülen kanserlerdendir. BCC patogenezi açıklamaya dönük çabalar nedeniyle deri kanserlerinde ras onkogeni, p53 ve PATCHED (PTCH) tümör baskılayıcı gen gibi çeşitli genler çalışılmıştır (43). Jin ve ark.'larının (150) yaptığı çalışmaya göre kromozom 4q kayıpları ile BCC arasında korelasyon olabileceği fikrine varılmıştır. Sironi ve ark.'larının 2004 (1) yılında BCC'lerde heterozigodite kaybı (LOH) ile ilgili çalışmasında kromozom 4q32-35 lokalizasyonundaki bölgede heterozigodite kayıp oranlarının diğer bölgelere oranla daha yüksek oranda bulunmuştur. 19 BCC tanısı almış hasta üzerinde yaptıkları çalışmada tümörlü dokular ve aynı hastaları kontrol grubu

olarak ise kan örnekleri alınarak incelenmiş. 19 vakada başka bir TBG'lerin ilgili olup olmadığını araştırmak için heterozigotluk kaybına bakılmış ve sonuç olarak sporadik BCC gelişimi ile ilgili olarak 4. kromozomun uzun kolunun sorumlu olabileceği vurgulanmıştır. Delesyon tespit edilen 4q32-35 bölgesindeki gendeki delesyon sonucu hücre siklusunun kontrol noktasını düzenleyen p53, ING-2 ve ING-1 ve sap-30 gibi genlerin bulunması nedeniyle bu genlerdeki değişimlerin tam olarak belirlenebilmesi için daha ileri araştırmalara ihtiyaç olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada kontrol grubu olarak kandan izole edilen m-RNA ların kullanılması çalışmanın zayıf yönünü oluşturabilir. Bizim yaptığımız çalışmada ise her hastanın sağlam deri örnekleri kontrol grubunu oluşturmaktadır.

ING-2 hücre büyümesini negatif yönde etkiler ve p53 TBG'nin asetilasyonu ile onu aktive eder. DNA hasarlanması sonucu p-53 DNA'ya sıkıca bağlanır ve transkripsiyonal aktivasyon gerçekleşir (151). Unoki ve ark.'larının (132) yaptığı bir çalışmada ING ailesinin üyelerinden ING 2'nin bir alt varyantını izole etmişlerdir. ING-2b olarak adlandırdıkları bu gen ING-2a ile aynı exon üzerinde yer almakta ve p53 bağlandığı bir N-terminali içermemektedir. Ing2a ve b'nin promotor bölgesinde p53 bağlanma bölgesi bulunmamaktadır. p53 aktivasyonlarında ING 2a süprese olurken ING 2b etkilenmemektedir. ING2a yalnızca p53 varlığında hücre büyümesini engellerken; ING2b hücre büyümesi üzerinde etkili olmayıp hücre çoğalma siklusunda duraklama ve apoptozisde aşağı yönde bir regülasyona neden olmakta ve bunu p53'den bağımsız olarak yapmaktadır. ING2b'nin promoter bölgesi p53 bağlanma bölgesi içermediğinden p53'ten bağımsız olarak fonksiyon görmektedir. Wang ve ark.'ları (130) ING2'nin N-terminalinde lösin fermuar modeline benzer bir bölgenin bulunduğunu ve bu bölgenin p53'ün modülasyonu ile p53 aracılığı ile kromotin remodelizasyonda ve apoptozisin başlatılmasında da etkili olduğu gösterilmiştir. ING2a ve ING2b hücre siklüs arresti ve apoptoziste kompensatuar bir rol oynamakta ve belkide kemoterapötiklere rezistanstans gelişiminde sorumlu olmaktadır. Nutlin-3a ve Adriamisin'in indüklediği p53 salınımı sonucu ING2a salınımı azalırken ING2b'nin değişmediği gösterilmiştir. Bu bilgiler insan fibroblast kültürlerinde yapılan çalışmalarla da doğrulanmıştır.

2008 yılında Çetin ve ark.'larının (152) yaptığı bir çalışmada baş boyun kanserlerinde kromozom 4q32-35 lokalizasyonunda LOH kaybının diğer bölgelerden

daha çok olduğu gösterilmiştir. 2005 yılında Shinno ve ark.'larının (153) oral kanserlerde yaptıkları kromozom 4q22-35 lokalizasyonunda LOH heterozigodite kaybı çalışmalarında kromozom kayıplarının %60 civarlarında olduğu gösterilmiştir.

Bizim yaptığımız çalışma da daha önce yapılan çalışmalar da 4q32-35 lokusundaki genlerden bazıları tümör süpressör gen adayı olarak tanımlanmışken biz bunlardan ING gen ailesinin bir üyesi olan ING2 geninin durumunu inceledik. Bizim çalışmamız sonucunda ING2'nin tümörlü dokulardaki ekspresyon miktarının düşmüş olması haplo-insufficiency olması nedeniyle kanser gelişimine neden olarak gösterilebilir. A. Knudson 1971 (12) yılında yayınlamış olduğu çift vuruş hipotezinin 2. basamağındaki vuruşta kanser gelişimine gerekçe olarak m-RNA ekspresyon miktarında azalma veya gende bir mutasyon sonucu kanser gelişimi olarak ifade edilmiştir. Bizim çalışmamızda 2. vuruştaki m-RNA ekspresyon azalması kanser gelişimine sebep olmuş olabilir. Bu iddianın doğrulanabilmesi için yeni çalışmalara ve tetkiklere ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- ING proteinlerinin hücresel büyüme, apoptozis, DNA onarımı ve yaşlanma gibi birçok hücresel olayı düzenledikleri ve hücre siklusunun ilerlemesinde kontrol noktalarında görev aldıkları tespit edildi.
- ING gen ekspresyonundaki değişimlerin değişik kanser türlerinin gelişimi veya progresyonunda ve kanser hücrelerinin kemoterapötiklere yanıtında etkili olduğu tespit edildi.
- Bu çalışma sonunda ING2 geninin BCC'lerde bir TBG olduğu belirlendi.
- Tümörögenезis ile ilgili her ING üyesinin ayrı ayrı birçok fonksiyonlarının moleküler düzeyde nasıl gerçekleştiğinin tespiti ile ilgili daha ileri moleküler genetik çalışmalara ihtiyaç vardır.
- Karsinogenez de DNA değişikliklerinin yakın bir gelecekte malign hastalıkların erken taranması önlenmesi ve tedavisinin geliştirilmesi için daha spesifik yolları bulmamıza yardımcı olacağına inanmaktayız.
- ING2 geni daha ileri tekniklerle fonksiyon analizi sonucunda BCC'lerde etkisi tam olarak belirlendikten sonra deneysel gen terapi çalışmaları yapılması hedeflenmektedir.
- ING genlerinin aktivitelerinden istifade edilerek özellikle kemoterapötik ilaç etkinliğinin arttırılması veya etkili olan konsantrasyonların azaltılarak diğer organ ve sistemler üzerindeki yan etki ve toksik etkilerin önlenmesi sağlanabilir.

7. KAYNAKLAR

1. Sironi E, Cerri A, Tomasini D, Sirchia SM, Porta G, Rossella F. Loss of heterozygosity on chromosome 4q32–35 in sporadic basal cell carcinomas: evidence for the involvement of p33ING2/ING1L and SAP30 genes. J Cutan Pathol. 2004;31:318–322.
2. www.kanser.gov.tr/ Kanserle Savaş Dairesi Başkanlığı
3. LeBoit PE, Burg G, Weedon D, Sarasin A. Keratinocytic tumours. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Skin Tumours. Lyon. IARC Press. 2006;1:9-47.
4. Bolshakov S, Walker CM, Strom SS, Selvan MS, Clayman GL, El-Naggar A. p53 mutations in human aggressive and nonaggressive basal and squamous cell carcinomas. Clin Cancer Res. 2003;9:228-234.
5. Elder DE, Elenitsas R, Johnson BL Jr, Murphy GF. Tumors and cysts of the epidermis. Lever's Histopathology of the Skin. Philadelphia. 2005;10:805-866.
6. Weedon D. Tumors of the epidermis. Skin Pathology. China. Churchill Livingstone. 2002;2:753-802.
7. Auepemkiate S, Boonyaphiphat P, Thongsuksai P. p53 expression related to the aggressive infiltrative histopathological feature of basal cell carcinoma. Histopathology. 2002;40:568-573.

- 8.** Hauben DJ, Zirkin H, Mahler D, Sacks M. The biologic behaviour of basal cell carcinoma: analysis of recurrence in excised basal cell carcinoma. *Plast Reconstr Surg.* 1982;69:110-116.
- 9.** Bierhoff E, Appel K, Appel T, Buettner R, Wardelmann E. Comparative morphometric analysis of primary versus recurrent basal cell carcinoma and of histological subtypes. Significance of morphometry of the nuclei. *Anticancer Res.* 2003;23:2697-2700.
- 10.** Reis-Filho JS, Torio B, Albergaria A, Schmitt FC. p63 expression in normal skin and usual cutaneous carcinomas. *J Cutan Pathol.* 2002;29:517-523.
- 11.** Tilli CM, Van Steensel MA, Krekels GA, Neumann HA, Ramaekers FC. Molecular aetiology and pathogenesis of basal cell carcinoma. *Br J Dermatol.* 2005;152:1108-1124.
- 12.** Knudson AGJr. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad. USA.* 1971;68:820-823.
- 13.** Crowson AN. Basal cell carcinoma: biology, morphology and clinical implications. *Mod Pathol.* 2006;19:127-147.
- 14.** Dicker T, Siller G, Saunders N. Molecular and cellular biology of basal cell carcinoma. *Australas J Dermatol.* 2002;43:241-246.

- 15.** Bavinck JN, Bastiaens MT, Marugg ME, Beckers RC, Westendorp RG, Vermeer BJ. Further evidence for an association of HLA-DR7 with basal cell carcinoma on the tropical island of Saba. *Arch Dermatol.* 2000;136:1019-1022.
- 16.** Gunduz M, Ouchida M, Fukushima K, Hanafusa H, Etani T, Nishioka S. Genomic structure of the human ING1 gene and tumor-specific mutations detected in head and neck squamous cell carcinomas. *Cancer Res.* 2000;60:3143-6.
- 17.** Borkosky SS, Gunduz M, Nagatsuka H, Beder LB, Gunduz E, Ali MA. Frequent deletion of ING2 locus at 4q35.1 associates with advanced tumor stage in head and neck squamous cell carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2009;135:703-13.
- 18.** Gunduz M, Ouchida M, Fukushima K, Ito S, Jitsumori Y, Nakashima T. Allelic loss and reduced expression of the ING3, a candidate tumor suppressor gene at 7q31, in human head and neck cancers. *Oncogene.* 2002;21:4462-70.
- 19.** Gunduz M, Nagatsuka H, Demircan K, Gunduz E, Cengiz B, Ouchida M. Frequent deletion and down-regulation of ING4, a candidate tumor suppressor gene at 12p13, in head and neck squamous cell carcinomas. *Gene.* 2005;356:109-17.
- 20.** Cengiz B, Gunduz E, Gunduz M, Beder LB, Tamamura R, Bagci C. Tumor-specific mutation and down-regulation of ING5 detected in oral squamous cell carcinoma. *Int J Cancer.* 2010;9:2088-2094.
- 21.** Campos EI, Chin MY, Kuo WH, Li G. Biological functions of the ING family tumor suppressors. *Cell Mol Life Sci.* 2004;61:2597-613.

- 22.** Cengiz B, Gunduz M, Nagatsuka H, Beder L, Gunduz E, Tamamura R. Fine deletion mapping of chromosome 2q21-37 shows three preferentially deleted regions in oral cancer. *Oral Oncol.* 2007;43:241-7.
- 23.** Garate M, Campos EI, Bush JA, Xiao H, Li G. Phosphorylation of the tumor suppressor p33(ING1b) at Ser-126 influences its protein stability and proliferation of melanoma cells. *FASEB J.* 2007;21:3705-16.
- 24.** Leung KM, Po LS, Tsang FC, Siu WY, Lau A, Ho HT. The candidate tumor suppressor ING1b can stabilize p53 by disrupting the regulation of p53 by MDM2. *Cancer Res.* 2002;62:4890-3.
- 25.** Nouman GS, Anderson JJ, Wood KM, Lunec J, Hall AG, Reid MM. Loss of nuclear expression of the p33(ING1b) inhibitor of growth protein in childhood acute lymphoblastic leukaemia. *J Clin Pathol.* 2002;55:596-601.
- 26.** Jäger D, Stockert E, Scanlan MJ, Güre AO, Jäger E, Knuth A. Cancer-testis antigens and ING1 tumor suppressor gene product are breast cancer antigens: characterization of tissue-specific ING1 transcripts and a homologue gene. *Cancer Res.* 1999;59:6197-204.
- 27.** Nouman GS, Anderson JJ, Crosier S, Shrimankar J, Lunec J, Angus B. Downregulation of nuclear expression of the p33(ING1b) inhibitor of growth protein in invasive carcinoma of the breast. *J Clin Pathol.* 2003;56:507-11.
- 28.** Wei JB, Chen LS, Gao F. Mutation, loss of heterozygosity, and expression of tumor suppressor gene ING1 in sporadic colorectal carcinoma. *Ai Zheng.* 2005;24:141-4.

29. Hussain M, Earley MJ. The incidence of incomplete excision in surgically treated basal cell carcinoma: A retrospective clinical audit. *Irish Med Journal*. 2003;96:18–20.
30. Bagheri MM, Safai B: Cutaneous malignancies of keratinocytic origin. *Clin Dermatol*. 2001;19:244-252.
31. Netscher DT, Spira M. Basal cell carcinoma: An overview of tumor biology and treatment. *Plast Reconstr Surg*. 2004;113:74-94.
32. Puizina-Ivić N, Matoković B, Glunčić I , Maslovara S, Vela-Ljubić J. Histopathologic variants of basal cell carcinoma correlation with Sex, Age and Localization. *J Med Sys*. 1999;23:389-400.
33. Miller DL, Weinstock MA. Nonmelanoma skin cancer in the United States: Incidence. *J Am Acad Dermatol*. 1994;30:774-778.
34. Carucci JA, Leffell DJ. Basal cell carcinoma: Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine. New York. McGraw Hill. 2003;6:747-754.
35. Madan V, Hoban P, Strange RC, Fryer AA, Lear JT. Genetics and risk factors for basal cell carcinoma. *Br J Dermatol*. 2006;154: 5-7.
36. Gallagher RP, Lee TK. Adverse effects of ultraviolet radiation: a brief review. *Prog Biophys Mol Biol*. 2006;92:119-131.
37. Fitzpatrick TB, Ortonne JP. Normal skin color and general considerations of pigmentary disorders: Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine. New York. McGraw Hill. 2003;6:820-5.

38. Hruza GJ, Snow SN. Basal cell carcinoma in a patient with acquired immunodeficiency syndrome: treatment with Mohs micrographic surgery fixed- tissue technique. *J Dermatol Surg Oncol.* 1989;15:545-551.

39. Best PJM, Petitt RM. Multiple skin cancers associated with hydroxyurea therapy. *Mayo Clin Proc.* 1998;73:961-963.

40. Wilkins K, Turner R, Dolev JC, LeBoit PE, Berger TG, Maurer TA. Cutaneous malignancy and human immunodeficiency virus disease. *J Am Acad Dermatol.* 2006;54:189-206.

41. Zagrodnik B, Kempf W, Seifert B, Muller B, Burg G, Urosevic M, Dummer R. Superficial radiotherapy for patients with basal cell carcinoma: recurrence rates, histologic subtypes, and expression of p53 and Bcl-2. *Cancer.* 2003;98:2708-2714.

42. Lodish H, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell JE. *Molecular Cell Biology.* WH Freeman and Co, New York. 2000;4:128-133.

43. Athar M, Tang X, Lee JL, Kopelovich L, Kim AL. Hedgehog signalling in skin development and cancer. *Exp Dermatol.* 2006;15:667-677.

44. Reifemberger J, Wolter M, Knobbe CB, Köhler B, Schönicke A, Scharwächter C. Somatic mutations in the PTCH, SMOH, SUFUH and TP53 genes in sporadic basal cell carcinomas. *Br J Dermatol.* 2005;152:43-51.

45. Strano S, Rossi M, Fontemaggi G, Munarriz E, Soddu S, Sacchi A. From p63 to p53 across p73. *FEBS Lett.* 2001;490:163-170.

46. Dicker T, Siller G, Saunders N. Molecular and cellular biology of basal cell carcinoma. *Australas J Dermatol.* 2002;43:241-246.

47. De Laurenzi V, Melino G. Evolution of functions within the p53/p63/p73 family. *Ann N Y Acad.* 2000;926:90-100.

48. Strano S, Fontemaggi G, Costanzo A, Rizzo MG, Monti O, Baccarini A. Physical interaction with human tumor-derived p53 mutants inhibits p63 activities. *J Biol Chem.* 2002;277:18817-18826.

49. Lacour JP. Carcinogenesis of basal cell carcinomas: genetics and molecular mechanisms. *Br J Dermatol.* 2002;146:17-19.

50. Melnikova VO, Ananthaswamy HN. Cellular and molecular events leading to the development of skin cancer. *Mutation Research.* 2005;571:91-106.

51. Tsai KY, Tsao H. The genetics of skin cancer. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2004;131:82-92.

52. Saldanha G, Fletcher A, Slater DN. Basal cell carcinoma: a dermatopathological and molecular biological update. *Br J Dermatol.* 2003;148:195-202.

53. İlter N, Poyraz A, Dursun A, Akyol G, Gürer MA. Melanom dışı deri kanserlerinde bcl-2 and p53 protein ekspresyonu. *T Klin J Dermatol.* 2001;11:191-194.

- 54.** Daya-Grosjean L, Couvé-Privat S. Sonic hedgehog signaling in basal cell carcinomas. *Cancer Lett.* 2005;225:181-92.

- 55.** Gormley DE, Hirsch P. Aggressive basal cell carcinoma of the scalp. *Arch Dermatol.* 1978;114:782-783.

- 56.** Adışen E, Gürer MA. Bazal hücreli karsinom. *Türkiye Klinikleri J Int Med.* 2007;3:10-19.

- 57.** Mancuso M, Pazzaglia S, Tanori M, Hahn H, Merola P, Rebessi S. Basal cell carcinoma and its development: insights from radiation-induced tumors in Ptch1-deficient mice. *Cancer Res.* 2004;64:934-941.

- 58.** Milroy CJ, Horlock N, Wilson GD, Sanders R. Aggressive basal cell carcinoma in young patients: fact or fiction? *Br J Plast Surg.* 2000;53:393-396.

- 59.** Dixon AY, Lee SH, McGregor DH. Histologic features predictive of basal cell carcinoma recurrence: results of a multivariate analysis. *J Cutan Pathol.* 1993;20:137-142.

- 60.** Ionescu DN, Arida M, Jukic DM. Metastatic basal cell carcinoma: four case reports, review of literature, and immunohistochemical evaluation. *Arch Pathol Lab Med.* 2006;130:45-51.

- 61.** Kirkham N. Tumors and cysts of epidermis: Lever's histopathology of the skin. Philadelphia. Lippincott Williams & Wilkins. 2003;9:830-848.

- 62.** Rowe DE, Carroll RJ, Day CL Jr. Long-term recurrence rates in previously untreated (primary) basal cell carcinoma: implications for patient follow-up. *J Dermatol Surg Oncol.* 1989;15:315-328.

- 63.** Appel T, Bierhoff E, Appel K, von Lindern JJ, Bergé S, Niederhagen B. Predictive variables for the biological behaviour of basal cell carcinoma of the face: relevance of morphometry of the nuclei. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2003;41:147-150.

- 64.** Ramachandran S, Fryer AA, Smith AG, Lear JT, Bowers B, Griffiths CE. Basal cell carcinoma. Tumor clustering is associated with increased accrual in high risk subgroups. *Cancer.* 2000;89:1012-1018.

- 65.** Dixon AY, Lee SH, McGregor DH. Histologic evolution of basal cell carcinoma recurrence. *Am J Dermatopathol.* 1991;13:241-247.

- 66.** Orengo IF, Salasche SJ, Fewkes J, Khan J, Thornby J, Rubin F. Correlation of histologic subtypes of primary basal cell carcinoma and number of Mohs stages required to achieve a tumor-free plane. *J Am Acad Dermatol.* 1997;37:395-397.

- 67.** Wong CS, Strange RC, Lear JT. Basal cell carcinoma. *BMJ.* 2003;327:794-798.

- 68.** Vermeulen K, Berneman ZN, vanBockstaele DR. Cell cycle and apoptosis. *Cell Prolif.* 2003;36:165-75.

- 69.** Foster I. Cancer: A cell cycle defect. *Radiography.* 2008;14:144-9.

- 70.** Sager R. Expression genetics in cancer: Shifting the focus from DNA to RNA. *Proc Natl Acad. USA.* 1997;94:952–955.
- 71.** Bellamy COC. p53 and apoptosis. *Br Med Bull.* 1996;53(3): 522-38.
- 72.** Garkavtsev I, Kazarov A, Gudkov A, Riabowol K. Suppression of the novel growth inhibitor p33ING1 promotes neoplastic transformation. *Nat Genet.* 1996;14:415–420.
- 73.** Andrew H. Coles Stephen NJ. The ING gene family in the regulation of cell growth and tumorigenesis. *Cell Physiol.* 2009;218:45–57.
- 74.** Ythier D, Larrieu D, Brambilla C, Brambilla E, Pedeux R. The new tumor suppressor genes ING: genomic structure and status in cancer. *Int J Cancer.* 2008;123:1483–1490.
- 75.** Nouman GS, Anderson JJ, Lunec J, Angus B. The role of the tumour suppressor p33 ING1b in human neoplasia. *J Clin Pathol.* 2003;56:491–496.
- 76.** Tallen G, Riabowol K, Wolff JE. Expression of p33ING1 mRNA and chemosensitivity in brain tumor cells. *Anticancer Res.* 2003;23:1631–1635.
- 77.** Cheung KJ, Jr Li G. The tumour suppressor p33ING1 does not enhance camptothecin-induced cell death in melanoma cells. *Int J Oncol.* 2002;20:1319–1322.

- 78.** Tallen G, Kaiser I, Krabbe S, Lass U, Hartmann C, Henze G. ING1 mutations in human brain tumours but reduced expression in high malignancy grades of astrocytoma. *Int J Cancer*. 2004;109:476–479.
- 79.** Nouman GS, Anderson JJ, Crosier S, Shrimankar J, Lunec J, Angus B. Downregulation of nuclear expression of the p33(ING1b) inhibitor of growth protein in invasive carcinoma of the breast. *J Clin Pathol*. 2003;56:507–511.
- 80.** Ito K, Kinjo K, Nakazato T, Ikeda Y, Kizaki M. Expression and sequence analyses of p33(ING1) gene in myeloid leukemia. *Am J Hematol*. 2002;69:141–143.
- 81.** Zhu Z, Lin J, Qu JH, Feitelson MA, Ni CR, Li FM. Inhibitory effect of tumor suppressor p33 (ING1b) and its synergy with p53 gene in hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol*. 2005;11:1903–1909.
- 82.** Vieyra D, Senger DL, Toyama T, Muzik H, Brasher PM, Johnston RN. Altered subcellular localization and low frequency of mutations of ING1 in human brain tumors. *Clin Cancer Res*. 2003;9:5952–5961.
- 83.** Zhang JT, Wang DW, Li QX, Zhu ZL, Wang MW, Cui DS. Nuclear to cytoplasmic shift of p33(ING1b) protein from normal oral mucosa to oral squamous cell carcinoma in relation to clinicopathological variables. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2008;134:421–426.
- 84.** Okano T, Gemma A, Hosoya Y, Hosomi Y, Nara M, Kokubo Y. Alterations in novel candidate tumor suppressor genes, ING1 and ING2 in human lung cancer. *Oncol Rep*. 2006;15:545–549.

- 85.** Lu F, Dai DL, Martinka M, Ho V, Li G. Nuclear ING2 expression is reduced in human cutaneous melanomas. *Br J Cancer*. 2006;95:80–86.
- 86.** Gunduz M, Beder LB, Gunduz E, Nagatsuka H, Fukushima K, Pehlivan D. Downregulation of ING3 mRNA expression predicts poor prognosis in head and neck cancer. *Cancer*. 2007;99:531–538.
- 87.** Kim S, Chin K, Gray JW, Bishop JM. A screen for genes that suppress loss of contact inhibition: Identification of ING4 as a candidate tumor suppressor gene in human cancer. *Proc Natl Acad. USA*. 2004;101:16251–16256.
- 88.** Li J, Martinka M, Li G. Role of ING4 in human melanoma cell migration, invasion, and patient survival. *Carcinogenesis*. 2008;29:1373–1379.
- 89.** Cengiz B, Gunduz M, Nagatsuka H, Beder L, Gunduz E, Tamamura R. Fine deletion mapping of chromosome 2q21-37 shows three preferentially deleted regions in oral cancer. *Oral Oncol*. 2007;43:241–247.
- 90.** Zhang X, Wang KS, Wang ZQ, Xu LS, Wang QW, Chen F. Nuclear localization signal of ING4 plays a key role in its binding to p53. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005;331:1032–1038.
- 91.** Bienz M. The PHD finger, a nuclear protein-interaction domain. *Trends Biochem*. 2006;31:35–40.

- 92.** Aasland R, Gibson TJ, Stewart AF. The PHD finger: Implications for chromatin-mediated transcriptional regulation. *Trends Biochem.* 1995;20:56–59.
- 93.** Pascual J, Martinez-Yamout M, Dyson HJ, Wright PE. Structure of the PHD zinc finger from human Williams-Beuren syndrome transcription factor. *J Mol Biol.* 2000;304:723–729.
- 94.** Pena PV, Davrazou F, Shi X, Walter KL, Verkhusha VV, Gozani O. Molecular mechanism of histone H3K4me3 recognition by plant homeodomain of ING2. *Nature.* 2006;442:100–103.
- 95.** Cheung KJ, Bush JA, Jia W, Li G. Expression of the novel tumour suppressor p33(ING1) is independent of p53. *Br J Cancer.* 2000;83:1468–1472.
- 96.** Kumamoto K, Spillare EA, Fujita K, Horikawa I, Yamashita T, Appella E. Nutlin-3a activates p53 to both down-regulate inhibitor of growth 2 and up-regulate mir-34a, mir-34b, and mir-34c expression, and induce senescence. *Cancer Res.* 2008;68:3193–3203.
- 97.** Gong W, Russell M, Suzuki K, Riabowol K. Subcellular targeting of p33ING1b by phosphorylation-dependent 14-3-3 binding regulates p21WAF1 expression. *Mol Cell Biol.* 2006;26:2947–2954.
- 98.** He GH, Helbing CC, Wagner MJ, Sensen CW, Riabowol K. Phylogenetic analysis of the ING family of PHD finger proteins. *Mol Biol Evol.* 2005;22:104–116.
- 99.** Ozer A, Wu LC, Bruick RK. The candidate tumor suppressor ING4 represses activation of the hypoxia inducible factor (HIF). *Proc Natl Acad. USA.* 2005;102:7481–7486.

- 100.** Doyon Y, Cayrou C, Ullah M, Landry AJ, Cote V, Selleck W. ING tumor suppressor proteins are critical regulators of chromatin acetylation required for genome expression and perpetuation. *Mol Cell*. 2006;21:51–64.
- 101.** Ohgi T, Masaki T, Nakai S, Morishita A, Yukimasa S, Nagai M. Expression of p33(ING1) in hepatocellular carcinoma: Relationships to tumour differentiation and cyclin E kinase activity. *Scand J Gastroenterol*. 2002;37:1440–1448.
- 102.** Garkavtsev I, Riabowol K. Extension of the replicative life span of human diploid fibroblasts by inhibition of the p33ING1 candidate tumor suppressor. *Mol Cell Biol*. 1997;17:2014–2019.
- 103.** Tsang FC, Po LS, Leung KM, Lau A, Siu WY, Poon RY. ING1b decreases cell proliferation through p53-dependent and independent mechanisms. *FEBS Lett*. 2003;553:277–285.
- 104.** Helbing CC, Veillette C, Riabowol K, Johnston RN, Garkavtsev I. A novel candidate tumor suppressor, ING1, is involved in the regulation of apoptosis. *Cancer Res*. 1997;57:1255–1258.
- 105.** Vieyra D, Toyama T, Hara Y, Boland D, Johnston R, Riabowol K. ING1 isoforms differentially affect apoptosis in a cell age-dependent manner. *Cancer Res*. 2002;62:4445–4452.
- 106.** Scott M, Boisvert FM, Vieyra D, Johnston RN, Bazett-Jones DP, Riabowol K. UV induces nucleolar translocation of ING1 through two distinct nucleolar targeting sequences. *Nucleic Acids Res*. 2001;29:2052–2058.

- 107.** Tallen UG, Truss M, Kunitz F, Wellmann S, Unryn B, Sinn B. Down-regulation of the inhibitor of growth 1 (ING1) tumor suppressor sensitizes p53-deficient glioblastoma cells to cisplatin-induced cell death. *J Neurooncol.* 2007;86:23–30.
- 108.** Feng X, Bonni S, Riabowol K. HSP70 induction by ING proteins sensitizes cells to tumor necrosis factor alpha receptor-mediated apoptosis. *Mol Cell Biol.* 2006;26:9244–9255.
- 109.** Van Antwerp DJ, Martin SJ, Kafri T, Green DR, Verma IM. Suppression of TNF- α -induced apoptosis by NF-kappaB. *Science.* 1996;274:787–789.
- 110.** Cheung KJ, Li G. The tumor suppressor ING1:Structure and function. *Exp Cell Res.* 2001;268:1–6.
- 111.** Campos EI, Martinka M, Mitchell DL, Dai DL, Li G. Mutations of the ING1 tumor suppressor gene detected in human melanoma abrogate nucleotide excision repair. *Int J Oncol.* 2004;25:73–80.
- 112.** Garkavtsev I, Grigorian IA, Ossovskaia VS, Chernov MV, Chumakov PM, Gudkov AV. The candidate tumour suppressor p33ING1 cooperates with p53 in cell growth control. *Nature.* 1998;391:295–298.
- 113.** Aylon Y, Oren M. Living with p53, dying of p53. *Cell.* 2007;130:597–600.
- 114.** Sherr CJ, Weber JD. The ARF/p53 pathway. *Curr Opin Genet Dev.* 2000;10:94–99.

- 115.** Shinoura N, Muramatsu Y, Nishimura M, Yoshida Y, Saito A, Yokoyama T. Adenovirus-mediated transfer of p33ING1 with p53 drastically augments apoptosis in gliomas. *Cancer Res.* 1999;59:5521–5528.
- 116.** Shimada H, Liu TL, Ochiai T, Shimizu T, Haupt Y, Hamada H. Facilitation of adenoviral wild-type p53-induced apoptotic cell death by overexpression of p33(ING1) in human esophageal carcinoma cells. *Oncogene.* 2002;21:1208–1216.
- 117.** Gonzalez L, Freije JM, Cal S, Lopez-Otin C, Serrano M, Palmero I. A functional link between the tumour suppressors ARF and p33ING1. *Oncogene.* 2006;25:5173–5179.
- 118.** Takahashi M, Seki N, Ozaki T, Kato M, Kuno T, Nakagawa T. Identification of the p33 (ING1)-regulated genes that include cyclin B1 and proto-oncogene DEK by using cDNA microarray in a mouse mammary epithelial cell line NMuMG. *Cancer Res.* 2002;62:2203–2209.
- 119.** Moynagh PN. The NF-kappaB pathway. *J Cell.* 2005;118:4589–4592.
- 120.** Neumann M, Naumann M. Beyond IkappaBs: Alternative regulation of NF-kappaB activity. *FASEB J.* 2007;21:2642–2654.
- 121.** Moynagh PN. TLR signalling and activation of IRFs: Revisiting old friends from the NF-kappaB pathway. *Trends Immunol.* 2005;26:469–476.
- 122.** Perkins ND. NF-kappaB: Tumor promoter or suppressor? *Trends Cell Biol.* 2004;14:64–69.

- 123.** Skowrya D, Zeremski M, Neznanov N, Li M, Choi Y, Uesugi M, Hauser CA, Gu W. Differential association of products of alternative transcripts of the candidate tumor suppressor ING1 with the mSin3/HDAC1 transcriptional corepressor complex. *J Biol Chem.* 2001;276:8734–8739.
- 124.** Silverstein RA, Ekwall K. Sin3: A flexible regulator of global gene expression and genome stability. *Curr Genet.* 2005;47:1–17.
- 125.** Vieyra D, Loewith R, Scott M, Bonnefin P, Boisvert FM, Cheema P. Human ING1 proteins differentially regulate histone acetylation. *J Biol Chem.* 2002;277:29832–29839.
- 126.** Kataoka H, Bonnefin P, Vieyra D, Feng X, Hara Y, Miura Y. ING1 represses transcription by direct DNA binding and through effects on p53. *Cancer Res.* 2003;63:5785–5792.
- 127.** Nagashima M, Shiseki M, Miura K, Hagiwara K, Linke SP, Pedoux R. DNA damage-inducible gene p33ING2 negatively regulates cell proliferation through acetylation of p53. *Proc Natl Acad. USA.* 2001;98:9671–9676.
- 128.** Pedoux R, Sengupta S, Shen JC, Demidov ON, Saito S, Onogi H. ING2 regulates the onset of replicative senescence by induction of p300-dependent p53 acetylation. *Mol Cell Biol.* 2005;25:6639–6648.
- 129.** Sarker KP, Kataoka H, Chan A, Netherton SJ, Pot I, Huynh MA. ING2 as a novel mediator of TGF-beta -dependent responses in epithelial cells. *J Biol Chem.* 2008;283:13269–13279.

- 130.** Wang Y, Wang J, Li G. Leucine zipper-like domain is required for tumor suppressor ING2-mediated nucleotide excision repair and apoptosis. *FEBS Lett.* 2006;580:3787–3793.

- 131.** Chin MY, Ng KC, Li G. The novel tumor suppressor p33ING2 enhances UVB-induced apoptosis in human melanoma cells. *Exp Cell Res.* 2005;304:531–543.

- 132.** Unoki M, Kumamoto K, Robles AI, Shena JC, Zhengb ZM, Harris CC. A novel ING2 isoform, ING2b, synergizes with ING2a to prevent cell cycle arrest and apoptosis. *FEBS Lett.* 2008;582:3868–3874.

- 133.** Wang J, Chin MY, Li G. The novel tumor suppressor p33ING2 enhances nucleotide excision repair via inducement of histone H4 acetylation and chromatin relaxation. *Cancer Res.* 2006;66:1906-11.

- 134.** Unoki M, Kumamoto K, Harris CC. *Curr Drug Targets.* 2009;10:442–454.

- 135.** Fegers I, Kob R, Eckey M, Schmidt O, Goeman F, Papaioannou M. The tumor suppressors p33ING1 and p33ING2 interact with alien in vivo and enhance alien-mediated gene silencing. *J Proteome Res.* 2007;6:4182–4188.

- 136.** Binda O, Nassif C, Branton PE. SIRT1 negatively regulates HDAC1-dependent transcriptional repression by the RBP1 family of proteins. *Oncogene.* 2008;27:3384–3392.

- 137.** Nagashima M, Shiseki M, Pedoux RM, Okamura S, Kitahama-Shiseki M, Miura K. A novel PHD-finger motif protein, p47ING3, modulates p53-mediated transcription, cell cycle control, and apoptosis. *Oncogene.* 2003;22:343–350.

- 138.** Wang Y, Li G. ING3 promotes UV-induced apoptosis via Fas/caspase-8 pathway in melanoma cells. *J Biol Chem.* 2006;281:11887–11893.
- 139.** Thomas T, Voss AK. The diverse biological roles of MYST histone acetyltransferase family proteins. *Cell Cycle.* 2007;6:696–704.
- 140.** Gorrini C, Squatrito M, Luise C, Syed N, Perna D, Wark L. Tip60 is a haplo-insufficient tumour suppressor required for an oncogene-induced DNA damage response. *Nature.* 2007;448:1063–1067.
- 141.** Zhang X, Xu LS, Wang ZQ, Wang KS, Li N, Cheng ZH. ING4 induces G2/M cell cycle arrest and enhances the chemosensitivity to DNA-damage agents in HepG2 cells. *FEBS Lett.* 2004;570:7–12.
- 142.** Garkavtsev I, Kozin SV, Chernova O, Xu L, Winkler F, Brown E. The candidate tumour suppressor protein ING4 regulates brain tumour growth and angiogenesis. *Nature.* 2004;428:328–332.
- 143.** Colla S, Tagliaferri S, Morandi F, Lunghi P, Donofrio G, Martorana D. The new tumor suppressor gene inhibitor of growth family member 4 (ING4) regulates the production of proangiogenic molecules by myeloma cells and suppresses hypoxia inducible factor (HIF)-1{alpha} activity being involved in myeloma-induced angiogenesis. *Blood.* 2007;110:4464–4475.
- 144.** Unoki M, Shen JC, Zheng ZM, Harris CC. Novel splice variants of ING4 and their possible roles in the regulation of cell growth and motility. *J Biol Chem.* 2006;281:34677–34686.

- 145.** Shen JC, Unoki M, Ythier D, Duperray A, Varticovski L, Kumamoto K. Inhibitor of growth 4 suppresses cell spreading and cell migration by interacting with a novel binding partner, liprin alpha1. *Cancer Res.* 2007;67:2552–2558.
- 146.** Serra-Pages C, Kedersha NL, Fazikas L, Medley Q, Debant A, Streuli M. The LAR transmembrane protein tyrosine phosphatase and a coiled-coil LAR-interacting protein co-localize at focal adhesions. *EMBO J.* 1995;14:2827–2838.
- 147.** Shiseki M, Nagashima M, Pedoux RM, Kitahama-Shiseki M, Miura K, Okamura S. p29ING4 and p28ING5 bind to p53 and p300, and enhance p53 activity. *Cancer Res.* 2003;63:2373–2378.
- 148.** Berra E, Ginouves A, Pouyssegur J. The hypoxia-inducible-factor hydroxylases bring fresh air into hypoxia signalling. *EMBO.* 2006;7:41–45.
- 149.** Contzler R, Regamey A, Favre B, Roger T, Hohl D, Huber M. Histone acetyltransferase HBO1 inhibits NF-kappaB activity by coactivator sequestration. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006;50:208–213.
- 150.** Jin Y, Martins C, Salemark L. Nonrandom karyotypic features in basal cell carcinomas of the skin. *Cancer Genet Cytogenet.* 2001;131:109-13.
- 151.** Liu L, Scolnick DM, Trievel RC. p53 sites acetylated in vitro by PCAF and p300 are acetylated in vivo in response to DNA damage. *Mol Cell Biol* 1999;19:1202-08.

152. Cetin E, Cengiz B, Gündüz E, Gündüz M, Nagatsuka H, Bekir BL. Deletion mapping of chromosome 4q22-35 and identification of four frequently deleted regions in head and neck cancers. *Neop.* 2008;55(4):299-304.

153. Shinno Y, Gündüz E, Gündüz M, Nagatsuka H, Tsujigiwa H, Cengiz B. Fine deletional mapping of chromosome 4q22-35 region in oral cancer. *Int J Mol Med.* 2005;16:93-98.