

**ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**AKCİĞER KANSERİ PATOGENEZİNDE SIRTUİN'İN ROLÜ**

**MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**İLKE ULU**

**TEMMUZ 2019**

**ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**AKCİĞER KANSERİ PATOGENEZİNDE SİRTUİN'İN ROLÜ**

**MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**İlke ULU**

**DANIŞMAN: Doç. Dr. Sevim KARAKAŞ ÇELİK**

**ZONGULDAK**  
**Temmuz 2019**

**KABUL:**

İlke ULU tarafından hazırlanan “Akciğer Kanseri Patogeneğinde Sirtuin’in Rolü” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından değerlendirilerek Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak oybirliğiyle kabul edilmiştir. 29/07/2019

**Danışman:** Doç. Dr. Sevim KARAKAŞ ÇELİK

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı

**Üye** : Dr. Öğr. Üyesi Güneş ÇAKMAK GENÇ

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı

**Üye** : Dr. Öğr. Üyesi Fahriye ZEMHERİ

Bartın Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

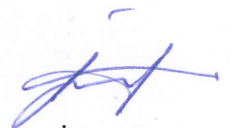
**ONAY:**

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım. ..../..../2019



Prof. Dr. Ahmet ÖZARSLAN  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

*“Bu tezdeki tüm bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak elde edildiğini ve sunulduğunu; ayrıca bu kuralların ve ilkelerin gerektirdiği şekilde, bu çalışmadan kaynaklanmayan bütün atıfları yaptığımı beyan ederim.”*



İlke ULU

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### AKCİĞER KANSERİ PATOGENEZİNDE SİRTUİN'İN ROLÜ

İlke ULU

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Sevim KARAKAŞ ÇELİK

Temmuz 2019, 89 sayfa

GLOBOCAN 2018 verilerine göre, akciğer kanseri, en sık rastlanan kanser türlerinden biri olmakla birlikte, kanserden ölümlerin yaklaşık beşte birinden sorumludur. Akciğer kanserinde, SIRT1 ekspresyonunun arttığı ve kötü prognozla ilişkili olduğu, SIRT2 ekspresyonunun ise azaldığı bulunmuştur.

Akciğer adenokarsinomlarında çoğunlukla KRAS proto-onkogen mutasyonları görülürken, küçük hücreli akciğer karsinomunda tümör baskılayıcı gen P53 mutasyonu ile EGFR amplifikasyon ve mutasyonu daha sık görülür. SIRT1 ekspresyonunun ve/veya aktivitesinin artmasının, P53'ü ve potansiyel olarak başka tümör baskılayıcı genleri inhibe ederek kanser riskini arttırabileceği öngörülmektedir. Genel olarak, SIRT2 aşırı ifadesinin ise, hücre proliferasyonunu azalttığı ve DNA hasar stresine cevap olarak hücre ölümünü düzenlediği bulunmuştur. Ayrıca, SIRT2'nin akciğer adenokarsinomlarında sıklıkla görülen KRAS proto-onkogenini deasetile ettiği ve aktivitesini düzenlediği bilinmektedir.

Memeli sirtuinleri hücrenin strese karşı direncinde ve hücre ölümünün düzenlenmesinde önemli rol oynar. Sirtuinlerin, NAD<sup>+</sup> bağımlı deasetilaz ya da mono-ADP-ribozil-transferaz

## ÖZET (devam ediyor)

aktiviteleri bilinmektedir. Çeşitli transkripsiyon faktörlerinin ve enzimlerin deasetilasyonu ile birçok hücrel mekanizmayı düzenlemektedir. Memelilerde Sirtuin ailesinin farklı hücrel bölmelerde lokalize olan ve çeşitli etkilere sahip yedi üyesi bulunmaktadır (SIRT 1-7).

Bu çalışmada Sirtuin ailesi üyelerinden sırasıyla SIRT1 ve SIRT2'ye ait iki polimorfizmi (rs11596401 C/T ve rs2015 A/C) araştırdık. Çalışma popülasyonu 100 akciğer kanserli hasta ve 100 sağlıklı kontrolden oluşmaktaydı. EDTA içeren tüplere kanlar toplandıktan sonra genomik DNA izolasyonu yapıldı. Genetik polimorfizmler; polimeraz zincir reaksiyonu-restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (PCR- RFLP) yöntemiyle tespit edilmiş olup sonuçlar ki-kare testi ve lojistik regresyon ile analiz edildi.

Yaptığımız analizler sonucunda SIRT1 rs11596401 (C/T) gen polimorfizmi için genotip dağılımı ( $p=0.593$ ) ve alel dağılımı ( $p=0.617$ ) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı. SIRT2 rs2015 (A/C) gen polimorfizmi için elde ettiğimiz verilere göre genotip ( $p=0.306$ ) ve alel dağılımı ( $p=1.0$ ) arasında da anlamlı bir farklılık bulunamadı.

Sirtuin gen polimorfizmleri ile akciğer kanseri arasındaki ilişkiyi araştırdığımız bu çalışmanın sonucunda SIRT1 rs11596401 (C/T) ve SIRT2 rs2015 (A/C) gen polimorfizmleri ile insan akciğer kanseri arasında anlamlı bir ilişki saptanamamıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Akciğer kanseri, Sirtuin, SIRT1, SIRT2, rs11596401, rs2015, polimorfizm

**Bilim Kodu:** 401.02.00

## **ABSTRACT**

**M.Sc. Thesis**

### **THE ROLE OF THE SIRTUIN IN THE PATHOGENESIS OF LUNG CANCER**

**İlke ULU**

**Zonguldak Bülent Ecevit University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Molecular Biology**

**Thesis Advisor: Assoc. Prof. Dr. Sevim KARAKAŞ ÇELİK**

**July 2019, 89 pages**

According to data of GLOBOCAN 2018, lung cancer is one of the most common types of cancer, it is also responsible for about one out of five of cancer deaths. It was discovered that in lung cancer, SIRT1 expression increased and correlated with poor prognosis and SIRT2 expression was decreased.

While KRAS proto-oncogen mutations are mostly seen in lung adenocarcinomas, tumor suppressor gene p53 mutation and EGFR amplification and mutation are more common in small cell lung carcinoma. It is contemplated that increased expression and/or activity of SIRT1 may increase cancer risk by inhibiting p53 and potentially other tumor suppressor genes. In general, it was discovered that SIRT2 overexpression reduces cell proliferation and regulate cell death in response to DNA damage stress. In addition, it is known that SIRT2 deacetylate and regulate activity of KRAS proto-oncogene, which is common in lung adenocarcinomas.

Mammalian sirtuins play an important role in cell resistance to stress and regulation of cell death. NAD + dependent deacetylase or mono-ADP-ribosyl-transferase activities of sirtuins

## **ABSTRACT (continued)**

are known. It regulates many cellular mechanisms by deacetylation of various transcription factors and enzymes. In mammals, the Sirtuin family has seven members that are localized in different cellular compartments and have various effects (SIRT 1-7).

In this study, we investigated two polymorphisms (rs11596401 C / T, A and rs2015 A / C) in respectively SIRT1 and SIRT2, from Sirtuin family members. The study population composed of 100 patients with lung cancer and 100 healthy controls. Blood was collected into EDTA-containing tubes and genomic DNA was extracted. Genetic polymorphisms were detected by using polymerase chain reaction- based restriction fragment length polymorphism (PCR- RFLP) and the results were analyzed by chi-square test and logistic regression analysis.

As a result of our analyzes, no statistically significant difference was found between genotype distribution ( $p=0.593$ ) and allele distribution ( $p=0.617$ ) for SIRT1 rs11596401 (C / T) gene polymorphism. According to our data for SIRT2 rs rs2015 (A / C) gene polymorphism, no significant difference was found between genotype ( $p=0.306$ ) and allele distribution ( $p=1.0$ ).

As a result of our study, which investigated the relation between Sirtuin gene polymorphisms and lung cancer, no significant relation was found between SIRT1 rs11596401 (C/T) and SIRT2 rs2015 (A/C) gene polymorphisms and human lung cancer.

**Keywords:** Lung cancer, Sirtuin, SIRT1, SIRT2, rs11596401, rs2015, polymorphism

**Science Code:** 401.02.02



## TEŞEKKÜR

Moleküler Biyoloji ve Genetik alanında yetişmemde büyük emekleri olan, yüksek lisans eğitimim süresince engin bilgi ve tecrübelerini benimle hoşgörüyüyle paylaşan, çözüm odaklı düşünmemi sağlayan, akademik başarısı, enerjisi ve naif kişiliğiyle kendime örnek aldığım çok değerli hocam Sayın Doç. Dr. Sevim KARAKAŞ ÇELİK'e;

Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölüm Başkanı Prof. Dr. Ender BÜYÜKGÜZEL başta olmak üzere Dr. Öğr. Üyesi Tolga ACUN'a, Dr. Öğr. Üyesi Arzu EROL ve Araş. Gör. Utku Can ATILGAN'a;

Akademik hayatımın başlangıcından itibaren bana yol gösteren, benimle bilgilerini paylaşan, içtenlikle her zaman yanımda olan ve öğrenimim boyunca güzel anılar paylaştığım değerli arkadaşlarım, Arş. Gör. Aycan ÇELİK'e, Esra ERMİŞ'e ve A. Sebla YAMAK'a;

Hayatımın her aşamasında bana en büyük özveriyi gösteren, doğru yolda iyi bir birey olarak yetişmemi sağlayan ve sonsuz destek veren canım ailem Nagihan ULU ve Mehmet ULU'ya, sonsuz teşekkürlerimi sunarım.



## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
KABUL .....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT .....	v
TEŞEKKÜR .....	vii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xiii
EK AÇIKLAMALAR DİZİNİ.....	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xvii
BÖLÜM 1 GİRİŞ.....	1
BÖLÜM 2 GENEL BİLGİLER .....	5
2.1 AKCİĞER KANSERİ .....	5
2.1.1 Epidemiyoloji.....	5
2.1.2 Etiyoloji.....	9
2.1.3 Klinik Özellikler .....	14
2.1.4 Histopatolojik Sınıflandırma.....	14
2.1.5 Evreleme .....	17
2.1.6 Moleküler Patoloji .....	17
2.2 SİRTUİNLER .....	20
2.2.1 SIRT1 .....	27
2.2.2 SIRT2 .....	35
2.3 SIRT1 VE SIRT2 GEN POLİMORFİZMLERİ .....	42
2.3.1 SIRT1 rs11596401 Gen Polimorfizmi .....	42
2.3.2 SIRT2 rs2015 Gen Polimorfizmi .....	44

## İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

	<u>Sayfa</u>
BÖLÜM 3 MALZEME VE YÖNTEM .....	45
3.1 KULLANILAN ARAÇ VE GEREÇLER .....	45
3.1.1 Alet ve Cihazlar .....	45
3.1.2 Kimyasal Malzemeler .....	46
3.1.3 Çözeltiler.....	47
3.2 KULLANILAN YÖNTEMLER .....	48
3.2.1 Periferik Kandan DNA İzolasyonu .....	48
3.2.2 Primer Tasarımı ve Restriksiyon Enzimi Seçimi.....	50
3.2.3 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) .....	50
3.2.4 Agaroz Jel Elektroforezi .....	52
3.2.5 Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP).....	52
3.2.6 Verilerin Değerlendirilmesi .....	53
3.2.7 İstatistiksel Analiz.....	55
BÖLÜM 4 BULGULAR .....	57
4.1 SİRTUİN GEN POLİMORFİZMLERİNİN FREKANSLARI .....	57
4.1.1 SIRT1 rs11596401 Gen Polimorfizmi .....	57
4.1.2 SIRT2 rs2015 Gen Polimorfizmi .....	59
4.1.3 SIRT1 rs11596401 ve SIRT2 rs2015 Polimorfizmleri Haplotip Analizi .....	60
BÖLÜM 5 TARTIŞMA .....	63
BÖLÜM 6 SONUÇ VE ÖNERİLER .....	71
KAYNAKLAR.....	73
EK AÇIKLAMALAR.....	87
ÖZGEÇMİŞ .....	89

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1 2018 yılına ait Dünya genelindeki akciğer kanserine bağlı ölüm oranları. ....	6
Şekil 2.2 a) 2018 yılına ait Türkiye kanser insidans oranları b) 2018 yılına ait Türkiye'deki kansere bağlı ölüm oranları.....	7
Şekil 2.3 2018 yılına ait Türkiye’de tüm yaş gruplarındaki erkeklerde en sık görülen ilk beş kanser türü ve ölüm oranları. ....	8
Şekil 2.4 2018 yılına ait Türkiye’de tüm yaş gruplarındaki kadınlarda en sık görülen ilk beş kanser türü ve ölüm oranları. ....	8
Şekil 2.5 Memeli sirtuinlerinin sınıflandırılması. ....	21
Şekil 2.6 Sirtuinlerin enzimatik aktivitesi. ....	22
Şekil 2.7 İnsan sirtuinlerine şematik genel bakış. ....	23
Şekil 2.8 Memeli sirtuinlerinin hücrel fonksiyonları. ....	26
Şekil 2.9 Sirt1 mRNA ekspresyonunun onkogenler ve tümör baskılayıcı genler tarafından modülasyonu. ....	28
Şekil 2.10 SIRT1’in deasetilaz aktivitesinin modülasyonu. ....	29
Şekil 2.11 SIRT1’in biyolojik fonksiyonları.....	30
Şekil 2.12 SIRT2 düzenleyici ağ. ....	37
Şekil 2.13 SIRT2'nin biyolojik rolleri. ....	39
Şekil 2.14 SIRT1 geninin genomik lokasyonu.....	42
Şekil 2.15 SIRT2 geninin genomik lokasyonu.....	44
Şekil 3.1 SIRT1 primerleriyle yapılan PCR'ın agaroz jelde kontrolü. ....	53
Şekil 3.2 SIRT1 rs11596401 gen polimorfizmi jel elektroforez görüntüsü. ....	54
Şekil 3.3 SIRT2 primerleriyle yapılan PCR'ın agaroz jelde kontrolü. ....	55
Şekil 3.4 SIRT2 rs2015 gen polimorfizmi jel elektroforez görüntüsü. ....	55
Şekil 4.1 SIRT1 rs11596401 gen polimorfizm genotip frekansları. ....	58
Şekil 4.2 SIRT2 rs2015 gen polimorfizm genotip frekansları. ....	60
Şekil 4.3 SIRT1 rs11596401-SIRT2 rs2015 gen polimorfizmlerinin haplotip dağılımı.....	61



## ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1 Akciğer kanserli hastaların tanı anındaki evrelerinin dağılımı. ....	9
Çizelge 2.2 Akciğer kanserinin histopatolojik sınıflandırması. ....	15
Çizelge 2.3 Memeli sirtuinleri, lokalizasyonları ve hücre içi hedefleri. ....	24
Çizelge 3.1 Kullanılan enzimler ve reaksiyon koşulları. ....	53
Çizelge 4.1 Akciğer kanseri hasta ve kontrol grubunun cinsiyet ve yaşa göre dağılımı.....	57
Çizelge 4.2 Akciğer kanseri hastalarında ve sağlıklı kontrollerde SIRT1 rs11596401 gen polimorfizm genotip frekansları. ....	58
Çizelge 4.3 Akciğer kanseri hastalarında ve sağlıklı kontrollerde SIRT1 rs11596401 gen polimorfizminin alel dağılımı. ....	58
Çizelge 4.4 Akciğer kanseri hastalarında ve sağlıklı kontrollerde SIRT2 rs2015 gen polimorfizminin genotip frekansları. ....	59
Çizelge 4.5 Akciğer kanseri hastalarında ve sağlıklı kontrollerde SIRT2 rs2015 gen polimorfizminin alel dağılımı. ....	60
Çizelge 4.6 Akciğer kanseri hastalarında ve sağlıklı kontrollerde SIRT1 rs11596401 / SIRT2 rs2015 haplotip dağılımları. ....	60





## EK AÇIKLAMALAR DİZİNİ

Sayfa

Ek-A Etik Kurul Karar Formu..... 87





## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

### SİMGELER

%	: Yüzde
$\beta$	: Beta
$\kappa$	: Kappa
$\alpha$	: Alfa
$\gamma$	: Gama
ml	: Mililitre
$^{\circ}\text{C}$	: Derece
bp	: Baz çifti
mM	: Milimolar
$\mu\text{l}$	: Mikrolitre
G	: Gram
Tm	: Erime sıcaklığı
dk	: Dakika
$\chi^2$	: Ki kare
$\rho$	: Rho

### KISALTMALAR

<b>3'UTR</b>	: 3' Translasyona Uğramamış Bölge
<b>A</b>	: Adenin
<b>ADP</b>	: Adenozindifosfat
<b>ALK</b>	: Anaplastik Lenfoma Kinaz
<b>APC/C</b>	: Anafaz Uyarıcı Kompleks/Siklozom
<b>AROS</b>	: SIRT1'in Aktif Regülatörü
<b>BRAF</b>	: B-RAF Proto-onkogen
<b>BRCA1</b>	: Breast cancer 1

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam ediyor)

<b>C</b>	: Sitozin
<b>CBP</b>	: CREB-bağlama proteini
<b>CDK</b>	: Siklin Bağımlı Kinaz
<b>CHK2</b>	: Kontrol Noktası Kinaz 2
<b>CYP</b>	: Sitokrom P450 Ailesi
<b>DBC1</b>	: Deleted in Bladder Cancer Protein 1
<b>dH<sub>2</sub>O</b>	: Distile Su
<b>E2F1</b>	: E2F Transkripsiyon Faktör 1
<b>EDTA</b>	: Etilendiamin Tetraasetik Asit
<b>EGFR</b>	: Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü
<b>EML4</b>	: Echinoderm Mikrotübül Benzeri Protein 4
<b>ERBB2</b>	: Erb-B2 Reseptör Tirozin Kinaz 2
<b>EtBr</b>	: Etidyum Bromür
<b>FGFR1</b>	: Fibroblast Büyüme Faktörü Reseptörü 1
<b>FOXO</b>	: Forkhead Protein Transkripsiyon Faktörü
<b>G6PD</b>	: Glikoz-6-fosfat Dehidrogenaz
<b>GDH</b>	: Glutamat Dehidrogenaz
<b>GST</b>	: Glutasyon S-transferaz
<b>HDAC</b>	: Histon deasetilaz
<b>HIC1</b>	: Hypermethylated in Cancer 1
<b>HIF-1<math>\alpha</math></b>	: Hipoksi-indüklenebilir Faktör-1 $\alpha$
<b>HuR</b>	: Hu Antijen R
<b>IARC</b>	: Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı
<b>KRAS</b>	: Kirsten Rat Sarkoma Viral Proto-onkogen
<b>LXR</b>	: Karaciğer X Reseptörü
<b>Lys</b>	: Lizin
<b>M</b>	: Adenin ya da Sitozin
<b>MAPK</b>	: Mitojen-aktive Protein Kinaz
<b>MDM2</b>	: MDM2 Proto-onkogeni
<b>MET</b>	: MET Proto-onkogeni
<b>MnSOD</b>	: Mangan Süperoksit Dismutaz
<b>mRNA</b>	: Mesajcı RNA

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam ediyor)

<b>MYC</b>	: MYC proto-onkogeni
<b>Na<sub>2</sub>EDTA</b>	: Disodyum EDTA
<b>NAD</b>	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid
<b>NAM</b>	: Nikotinamid
<b>NCBI</b>	: National Center for Biotechnology Information
<b>NES</b>	: Nükleer Eksport Dizisi
<b>NF- <math>\kappa</math>B</b>	: Nükleer Faktör Kappa B
<b>P53</b>	: Tümör Protein 53
<b>P73</b>	: Tümör Protein 73
<b>p300</b>	: E1A Bağlayıcı Protein
<b>PCAF</b>	: P300/CBP İlişkili Faktör/ Lysine Acetyltransferase 2B
<b>PCR</b>	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<b>PGC-1<math>\alpha</math></b>	: PPAR- $\gamma$ Koaktivatör 1- $\alpha$
<b>PPAR-<math>\gamma</math></b>	: Peroxisome Proliferator- activated Receptor - $\gamma$
<b>RAS</b>	: Rat Sarkoma Viral Proto-onkogen
<b>RB</b>	: Retinoblastoma
<b>RFLP</b>	: Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi
<b>ROT</b>	: Reaktif Oksijen Türleri
<b>rRNA</b>	: Ribozomal RNA
<b>SCN</b>	: Suprakiazmatik Nükleus
<b>SEN1</b>	: SUMO Spesifik Proteaz 1
<b>SIRT1</b>	: Sirtuin 1
<b>SIRT2</b>	: Sirtuin 2
<b>Sir2</b>	: Silent Information Regulator 2
<b>SNP</b>	: Tek Nükleotid Polimorfizmi
<b>SREBP-2</b>	: Sterol Regüle Edici Element Bağlayıcı Protein 2
<b>SUV39H1</b>	: Supressor of Variegation 3-9 Homolog 1
<b>UCP1</b>	: Uncoupling Protein 1
<b>T</b>	: Timin
<b>TAE</b>	: Tris-Asetik asit- EDTA
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	: Tümör Nekroz Faktör Alfa
<b>TNM</b>	: Tümör/Nod/Metastaz

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam ediyor)

<b>TÜİK</b>	: Türkiye İstatistik Kurumu
<b>WHO</b>	: Dünya Sağlık Örgütü
<b>Y</b>	: Sitozin ya da Timin



## BÖLÜM 1

### GİRİŞ

Kanser, gelişmiş ve gelişmekte olan ekonomilerde, tüm yaş gruplarında önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir (Bray vd. 2018). Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (International Agency for Research on Cancer, IARC)'nın 12 Eylül 2018 tarihli raporunda yayınladığı verilere göre, küresel kanser yükünün 2018'de 18.1 milyon yeni vakaya ve 9.6 milyon ölüme yükseldiği tahmin edilmektedir. 2040 yılında ise kanser insidansının yaklaşık 29.5 milyon yeni vakaya ve 16.3 milyon ölüme neden olması beklenmektedir. Son verilere göre, dünyada her 5 erkek ve 6 kadından biri, yaşamları boyunca kanser olmakta ve her 8 erkek ve 11 kadından biri de bu hastalık nedeniyle ölmektedir. Dünya çapında, 5 yıllık prevalansa bakıldığında ise 5 yıl içinde kanser tanısı alan 43.8 milyon kişinin yaşadığı tahmin edilmektedir. Kanser yükünün artmasındaki en önemli etkenler ise nüfus artışı, yaşlılık, diğer ekonomik ve sosyal faktörler olarak gösterilmiştir (WHO 2018a).

Dünya çapında insidansı en yüksek ilk üç kanser türü, akciğer, meme ve kolorektal kanserleridir. Mortalite açısından ise sırasıyla birinci, beşinci ve ikinci sırada yer almaktadırlar. Bu üç kanser türü, dünya çapında kanser insidansı ve mortalite yükünün yaklaşık üçte birinden sorumludur. GLOBOCAN 2018 verilerine göre, akciğer kanseri, en sık rastlanan kanser türlerinden biri olmakla birlikte (2.1 milyon yeni vaka, toplam vakaların %11.6'sı), kanserden ölümlerin yaklaşık beşte birinden sorumludur (1.76 milyon ölüm, toplam kanser ölümlerinin %18.4'ü). Akciğer kanseri kötü prognoz nedeniyle, dünyada ölüme en çok neden olan kanser türleri arasında, erkeklerde birinci sırada (%22), kadınlarda ise meme kanserinden sonra ikinci sırada (%13.8) gelmektedir (WHO 2018a).

Akciğer kanseri, etiyolojisinde çok sayıda faktörün rol oynadığı bir hastalıktır. Sigara, hava kirliliği gibi çevresel faktörler, mesleki karsinojenler, diyet, viral enfeksiyonlar, geçirilmiş akciğer hastalıkları, genetik ve immünolojik faktörler başlıca etiyolojik faktörlerdir (Toraks 2006).

Akciğer kanseri; biyoloji, tedavi ve prognoz göz önüne alındığında küçük hücreli akciğer kanseri (KHAK) ve küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) olmak üzere 2 ana sınıfa ayrılmıştır (Larsen ve Minna 2011). Akciğer kanseri için 5 yıllık sağ kalım oranları KHDAK'de yaklaşık %15, KHAK'de ise %5 civarındadır (Janssen-heijnen ve Coebergh 2003). Kanser biyolojisi, teşhis ve tedavisindeki son zamanlardaki gelişmeler 5 yıllık sağ kalım oranını %66'ya yükseltmiştir. Ancak bu gelişmelerin akciğer kanserine etkisi sınırlı kalmış ve 5 yıllık sağ kalım yaklaşık %17'lere ulaşabilmiştir (URL-1).

Sirtuinler, mayadaki Sir2 (Silent Information Regülatör 2) ailesinin memeli homologudur Sirtuinler, nikotinamid adenin dinükleotid (NAD<sup>+</sup>) bağımlı deasetilaz ya da mono-ADP-ribozil-transferaz aktiviteleri ile birlikte neredeyse tüm türlerde bulunan evrimsel olarak korunmuş bir ailenin üyesidir. Memelilerde Sirtuin ailesinin farklı hücresel bölmelerde lokalize olan ve çeşitli etkilere sahip yedi üyesi bulunmaktadır (Michan ve Sinclair 2007).

Sirtuinler, çeşitli transkripsiyon faktörlerinin ve enzimlerin deasetilasyonu ile birçok hücresel mekanizmayı düzenlemektedir. Sirtuin ailesinin etki ettiği en önemli mekanizmaların başında gen ifadesinin düzenlenmesi gelir. Hücre döngüsünün düzenlenmesi, apoptoz, mitokondriyal biyogenez, yağ asidi oksidasyonu, hücresel stres yanıtı, insülin salgılanması, yaşlanma ve inflamasyon gibi pek çok fizyolojik süreçte rol oynayan sirtuinler; kanser, diyabet, yaşlanmaya bağlı hastalıklar ve nörodejeneratif hastalıklar gibi pek çok hastalıkla ilişkilendirilmiş olup strese bağlı sinyal yollarında kritik bir öneme sahiptir (Taddei vd. 2005, Poulouse ve Raju 2015, Palmirotta vd. 2016).

Yapılan çalışmalarda SIRT1 (Sirtuin 1)'in çeşitli kanserlerde yüksek düzeyde eksprese olduğu ve yüksek SIRT1 ekspresyonu düzeylerinin, akciğer kanseri de dahil pek çok kanser türünde kötü prognoz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. SIRT1 ekspresyonunun ve/veya aktivitesinin artmasının, P53'ü ve potansiyel olarak başka tümör baskılayıcı genleri inhibe ederek kanser riskini arttırabileceği öngörülmektedir (Li vd. 2015, Lee vd. 2019).

Yapılan birçok çalışma, hücresel strese cevap olarak hücre döngüsünün düzenlenmesindeki rolü nedeniyle SIRT2 (Sirtuin 2)'nin tümörigenezde rol oynadığını göstermektedir (Inoue vd. 2007). Yapılan çalışmalar, küçük hücreli dışı akciğer kanseri (Li vd. 2013), glioma (Hiratsuka vd. 2003), mide karsinomları (Peters vd. 2010) ve hepatoselüler karsinom (Kim vd. 2011) dahil olmak üzere birçok kanser türünde, SIRT2 ekspresyonunun azaldığını göstermektedir.



Sirtuinlerin mayalarda keşfinden bu yana birçok çalışma yapılmıştır. İnsan metabolizması, yaşlanma, kanser ve nörodejenerasyon gibi birçok olayla ilişkisi nedeniyle daha da önem kazanacağı düşünülmektedir (Bayram ve İğci 2013).





## **BÖLÜM 2**

### **GENEL BİLGİLER**

#### **2.1 AKCİĞER KANSERİ**

Akciğer kanseri, solunum yolu epitel hücrelerinin kontrolsüz çoğalması sonucu oluşan genetik değişikliğin fenotipe yansıdığı bir hastalıktır. Akciğerdeki malign epitelyal tümörler, akciğer kanseri ve bronşiyal karsinom olarak da adlandırılır ve bu tümörlerin çoğu bronşiyal sistem içinde santral ve daha küçük hava yollarının epitelyal veya nöroendokrin hücreleri ve %10'dan daha azı da akciğer parankiminden kaynaklanmaktadır (Coşkunpınar 2013).

Klinikte, akciğer kanserinin, klinik, tedavi ve prognoz özelliklerini dikkate alarak küçük hücreli akciğer kanseri (KHAK) ve küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) olmak üzere iki ana gruba ayrılarak tedavi ve takibi yapılır (Larsen ve Minna 2011). Küçük hücreli akciğer kanseri; akciğer kanserlerinin %10-15'ini oluşturur. En hızlı büyüyen ve uzak metastaz gösteren tipidir. Sigara ile çok yakından ilişkilidir, bu tümörlerin sadece %1'i sigara içmemiş kişilerde ortaya çıkar. Çok hızlı metastaz yaptığından genellikle tanı konulduğu sırada vücutta yayılmış olduğu görülür. Kemoterapiye yanıtı iyi olmasına rağmen uzun dönem sağ kalım oranları diğer kanser tiplerine göre daha düşüktür. Daha az metastaz yapan ve kemoterapiye daha az cevap veren küçük hücreli dışı akciğer kanseri ise en sık görülen akciğer kanseridir ve tüm hastaların %85-90'ını oluşturur. KHDAK, adenokanser, skuamöz hücreli kanser ve büyük hücreli kanser olmak üzere üç ana patolojik alt gruba ayrılır (Cruz vd. 2011, URL-2).

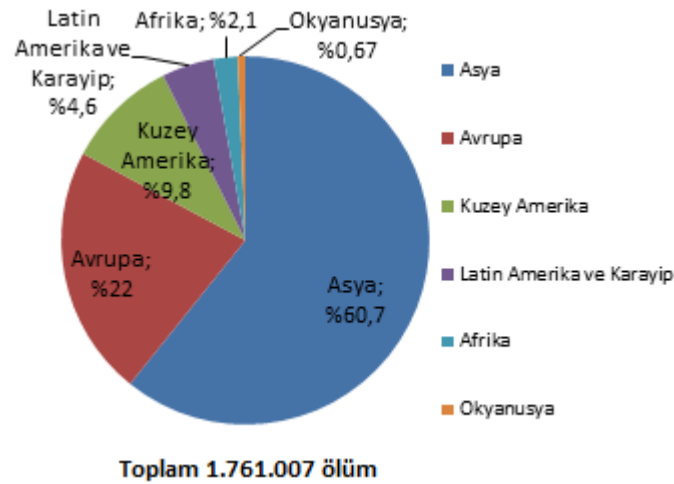
##### **2.1.1 Epidemiyoloji**

Kanser, dünya genelinde bulaşıcı olmayan hastalıkların ölüm nedenleri arasında kardiyovasküler hastalıklardan sonra ikinci sırada (%22) gelmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization, WHO)'nün yayınladığı istatistiki verilere göre, 2016 yılında 9 milyon kansere bağlı ölüm bildirilmiştir (WHO 2018b). Akciğer ve meme kanseri, yeni vaka sayısı bakımından dünya çapında önde gelen tiplerdir; Bu türlerin her biri için, 2018'de

yaklaşık 2.1 milyon teşhis konulmuş olup toplam kanser insidans yükünün yaklaşık %11.6'sını oluşturmaktadır. Akciğer kanseri, ayrıca dünya çapında kötü prognoz nedeniyle en fazla sayıda ölümden (toplam 1.8 milyon ölüm, %18.4) sorumlu olup yaklaşık her beş kanser ölümünün birinden sorumludur (WHO 2018a).

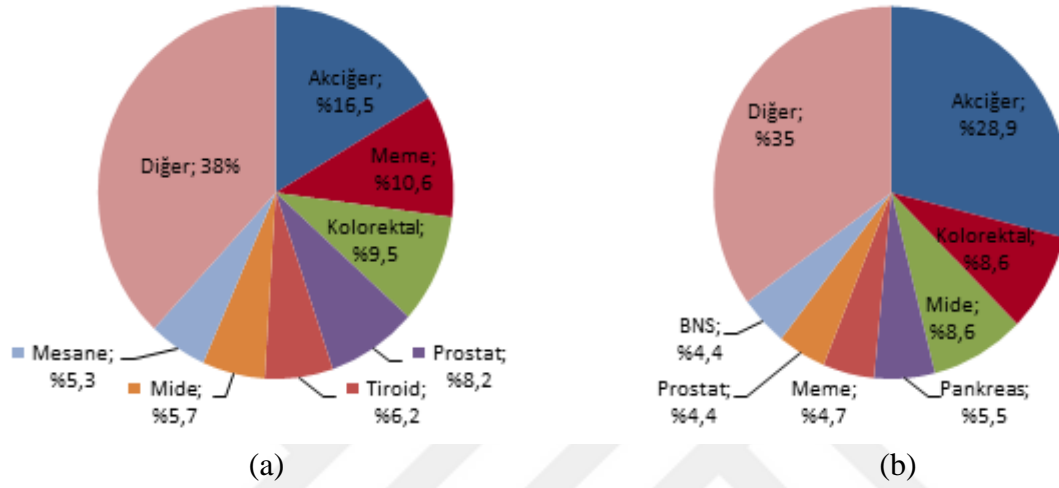
Erkeklerde, akciğer kanseri en sık rastlanan kanser türüdür. Kadınlarda ise meme ve kolorektal kanserden sonra üçüncü sırada yer almaktadır (erkeklerde toplam vakaların %14.5'i ve kadınlarda %8.4'ü). Kanserden ölüm oranlarına bakıldığında ise erkeklerde birinci sırada (%22.0), kadınlarda ise meme kanserinden sonra ikinci sırada (%13.8) yer almaktadır. Son yıllarda kadınlarda da görülme sıklığında ciddi bir artış olmuştur. Kadınlarda en yüksek insidans oranları, Kuzey Amerika, Kuzey ve Batı Avrupa (özellikle Danimarka ve Hollanda'da), Çin, Avustralya, Yeni Zelanda ve Macaristan'da görülmektedir (WHO 2018a).

Avrupa, akciğer kanseri insidansının %22.4'ünü ve akciğer kanserine bağlı ölümlerin %22'sini oluşturmaktadır. Kuzey Amerika ise akciğer kanseri insidansının %12.1'i ve akciğer kanserine bağlı ölümlerin %9.8'ini oluşturmaktadır. Dünyanın diğer bölgeleriyle karşılaştırıldığında Asya ve Afrika'da akciğer kanserine bağlı ölüm oranlarının (sırasıyla %60.7 ve %2.1), insidans (sırasıyla %58.5 ve %1.9) oranlarından daha yüksek olduğu görülmektedir. Çoğu ülkede, kötü prognozu olan belirli kanser çeşitlerinin görülme sıklığının fazla olmasının yanı sıra, zamanında tanı ve tedaviye erişimin kısıtlı olması gibi nedenlerle de kansere bağlı ölüm oranları artmaktadır (WHO 2018a).



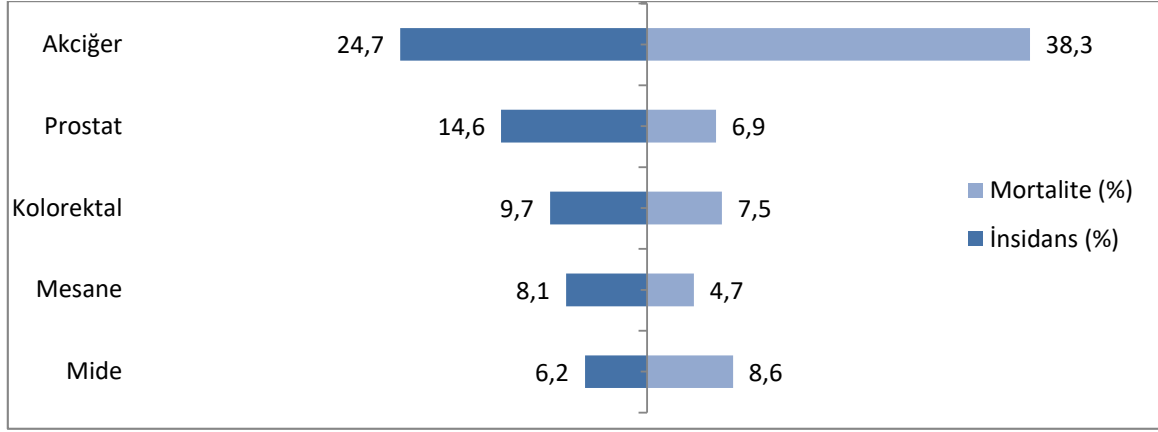
**Şekil 2.1** 2018 yılına ait Dünya genelindeki akciğer kanserine bağlı ölüm oranları (Her iki cinsiyet, tüm yaş grupları, GLOBOCAN 2018) (URL-3).

Ülkemizde de akciğer kanseri sadece yaygın olarak görülen bir kanser olması yönüyle değil, neden olduğu mortalite yükü nedeniyle de önemli bir sağlık sorunudur. Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı'nın GLOBOCAN 2018 verilerine göre, Türkiye'de 210.537 yeni kanser vakası bildirilmiş, 116.710 kişi kanser nedeniyle hayatını kaybetmiştir. Bu vakaların %16.5'ini akciğer kanseri oluşturmaktadır (34.703 yeni vaka). Kanserden ölümlerin başında da %28.9'luk oranla yine akciğer kanseri gelmektedir (33.683 ölüm) (Şekil 2.2).

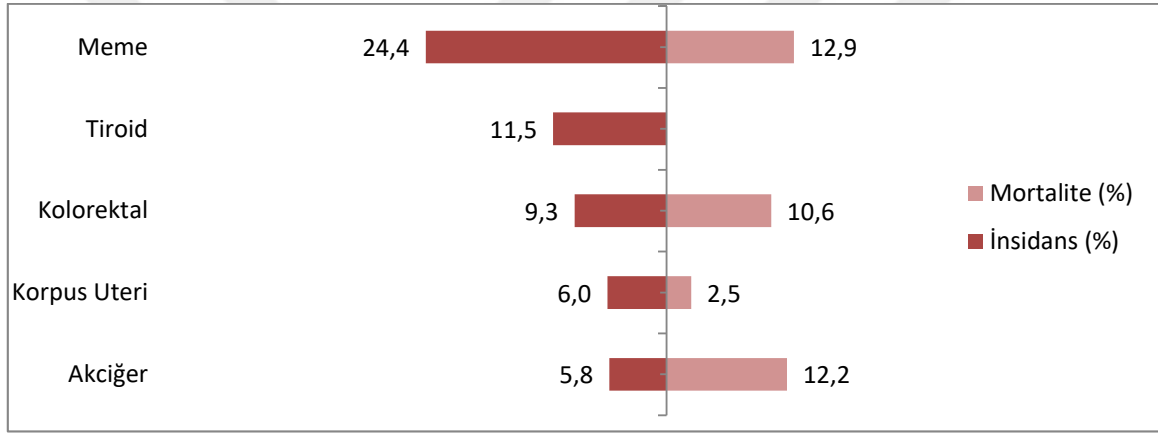


**Şekil 2.2** a) 2018 yılına ait Türkiye kanser insidansı oranları, toplam 210.537 yeni vaka  
b) 2018 yılına ait Türkiye'deki kanser nedenli ölüm oranları, toplam: 116.710 ölüm  
(Her iki cinsiyet, tüm yaş grupları, GLOBOCAN 2018) (URL-3).

Türkiye'de yeni kanser vakalarının, erkeklerde 29.405'i (%24.7), kadınlarda ise 5.298'i (%5.8) akciğer kanseridir. Erkeklerde en sık görülen kanser türlerinin başında akciğer kanseri gelmektedir, bunu prostat ve kolorektal kanser izlemektedir (Şekil 2.3). Kadınlarda ise akciğer kanseri yaygın görülen beşinci kanser türü iken en yaygın kanser türü meme kanseridir, bunu tiroid ve kolorektal kanser izlemektedir. Mortalite açısından bakıldığında ise, erkeklerde kansere bağlı ölümlerin başında gelirken (28.525 ölüm, %38.3), kadınlarda meme kanserinden sonra ikinci sırada (5.158 ölüm, %12.2) gelmektedir (URL-3).



**Şekil 2.3** 2018 yılına ait Türkiye’de tüm yaş gruplarındaki erkeklerde en sık görülen ilk beş kanser türü ve ölüm oranları, GLOBOCAN 2018 (URL-3).



**Şekil 2.4** 2018 yılına ait Türkiye’de kadınlarda en sık görülen ilk beş kanser türü ve ölüm oranları, GLOBOCAN 2018 (URL-3).

Akciğer kanseri olguları büyük oranda ileri (Evre IV) ya da lokal ileri evrede (Evre IIIA ve IIIB) saptanmaktadır. Olguların %70’i tanı anında radikal tedavi olan cerrahi şansına sahip olamamaktadır. Ülkemizde bu oran daha yüksektir. Toraks Derneği Akciğer ve Plevra Maligniteleri Çalışma Grubu’nun yapmış olduğu çalışmada, olguların %86.7’sinin ileri evrede yer aldığı tespit edilmiştir (Çizelge 2.1) (Toraks 2006).

**Çizelge 2.1** Akciğer kanserli hastaların tanı anındaki evrelerinin dağılımı (Toraks 2006).

<b>EVRE</b>	<b>%</b>
Evre 1	5.6
Evre 2	7.7
Evre 3A	14.2
Evre 3B	32.1
Evre 4	40.4

Bunlara ek olarak TÜİK (Türkiye İstatistik Kurumu) 2014 verilerine göre akciğer kanseri evrelerinin yüzdelik dağılımları lokalize %18.1, bölgesel %29.2 ve uzak metastaz %52.7 olarak açıklanmıştır. Akciğer kanserinin histolojik tiplerinin yüzdelik dağılımlarıysa küçük hücreli dışı akciğer kanseri %79.2, küçük hücreli akciğer kanseri %16.6 ve diğer %4.2 olarak gösterilmiştir (Gültekin vd. 2017).

### **2.1.2 Etiyoloji**

Akciğer kanseri, etiyolojisinde çok sayıda faktörün rol oynadığı bir hastalıktır. Sigara, hava kirliliği gibi çevresel faktörler, mesleki karsinojenler, diyet, viral enfeksiyonlar, geçirilmiş akciğer hastalıkları, genetik ve immünolojik faktörler başlıca etiyolojik faktörlerdir. Akciğer kanseri hastalarının birinci derece yakınlarında kanser riski artmaktadır (Toraks 2006, Spitz vd. 2007).

#### **2.1.2.1 Sigara**

Tütün kullanımı, kardiyovasküler hastalıklar, kanser ve kronik solunum yolu hastalıkları için önemli bir risk faktörüdür (WHO 2018b). Sigara, akciğer kanseri için primer risk faktörü olup bütün akciğer kanseri vakalarının %80'inden fazlasından sorumludur. Sigara kullanıcısı olan akciğer kanseri hastalarında histopatolojik olarak çoğunlukla küçük hücreli akciğer kanseri ve skuamöz hücreli akciğer kanseri görülmektedir (Cruz vd. 2011).

Sigarada tanımlanmış olan yaklaşık 4.000 tane kimyasal maddeden 50'den fazlasının karsinojen özellikte olduğu tespit edilmiştir. En güçlü karsinojenler, polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH), aromatik aminler, N-nitrozaminler, ve heterosiklikaminlerdir. Sigarada

bulunan bu karsinojenler doğrudan DNA hasarı oluşturabilir veya enzimler aracılığı ile aktif metabolitlere dönüşerek etki gösterebilir (Cruz vd. 2011).

Sigara içenlerde akciğer kanseri görülme olasılığı, sigara içmeyenlere göre 15-30 kat daha fazladır. Sigara içme süresi, içilen sigara sayısı, içilen sigara tipi ve sigaraya başlama yaşı kanser gelişiminde etkili faktörlerdir. Akciğer kanseri gelişme riski, sigarayı bırakmayı takiben yaklaşık 10-20 yıl içinde, hiç içmeyenlerin düzeyine yaklaşmaktadır (Cruz vd. 2011).

2016 yılında, dünya genelinde 15 yaş ve üstü 1.1 milyardan fazla insanın sigara içtiği tahmin edilmektedir (Bu yaş grubundaki erkeklerin %34'ü, kadınların %6'sı) (WHO 2018b). Ülkemizde ise akciğer kanseri tanısı konmuş kadınların %17'sinin, erkeklerin ise %94'ünün sigara kullandığı belirtilmiştir (Gültekin vd. 2017). Erken evrede tanı alan akciğer kanseri hastalarında sigarayı bırakmanın olumlu etkileri olduğu görülmüştür. Bu hastalarda sigara kullanımını devam ettiği takdirde ise mortalite ve ikinci bir primer tümörün oluşma oranında artış olduğu saptanmıştır (Parsons vd. 2010).

Bunun yanı sıra sigara kullanmayanlarda da pasif içicilik nedeniyle akciğer kanseri riskinin yaklaşık 3.5 kat arttığı gözlenmiştir. Pasif içicilerin maruz kaldığı dumanda, sigara içenlerin soluduğu dumanda bulunan kanserojenlerin tamamı yer alır ve sigara fitresinden geçmediği için çok daha yoğundur (Müsellim 2007). Pasif içiciliğin her yıl dünya genelinde 21.400 akciğer kanseri ölümüne neden olduğu tahmin edilmektedir (Jemal vd. 2014).

### **2.1.2.2 Yaş, Cinsiyet ve Irk**

Akciğer kanseri ileri yaşlarda daha fazla görülmektedir. Hastaların %95'ini 50-70 yaş aralığındaki kişiler oluşturmaktadır (Halilçolar vd. 1999) ve 50 yaş altındaki kişilerde hastalığın görülme oranı %5-10'dur (Spiro ve Porter 2002, Radzikowska vd. 2001). Yaşlı bireylerdeki insidansın bu artışı hormonal değişikliklerle birlikte, direncin azalması ve sigara kullananlarda sigaranın zararlı etkilerine uzun süre maruz kalınmasıyla ilişkilidir (Alberg ve Samet 2003). Ülkemizdeki olguların büyük çoğunluğunda tanı alan hastalar 45-65 yaşları arasında olup, %90'ı erkektir (Toraks 2006).

Akciğer kanseri erkeklerde daha sık görülmekle birlikte, son yıllarda kadınlarda insidansı erkeklere göre daha hızlı artış göstermektedir. Son zamanlarda yapılan olgu kontrol



çalışmaları, sigara içen kadınlarda akciğer kanseri gelişme riskinin erkeklere göre daha yüksek olduğunu göstermiştir. Ancak kadınlarda hayatta kalma oranının erkeklere göre daha fazla olduğu gözlenmiştir. Histolojik tipler ve sağ kalım açısından da cinsler arasında farklılıklar vardır. Kadınlarda adenokarsinomların daha sık görüldüğü ve biraz daha geç evrede tanı aldıkları bildirilmiştir (Zang ve Wynder 1996, Cruz vd. 2011).

Çok belirgin olmasa da etnik kökenler arasında da akciğer kanserine yatkınlık açısından farklar bulunmaktadır. Afrika kökenli Amerikalılarda ve Yeni Zelandada yerlilerinde daha yüksek ölüm oranları gözlenmiştir (Muir ve Nectoux 1996). Afrika kökenli Amerikalıların, beyaz kökenli Amerikalılara göre, 5 yıllık sağ kalım süresi daha düşük ve mortalite oranı daha yüksek gözlenmiştir (Alberg ve Samet 2003). Buna ek olarak bir çalışmada siyahların beyazlara göre taşıdığı akciğer kanseri riskinin 1.8 kat fazla olduğu bildirilmiştir (Wynder ve Muscat 1995). Erkeklerde en sık %7.5 risk ile Afrika kökenli Amerikalılarda görülürken, en düşük risk %2 ile İsveçlilerde görülmektedir. Kadınlarda ise %3.5 risk ile yine Afrika kökenli Amerikalılarda görülürken, en düşük risk ise %1 ile Fransız ve Korelilerde görülmektedir (Ferlay vd. 2010).

### **2.1.2.3 Diyet**

Akciğer kanserinde diyetin %5 oranında etkili olduğu ileri sürülmektedir. Akciğer kanserinden koruyucu olarak A vitamini,  $\beta$ -karoten, retinol içeren sarı-yeşil sebzelerin ve meyvelerin tüketilmesi tavsiye edilmektedir. E vitamini ve selenyum da antioksidan etki göstererek riski azaltmaktadır. Benzer şekilde çay (özellikle yeşil çay) tüketimi de koruyucu etki göstermektedir (İtil 2000). Sigara içenlerde diyetel antioksidan konsantrasyonları düşük olma eğilimindedir (Müsellim 2007). Ancak bazı çalışmalarda, sigara içenler ve asbestosa maruz kalanlar gibi akciğer kanseri gelişme riski yüksek olan kişilerde vitamin desteğinin koruyucu olmadığı, A vitamini fazlalığının (Ginsberg vd. 2001) ve  $\beta$ -karoten alımının akciğer kanseri mortalitesini arttırdığı saptanmıştır (Tanvetyanon ve Bepler 2008).

Yapılan çalışmalarda, yüksek yağlı diyetle beslenen sigara tiryakilerinde akciğer kanseri riskinin arttığı gösterilmiştir. Hayvanlarda yapılan çalışmalardan bazıları zeytinyağının önemli bir koruyucu etkisinin olduğunu savunmaktadır (Smith vd. 1998).

#### 2.1.2.4 Çevresel Etmenler

Hava kirliliği, biyolojik yakıtlar, radon gazı, asbest, kimyasal ürünler (böcek ilaçları, formaldehit) akciğer kanseri riskinde artışa neden olan çevresel etmenlerdir (Siegfried 1998).

Hava kirliliğine yol açan maddeler arasında, taşıtların egzozları, enerji santralleri ve sanayi faaliyetlerinden kaynaklanan kimyasal madde salımları ve evlerde ısınmak için kullanılan yakıtlar bulunmaktadır. Sanayileşme ve nüfus yoğunluğunun fazla olduğu kentsel bölgelerde hava kirliliğine bağlı olarak akciğer kanseri riskinin kırsal kesimlere oranla arttığı tespit edilmiştir. Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı'na göre dünya çapında akciğer kanserine bağlı her yıl 223.000 ölüm hava kirliliğinden kaynaklanmaktadır (Straif vd. 2013).

Mesleki ve çevresel karsinojenler içinde en iyi bilinenler asbest ve radondur. Bunun dışında, arsenik, berilyum, kadmiyum, formaldehit, polisiklik aromatik hidrokarbonlar, krom, nikel, silika, vinil klorid, iyonize radyasyon gibi etkenler de akciğer kanseri riskini arttırmakta ve bu etkenler ile sigara birlikteliği sinerjistik etki göstermektedir (Cruz vd. 2011).

Radon, uranyumun radyuma dönüşümü sürecinde doğal olarak ortaya çıkan renksiz, kokusuz ve radyoaktif bir gazdır. Uranyum madenlerinde çalışanlar ve nükleer tesislerde çalışanlarda radyoaktif madde maruziyeti nedeni ile daha yüksek akciğer kanseri riskine sahiptirler (Boffetta 2004). Radon gazı (özellikle Rn222)'nin RAS (Rat Sarkoma Viral Proto-onkogen) ve P53 mutasyonlarına sebep olduğu gösterilmiştir (Vähäkangas vd. 1992).

#### 2.1.2.5 Aile Öyküsü ve Genetik Yatkınlık

Epidemiyolojik çalışmalar akciğer kanserinde aile öyküsünün önemli olabileceğini de vurgulamaktadır. Kanserli hastaların birinci derece akrabalarında akciğer kanseri riski 2,4 kat artmaktadır. Ayrıca erken yaşta akciğer tanısı almış birden fazla akrabası olan bireylerde riskin daha fazla olduğu gözlenmiştir (Spitz vd. 2007).

Spesifik genlerin ya da genetik varyasyonların akciğer kanserine yatkınlığı arttırdığı düşünülmektedir. Karsinojenleri içeren toksik ajanların metabolizmasında rol oynayan enzimlere ait mutasyonların kanser gelişimine yatkınlık oluşturduğu yönünde yayınlar da son zamanlarda literatürde yer almaktadır. Bugüne kadar akciğer kanserinin ortaya çıkmasında

sorumlu olabilecek genler sitokrom P450 aile üyeleri *CYP1A1*, *CYP2D6*, *CYP2A6*, *CYP2C9*, *CYP3A4*, *CYP2E1* ve glutatyon S-transferaz üyeleri *GSTM1*, *GSTT* ve *GSTP* olarak belirlenmiştir. Bunlardan *CYP1A1*, *CYP2D6* ve *GSTM1* en ilişkili olanlardır (Ruano-Ravina 2003, Cruz vd. 2011).

Tümör baskılayıcı genler, onkogenler ve DNA onarım kapasitesi, sigara içenlerde yatkınlığı belirlemedeki diğer etkenlerdir. Onkogenlerin en önemli grupları arasında MYC (*c-MYC*, *L-MYC*, *N-MYC*) ve RAS (*K-RAS*, *H-RAS*, *N-RAS*) aileleri bulunmaktadır (Müsellim 2007). Tümör supresör *P53* ve *RB* genindeki kalıtsal mutasyonlara sahip bireylerin daha yüksek akciğer kanseri riskine sahip oldukları bilinmektedir (Takahashi 1989, Nevins 2001). Ayrıca *EGFR* (Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü)'deki nadir bir germline mutasyonu (T790M) ailesel küçük hücreli dışı akciğer kanseri vakaları ile ilişkilendirilmiştir (Bell vd. 2005). Son dönemde yapılan bazı çalışmalarda 5p15.33, 6p21.33 ve 15q25.1'deki polimorfik varyasyonların akciğer kanseri ile ilişkili olduğu saptanmıştır (Amos 2008, Wang vd. 2008c, Landi vd. 2011).

Akciğer kanseri, tüm tümörler içinde genetik bozuklukların en fazla olduğu kanserlerden biridir (Cooper vd. 2013). Mevcut bilgiler ışığında genetik yatkınlık profili elde edebilmek için çok sayıda genin farklı polimorfizmleri tespit edilerek incelenmektedir.

### **2.1.2.6 Akciğer Hastalıkları**

Birçok araştırma solunumsal hastalıklar ile akciğer kanseri arasında pozitif bir ilişki olduğunu göstermiştir. Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı'na göre kronik bronşit, pnömoni, amfizem gibi solunum yolu hastalıklarından birini geçiren bireylerin akciğer kanserine yakalanma riski artmıştır.

Tüberküloz, bronşektazi, pnömoni, abse, pulmoner emboli, interstisyel akciğer hastalıkları gibi akciğerde skatris bırakan hastalıklarda, skar dokusunun kanser gelişimine zemin oluşturduğu ve akciğer tüberkülozu geçiren olgularda akciğer kanseri gelişme riskinin 8 kat fazla olduğu belirtilmektedir (Tatar vd. 2000).

Diğer malign hastalıklar nedeniyle radyoterapi uygulanan hastalarda, primer akciğer kanseri açısından risk altındadır (Kaufman vd.2008).

### 2.1.3 Klinik Özellikler

Akciğer kanseri tanısı çoğunlukla erken evrelerde konulamamaktadır. Bunun muhtemel sebebi hastalığın metastaz yapmadan ya da lokal olarak daha agresif hale gelmeden önce belirti göstermemesidir. Akciğer kanseri tanısı alan vakaların yaklaşık dörtte birine erken evrede tanı konmaktadır. Aslında bu vakaların tipik olarak semptomları yoktur ve insidental olarak saptanır. Hastaların yarısından fazlası ise ileri evrede primer tümör, uzak metastaz ve paraneoplastik sendroma bağlı semptomlarla tanı almaktadır (Ost vd. 2013).

Erken dönemde semptomların özgün olmaması, sağlam kişilerde dahi görülebilen belirtiler ve/veya eşlik eden hastalıklar nedeniyle akciğer kanseri ilk planda akla gelmeyebilir. En sık gözlenen semptomlar öksürük, kilo kaybı, nefes darlığı, göğüs ağrısıdır. Öksürük sigara içen bireylerde mevcut olup, karakter değiştirerek devam ederse akciğer kanserinden şüphelenilebilir. Nefes darlığı da çoğunlukla karşılaşılan semptomlardan olup ayırıcı bir özelliğe sahip değildir. Bunlarla birlikte invazyonla beraber Süperior vena kava sendromu, Horner sendromu, ses kısıklığı, disfaji meydana gelebilir. Hızlı hücre çoğalmasına bağlı olarak ani ortaya çıkan ve hızla ilerleyen semptomlar görülmesi, santral yerleşimli kitle saptanması ve tanıda hematojen metastazlar bulunması KHAK için tipik özelliklerdir. Başta karaciğer, adrenaller, beyin ve kemik olmak üzere hemen her organa metastaz yapabilirler. (Ost vd. 2013).

Paraneoplastik semptom ya da sendromlardan uygunsuz antidiüretik hormon salgılamasına bağlı hiponatremi, Cushing sendromu daha çok KHAK ve karsinoid tümörlerin erken evresinde görülürken, hiperkalsemi, sıklıkla skuamöz hücreli karsinomlarla ilişkilidir. Adenokarsinomlarda, diğer tiplere göre endokrin ve paraneoplastik sendromlar daha az gözlenmektedir (Ost vd. 2013).

### 2.1.4 Histopatolojik Sınıflandırma

Dünya Sağlık Örgütü 2015'te akciğer kanseri sınıflandırmasını güncelleyerek açıklamıştır. Bu sınıflandırmada temel olarak akciğer kanseri; epitelyal tümörler, nöroendokrin tümörler, mezenkimal tümörler, lenfositik tümörler, ektopik orijinli tümörler ve metastatik tümörler olmak üzere altı ana gruba ayrılmıştır (Çizelge 2.2) (Travis vd. 2015).

**Çizelge 2.2** Akciğer kanserinin histopatolojik sınıflandırması (Travis vd. 2015).

---

## HİSTOLOJİK TİP VE ALT TİP

---

### EPİTELYAL TÜMÖRLER

#### Adenokarsinoma

- Lepidik adenokarsinoma
- Asiner adenokarsinoma
- Papiler adenokarsinoma
- Mikropapiller adenokarsinoma
- Solid adenokarsinoma
- İnvaziv müsinöz adenokarsinoma
- Mix invaziv müsinöz ve nonmüsinöz adenokarsinoma
- Kolloid adenokarsinoma
- Fetal adenokarsinoma
- Enterik adenokarsinoma
- Minimal invaziv adenokarsinoma
  - Nonmüsinöz
  - Müsinöz
- Preinvaziv lezyonlar
- Atipik adenomatöz hiperplazi
- İn situ adenokarsinoma
  - Nonmüsinöz
  - Müsinöz

#### Skvamöz Hücreli Karsinoma

- Keratinize skuamöz hücreli karsinoma
- Nonkeratinize skuamöz hücreli karsinoma
- Bazaloid skuamöz hücreli karsinoma
- Preinvaziv lezyonlar
- İn situ skuamöz hücreli karsinoma

### NÖROENDOKRİN TÜMÖRLER

#### Küçük Hücreli Karsinoma

- Kombine küçük hücreli karsinoma

#### Büyük Hücreli Nöroendokrin Karsinoma

- Kombine büyük hücreli nöroendokrin karsinoma

#### Karsinoid Tümörler

- Tipik karsinoid tümörler
- Atipik karsinoid tümörler

#### Preinvaziv Lezyon

- Diffüz idiyopatik pulmoner nöroendokrin hücre hiperplazisi

#### Büyük Hücreli Karsinoma

#### Adenoskuamöz Karsinoma

#### Sarkomatoid Karsinomalar

- Pleomorfik karsinoma
- İgisi hücreli karsinoma
- Dev hücreli karsinoma
- Karsinosarkoma
- Pulmoner blastoma

#### Diğer ve Sınıflandırılmamış Karsinomalar

- Lenfoepitelyoma benzeri karsinoma
- NUT karsinoma

#### Tükürük Bezi Tipi Tümörler

- Mükoepidermoid karsinoma
- Adenoid kistik karsinoma
- Epitelyal-miyoeptelyal karsinoma
- Pleomorfik adenoma

(Çizelge 2.2 devam ediyor)

**Papillomalar**

- Skvamöz hücreli papilloma
- Ekzofitik
- Inverted (ters)
- Glandüler papilloma
- Mix skuamöz ve glandüler papilloma

**Adenomalar**

- Sklerozan pnömositoma
- Alveoler adenoma
- Papiller adenoma
- Müsinöz kistadenoma
- Muköz bez adenoması

**MEZENKİMAL TÜMÖRLER**

**Pulmoner Hamartoma**

**Kondroma**

**PEComatöz Tümörler**

- Lenfanjiyoleiomyomatoz
- PEComa, iyi huylu
- Berrak hücreli tümör
- PEComa, kötü huylu

**Konjenital Peribronşiyal Miyofibroblastik Tümör**

**Diffüz Pulmoner Lenfanjiyomatöz**

**İnflamatuar Miyofibroblastik Tümör**

**Epiteloid Hemanjiyoendotelyoma**

**Plevropulmoner Blastoma**

**Sinoviyal Sarkoma**

**Pulmoner Arter İntimal Sarkoma**

**Pulmoner Mixoid Sarkoma (EWSR1-CREB1 translokasyonu)**

**Miyoepitelyal Tümörler**

- Miyoepitelyoma
- Miyoepitelyal karsinoma

**LENFOHİSTİYOSİT TÜMÖRLER**

**Mukoza İlişkili Ekstranodal Marjinal Zon Lenfoma**

- Lenfoid doku (MALT lenfoma)

**Diffüz Büyük Hücreli Lenfoma**

**Lenfomatoid Granülomatoz**

**İntravasküler Büyük B Hücreli Lenfoma**

**Pulmoner Langerhans Hücreli Histiyositoz**

**Erdheim- Chester Hastalığı**

**EKTOPIK ORİJİNLİ TÜMÖRLER**

**Germ Hücreli Tümörler**

- Teratoma, matür
- Teratoma, immatür

**İntrapulmoner Timoma**

**Melanoma**

**Menenjiyoma, NOS**

**METASTATİK TÜMÖRLER**

---

Önceki yıllarda, skuamoz hücreli kanser, akciğer kanserlerinin yaklaşık %50'sini oluştururken son yıllarda etiyolojide sigara kullanımının artması nedeniyle adenokarsinomun daha sık görüldüğü bildirilmektedir (Cruz vd. 2011). Akciğer kanserlerinin tedavisindeki en önemli gelişme, adenokarsinomlarda hedefe yönelik yeni ajanlar uygulanması olmuştur. Bu nedenlerle araştırmalar ve yeni çalışmalar akciğer adenokarsinomları üzerinde yoğunlaşmaktadır (Yıldız 2017).

Akciğer kanserinin hücre tipi, hem tedavi hem prognoz ile ilişkilidir. Klinikte, akciğer kanserinin, klinik, tedavi ve prognoz özelliklerini dikkate alarak küçük hücreli akciğer kanseri ve küçük hücreli dışı akciğer kanseri olmak üzere iki ana gruba ayrılarak tedavi ve takibi yapılır (Larsen ve Minna 2011).

### **2.1.5 Evreleme**

Akciğer kanseri tanısı alan hastalarda evreleme, hastalığın seyri, yayılması ve tedavisini belirlemek açısından büyük bir öneme sahiptir. Bu sayede daha önceki benzer evredeki hastalara ait deneyim ve tedavi sonuçlarına göre yeni vakalarda en uygun tedavi seçimi sağlanabilmektedir. Doğru evreleme, tedavi sonuçlarını ve klinik araştırmalarını değerlendirmek kanser araştırmalarına baz oluşturması açısından büyük önem taşır. Ulusal ve uluslararası platformda kanser vakalarının klasifikasyonu üzerinde anlaşılması, klinik deneyimin şüphe içermeden aktarılmasını sağlamaktadır (Ergüney 2012). Bu nedenle evreleme için, primer tümörün büyüklüğü ve yayılımına (T), bölgesel lenf bezi tutulumuna (N), uzak metastaz varlığına (M) dayanan TNM sınıflaması yapılmıştır (Spiro ve Porter 2002).

### **2.1.6 Moleküler Patoloji**

Kanser, hücrelerin bir takım farklılaşmalar geçirerek kontrolsüz bir biçimde aşırı çoğalması sonucu ortaya çıkan bir hastalıktır. Kanser hücrelerinde, normal hücrelere göre çeşitli genlerde ekspresyon farklılıkları ve mutasyonlar meydana gelmektedir. Proto-onkogenler, tümör baskılayıcı genler ve bazı koruyucu genlerde meydana gelen mutasyonlar kanser indüksiyonunda anahtar rol oynar. Bu genler hücre büyümesinin ve çoğalmasının kontrolüne yardımcı olan çeşitli proteinleri kodlar. Özel bir kanser tipiyle ilgili genetik çalışmalarla, tümör hücrelerinde sürece katkısı olan mutasyona uğramış bir ya da daha fazla genin

belirlenmesi, hastalık ve evre teşhisi yapılabilmesi, yatkınlık derecesinin belirlenebilmesi ve yeni tedaviler için olası yöntemlerin geliştirilmesine olanak sağlar (Lodish vd. 2011).

Akciğer kanseri genetik bozuklukların en fazla olduğu kanserlerden biridir (Cooper vd. 2013). Akciğer kanseri hücreleri mutasyon, amplifikasyon, delesyon, insersiyon ve translokasyon gibi birçok kromozomal anormallikler içerir (Sato vd. 2007). Moleküler biyolojideki gelişmeler sayesinde akciğer kanserindeki genetik bozuklukların bir kısmı saptanmış olmasına rağmen bir kısmı hala bilinmemekte ve hastalığın prognozunda önemli bir değişiklik kaydedilememektedir (URL-1). Bu nedenle son yıllarda moleküler biyolojiye dayalı uzun süreli sağ kalımı belirleyebilecek yeni evreleme sistemleri geliştirilmeye çalışılmakta ve prognostik önemi olabilecek yeni faktörler incelenmektedir (Travis vd. 2015). Yapılan çalışmalar yalnızca genetik değil, epigenetik belirteçlerin de erken tanı ve tedavide önemli ipuçları verebileceğini göstermektedir (Sato vd. 2007, Yıldız 2017).

Çoğu kanserde olduğu gibi akciğer kanseri de onkogenlerin aktivasyonu veya tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonu ile başlar (Sato vd. 2007). Akciğer adenokarsinomlarında çoğunlukla *KRAS* proto-onkogen mutasyonları görülürken, küçük hücreli akciğer karsinomunda tümör baskılayıcı gen *P53* mutasyonu ile *EGFR* amplifikasyon ve mutasyonu daha sık görülür. (Hainaut vd. 1998, Shigematsu ve Gazdar 2006). Değişikliğe uğrayan diğer genlerden bazıları ise *ALK*, *MET*, *BRAF*, *ROS1*, *RET*, *HER2*, *FGFR1* ve *DDR2*'dir (Cooper vd. 2013).

Çalışmalarda klinik olarak akciğer kanseri tanısı konulmadan önce alınan balgam örneklerinde *P53* ve *RAS* mutasyonları ile p16 hipermetilasyonu rapor edilmiştir. Bu nedenle erken tanıda oldukça önem taşırlar (Kersting vd. 2000). Tümör baskılayıcı bir gen olan *P53*'ün mutasyonları, küçük hücreli akciğer kanserinde %90'dan fazla, küçük hücreli dışı akciğer kanserinde ise %50'den fazla görülmektedir ve kötü prognozla ilişkilidir. Yapılan bir çalışmada *P53* mutasyonunun skuamöz hücreli kanserlerde, ileri evre tümörlerde, erkeklerde ve sigara içenlerde daha sık olduğu rapor edilmiştir (Sato vd. 2007). *P53* tarafından uyarılan tümör baskılayıcı role sahip miR-34'ün de akciğer kanserinde ekspresyonunun azaldığı bilinmektedir (Gallardo vd. 2009).

Diğer bir moleküler belirleyici, birçok kanserde önemli rol oynayan ve kötü prognozla ilişkilendirilen *KRAS* (Kirsten Rat Sarkoma Viral Proto-onkogen) mutasyonlarıdır. *KRAS*



mutasyonu akciğer adenokarsinomlarında en sık görülen (%20-30) onkogenik değişikliklerden biriyken skuamöz hücreli karsinomlarda daha nadir (%5) izlenir. Mutasyonla birlikte gen ürünleri kontrolsüz olarak artmakta ve MAPK (Mitojen-aktive Protein Kinaz) fosforilasyonu aktifleşmektedir. Bu da hücre çoğalması ve tümör gelişimini teşvik etmektedir. KRAS proteininin sinyal iletiminde ve MAPK sinyal yolunda görevli olan *BRAF* (B-RAF Proto-onkogeni) gen mutasyonları da akciğer kanserinde %3 oranında saptanmıştır (Sato vd. 2007, Lohinai vd. 2017, Cooper vd. 2013).

Tirozin kinaz reseptörlerinden *EGFR* genindeki mutasyon ve insersiyonlar da akciğer kanserinde önemli göstergeler olarak bilinmektedir (Shigematsu ve Gazdar 2006). *EGFR* mutasyonu akciğer adenokarsinomlarının yaklaşık %20'sinde tespit edilir. Anormal aktivasyonu çeşitli sinyal yollarını aşırı etkinleştirerek hücre yaşam süresinde artış, apoptoz inhibisyonu, hücre proliferasyonu, anjiyogenez, migrasyon artışı gibi yollarla kanser gelişimine katkıda bulunmaktadır (Rosell vd. 2012). *EGFR* mutasyonlarına, adenokarsinom histolojisi, Asya etnik kökenli, sigara içmeyen ve kadın hastalarda daha sık rastlanır (Shigematsu vd. 2005). Tedavide tirozin kinaz inhibitörleri kullanılarak tümör gerilemesi sağlanmaktadır (Lynch vd. 2004, Bell vd. 2005).

*ALK* (Anaplastik Lenfoma Kinaz)'de bir tirozin kinaz reseptörüdür. İnversiyon sonucu *EML4* (Echinoderm Mikrotübül Benzeri Protein 4) geni ile yaptığı füzyonla onkogenik bir gen haline dönüşür. *EML4-ALK* füzyon geni akciğer adenokarsinomlarının yaklaşık %3-5'inde tespit edilmiştir. Genellikle sigara içmeyen veya kısa süreli az miktarda sigara içen genç-orta yaş erkeklerde sık rastlanır (Larsen ve Minna 2011, Kim vd. 2012).

Kromozomal değişiklikler görülen diğer önemli genler *ROS1* ve *RET* proto-onkogenleridir. İkisinin de akciğer kanserinde insidansı %1-2 arasındadır ve yine tirozin kinaz inhibitörleriyle tedavileri önerilmektedir. *ROS1* değişiklikleri *EGFR*, *KRAS*, *BRAF*, *HER-2*, *MET* ve diğer onkogenik değişikliklerle bir arada görülebilmektedir (Kohno vd. 2015).

*MET* proto-onkogeni akciğer kanserinde büyük öneme sahip, değişime uğrayan bir diğer gendir. *MET* genindeki değişiklikler; overekspresyon, amplifikasyon, mutasyon ve epigenetik değişiklikler gibi farklı mekanizmalar ile ortaya çıkmaktadır. Çeşitli kanserlerde tümör gelişimini ve metastazı arttırdığı gösterilmiş, kötü prognozla ilişkilendirilmiştir. *MET*

amplifikasyonu skuamöz hücreli kanserde, adenokarsinoma göre daha sık görülmektedir (Go vd. 2010, Cooper vd. 2013).

Özellikle meme kanserinde çokça çalışılmış olan *ERBB2* (Erb-B2 Reseptör Tirozin Kinaz 2 / *HER2*)'nin insan tümörlerinde genellikle amplifikasyonu ve aşırı ifade edildiği tespit edilmiştir. Akciğer adenokarsinomlarında yaklaşık %10-20 oranında *ERBB2* amplifikasyonu bulunurken, %2-4 oranında mutasyonu saptanmaktadır. *ERBB2* mutasyonu Asya etnik kökenli, sigara içmemiş ve kadın hastalarda daha sık görülmektedir (Hirsch vd. 2002, Cooper vd. 2013).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda hücre proliferasyonu, sağ kalımı ve anjiogenezin düzenlenmesinde önemli bir role sahip olan *FGFR1* (Fibroblast Büyüme Faktörü Reseptörü 1) geninin amplifikasyonu skuamöz hücreli karsinomların yaklaşık %20'sinde, adenokarsinomların %3'ünde saptanmıştır (Roh vd. 2014). Ayrıca skuamöz hücreli karsinomların yaklaşık %3'ünde bir başka kinaz reseptör olan *DDR2* (Discoidin Domain Reseptör Tirozin Kinaz 2) mutasyonları tanımlanmıştır (Cooper vd. 2013).

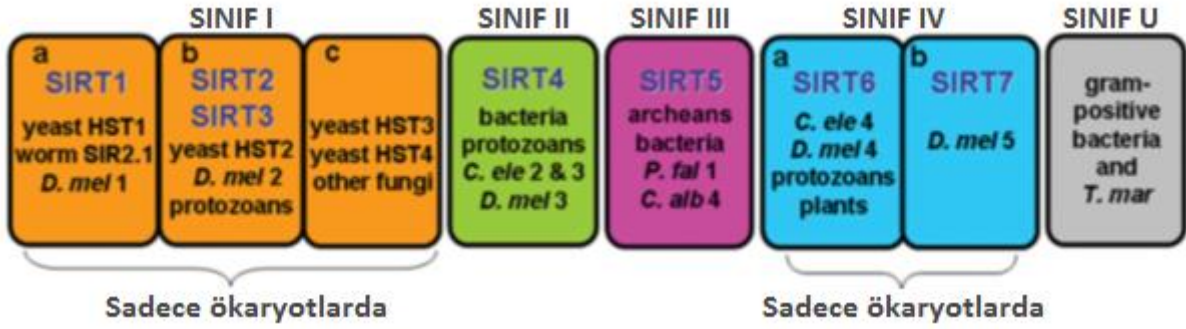
## 2.2 SİRTUİNLER

Sir2 (Silent Information Regulatory 2), ilk olarak Klar vd. (1979) tarafından mayada keşfedilmiş ve başlangıçta histon ya da histon dışı hedeflerin deasetilasyonunu yapan gen düzenleyici olarak tanımlanmıştır. Daha sonra elde edilen bilgiler ışığında mayaların replikatif ömürlerini arttırdığı görülmüş, ayrıca uzun ömür ve sağlıklı yaşam için kalori kısıtlamasında yararlı etkilerinin olduğu gösterilmiştir (Michan ve Sinclair 2007).

Sirtuinler, mayadaki Sir2 ailesinin memeli homologudur. Sirtuin ismi ilk kez 1999 yılında, SIRT1-5 arasındaki beş Sir2 insan homologunu tanımlayan Roy Frye tarafından kullanılmıştır. Memelilerde Sirtuin ailesinin farklı hücresel bölmelerde lokalize olan ve çeşitli etkilere sahip yedi üyesi bulunmaktadır (SIRT 1-7) (Michan ve Sinclair 2007).

Çok sayıda organizmadan elde edilen sirtuinler filogenetik analiz sonucu 5 ana sınıfa (I, II, III, IV ve U) ayrılmıştır (Şekil 2.5). Yedi memeli sirtuini, moleküler filogenetik analizine göre dört sınıfta (I, II, III ve IV) yer alır. Sınıf II, Sınıf III ve Sınıf U sirtuinler, diğer sınıflardan daha erken evrimleşmiş görünmektedir. Bu nedenle, SIRT4 ve SIRT5 en eski memeli

sirtuinleri olabilir. SIRT1 sekansı *S. cerevisiae* Sir2 proteini ile en yakın homolojiye sahipken, SIRT4 ve SIRT5 prokaryotik sirtuin sekanslarına daha fazla benzemektedir (Flick ve Lüscher 2012).



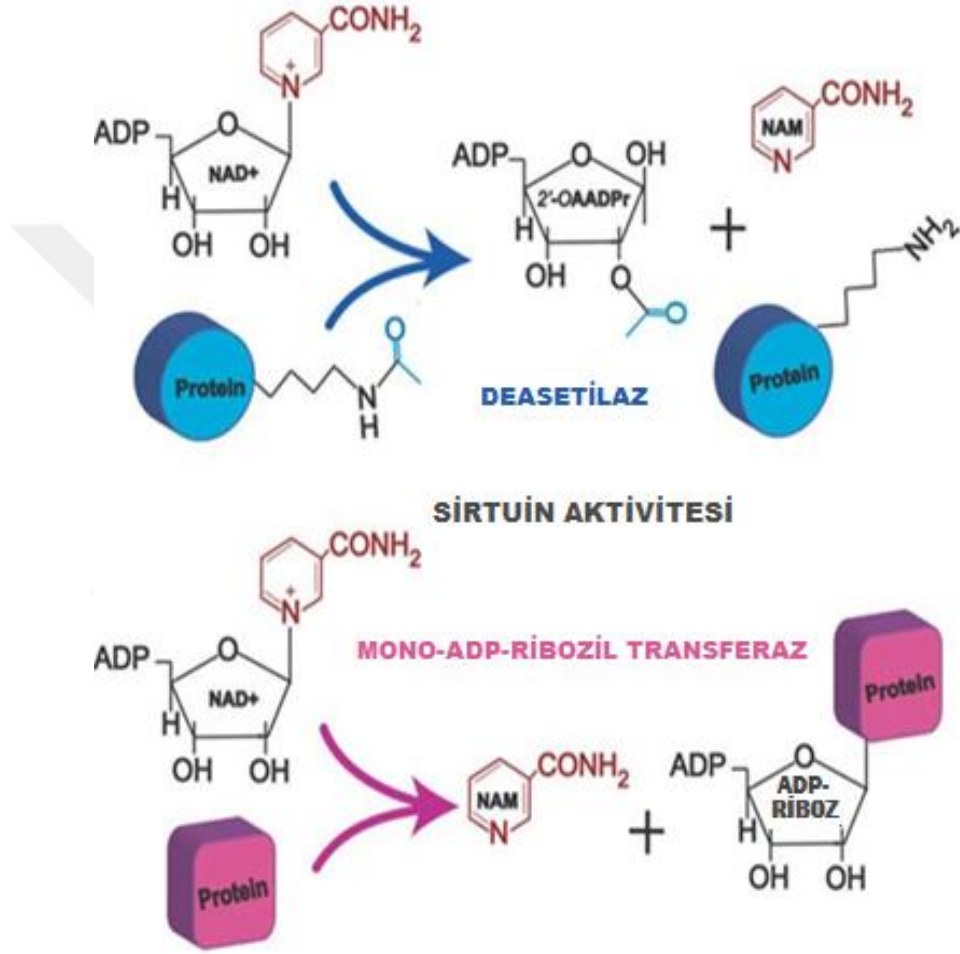
Şekil 2.5 Memeli sirtuinlerinin sınıflandırılması (Michan ve Sinclair 2007).

NAD<sup>+</sup> kofaktörüne ihtiyaç duyan Sirtuinler, tip III histon deasetilazların (HDAC) içinde sınıflandırılırlar. Sirtuinler, katalitik aktiviteleri için NAD<sup>+</sup> kofaktörüne ihtiyaç duymalarıyla geleneksel HDAC'lerden fonksiyonel olarak farklılık gösterirler (Poulose ve Raju 2015).

Sirtuinler, NAD<sup>+</sup> bağımlı deasetilaz ya da mono-ADP-ribozil-transferaz aktiviteleri ile birlikte neredeyse tüm türlerde bulunan evrimsel olarak korunmuş bir ailenin üyesidir. Çeşitli transkripsiyon faktörlerinin ve enzimlerin deasetilasyonu ile birçok hücrel mekanizmayı düzenlemektedir (Michan ve Sinclair 2007). Sirtuin ailesinin etki ettiği en önemli mekanizmaların başında gen ifadesinin düzenlenmesi gelir. Histonların deasetilasyonu kromatinin yoğunlaşmasını (heterokromatin) ve böylece de gen ifadesinin baskılanmasını sağlar (Taddei vd. 2005).

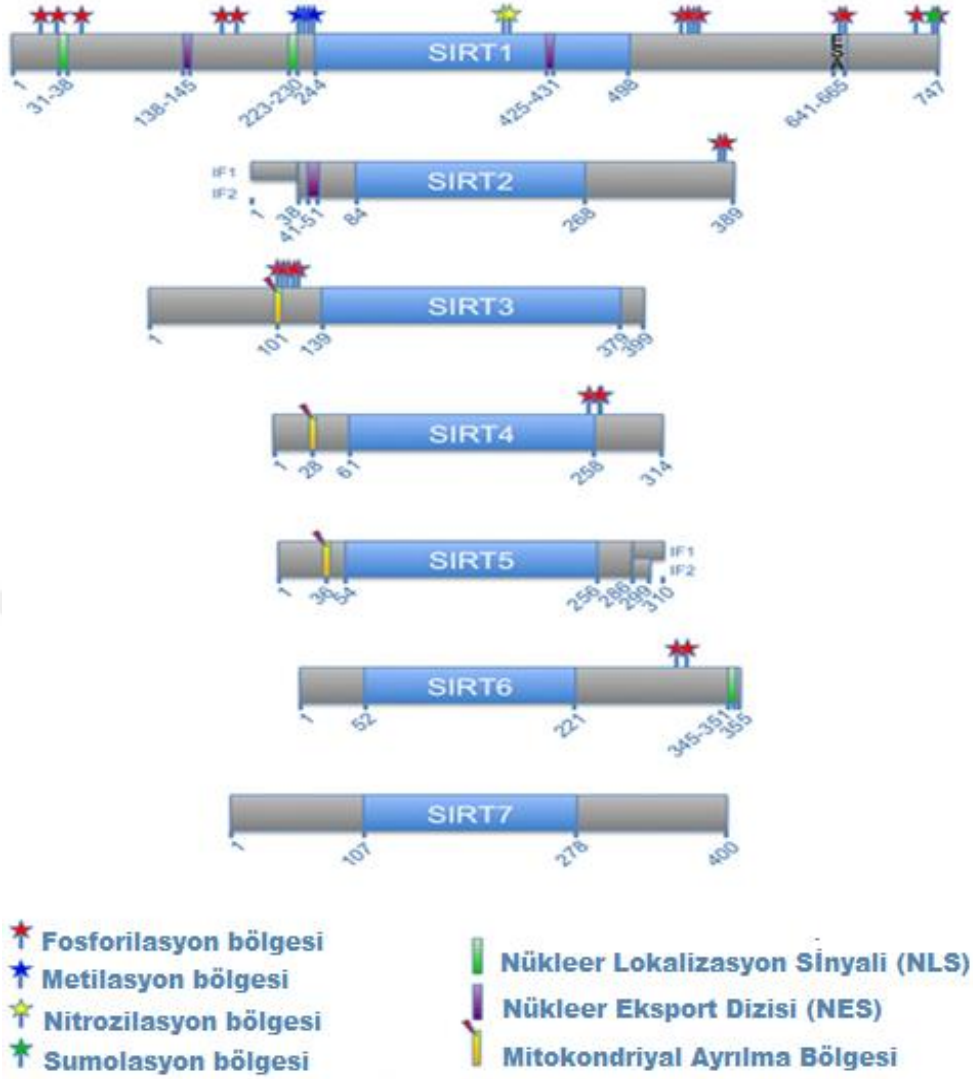
Sirtuin aracılı histon deasetilaz reaksiyonları asetile lizinler için spesifiktir. Sirtuinlerin histon dışı deasetilasyon reaksiyonlarına da katıldığı tespit edilmiştir. Sirtuinler deasetilaz reaksiyonlarında, substrattan asetil grubunun kopararak NAD<sup>+</sup>'ın ADP-riboz kısmına aktarılmasını kataliz eder. Reaksiyon, nikotinamid (NAM) ve 2'-O-asetil-ADP-riboz (OAADPr) oluşumu ile sonuçlanır (Şekil 2.6). SIRT1, en yaygın çalışılan ve en güçlü deasetilaz aktivitesi gösteren sirtuin çeşididir (Michan ve Sinclair 2007, Sauve 2010).

Sirtuinler için histon deasetilaz aktivitesinden daha önce tanımlanmış olan bir diğer mekanizma mono-ADP-ribozil transferaz aktivitesidir. Sirtuin aracılı mono-ribozil-transferaz reaksiyonlarında ADP-riboz grupları  $NAD^{+}$ 'dan alıcı proteinlere ADP-ribozilasyon olarak adlandırılan post-translasyonel modifikasyonla aktarılır. Bu reaksiyon sonunda mono-ADP-ribozile proteinler üretilir ve deasetilasyon reaksiyonlarına benzer şekilde nikotinamid oluşumu ile sonuçlanır (Şekil 2.6) (Michan ve Sinclair 2007, Sauve 2010).



Şekil 2.6 Sirtuinlerin enzimatik aktivitesi (Michan ve Sinclair 2007).

Memelilerde her bir sirtuin yaklaşık 200-275 amino asitlik korunmuş katalitik çekirdek alan ve özgün olarak değişen uzunlukta ilave N-terminal ve/veya C-terminal diziler ile karakterize edilmektedir (Flick ve Lüscher 2012).



**Şekil 2.7** İnsan sirtuinlerine şematik genel bakış. Korunmuş katalitik çekirdek alanı mavi renk, farklı N ve C-terminal uzantıları gri renk ile gösterilmiştir. Ayrıca PTM (post translasyonel modifikasyon)'ler, NLS, NES ve proteolitik bölünme bölgeleri belirtilmiştir (Flick ve Lüscher 2012).

Sirtuin üyelerinin hücrede primer lokalizasyonu, bu proteinlerin önemli ölçüde değişen fonksiyonel ayrımını yansıtır (Roth ve Chen 2014). SIRT1, SIRT6 ve SIRT7, histonları deasetile etme işlevi görerek, gen ekspresyonunu epigenetik olarak etkiledikleri nükleusta lokalize olurlar. SIRT1 ayrıca, spesifik transkripsiyon faktörlerini ve enzimleri de deasetile eder. SIRT2 ilk başta sitosolik sirtuin olarak tanımlanmıştır, ancak son veriler SIRT2'nin hücre döngüsü kontrolünü modüle etmeye yaradığı ve nükleusta da bulunduğunu göstermektedir. SIRT3, SIRT4 ve SIRT5 mitokondride lokalizedir ve genel olarak mitokondriyal oksidatif metabolizmayı arttırarak kalori kısıtlamasına cevap vermektedirler (Çizelge 2.3) (Chang ve Guarente 2014).

**Çizelge 2.3** Memeli sirtuinleri, lokalizasyonları ve hücre içi hedefleri (Poulose ve Raju 2015).

Sirtuin	Lokalizasyon	Substratları	Enzimatik Aktivitesi
SIRT1	Nükleus Sitoplazma	Histon H1, Histon H3, Histon H4, p53, NF- $\kappa$ B, FOXO4, PGC1 $\alpha$ , HIF1 $\alpha$ , HIF2 $\alpha$ , p300, LXR, FXR, Ku70, XPA, WRN, NBS1, Ace-CS1, c-Myc, SUV39H1, BMAL1, PER2, PARP1, SREBP-1C	Deasetilasyon
SIRT2	Nükleus Sitoplazma	Histone H4, Histone H3, Tubulin, FOXO1, FOXO3A, p53, p300, p65, PEPCK1, CDK9, HIF1 $\alpha$ , G6PD	Deasetilasyon
SIRT3	Mitokondri	AceCS2, Ku70, SOD2, GDH, LCAD; ATP synthase F1, ALDH2, Skp2, FOXO3	Deasetilasyon
SIRT4	Mitokondri	GDH, Stress-70	Deasetilasyon, ADP-ribozilasyon
SIRT5	Mitokondri	Cytochrome C, CPS1, SOD1, Urate oxidase, HMGCS2	Deasetilasyon
SIRT6	Nükleus	TNF $\alpha$ , Histone H3, PARP1	Deasetilasyon, ADP-ribozilasyon
SIRT7	Nükleolus	Histone H3, p53, DNA-PK	Deasetilasyon

Sirtuin enzimleri, metabolizma, yaşlanma ve yaşa bağlı insan hastalıklarındaki çeşitli fizyolojik rolleri nedeniyle son yıllarda büyük ilgi görmektedir (Hoffmann vd. 2014). Hücre döngüsünün düzenlenmesi, apoptoz, mitokondriyal biyogenez, lipid metabolizması, yağ asidi oksidasyonu, hücrel stres yanıtı, insülin salgılanması, yaşlanma ve inflamasyon gibi pek çok fizyolojik süreçte rol oynayan sirtuinler kanser, diyabet, karaciğer yağlanması, yaşlanmaya bağlı hastalıklar ve nörodejeneratif hastalıklar gibi pek çok hastalıkla ilişkilendirilmiştir (Taddei vd. 2005, Poulose ve Raju 2015, Palmirotta vd. 2016).

Memeli sirtuinleri hücrenin strese karşı direncinde ve hücre ölümünün düzenlenmesinde önemli rol oynar. En iyi çalışılmış memeli sirtuini olan SIRT1, inflamasyonu ve oksidatif stresi azaltarak yaşlanmanın düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Strese karşı bu direnci, transkripsiyon faktörü olan FOXO (Forkhead Protein Transkripsiyon Faktörü) ile etkileşimi sonucu meydana gelmektedir. Bu transkripsiyon faktörleri stres direncini ve enerji durumunu düzenleyerek hücrenin yaşam süresini etkilemektedir (Brunet vd. 2004). SIRT1'in doğal aktivatörleri olan kalori kısıtlaması ve resveratrol ile SIRT1 aktivasyonunun yaşam süresini

önemli şekilde artırdığı bildirilmiştir (Bordone ve Guarente 2005). SIRT1'in etki ettiği diğer bir mekanizma apoptoz ve hücre sağ kalımıdır. SIRT1'in NF- $\kappa$ B, FOXO3a, P53, P73, E2F1 ve Ku70 üzerindeki inhibe edici etkisi, DNA onarımı, oksidatif stres direnci ve inflamasyon gibi farklı hücrel süreçleri etkileyerek hücrenin hayatta kalmasını sağlar (Olmos vd. 2011).

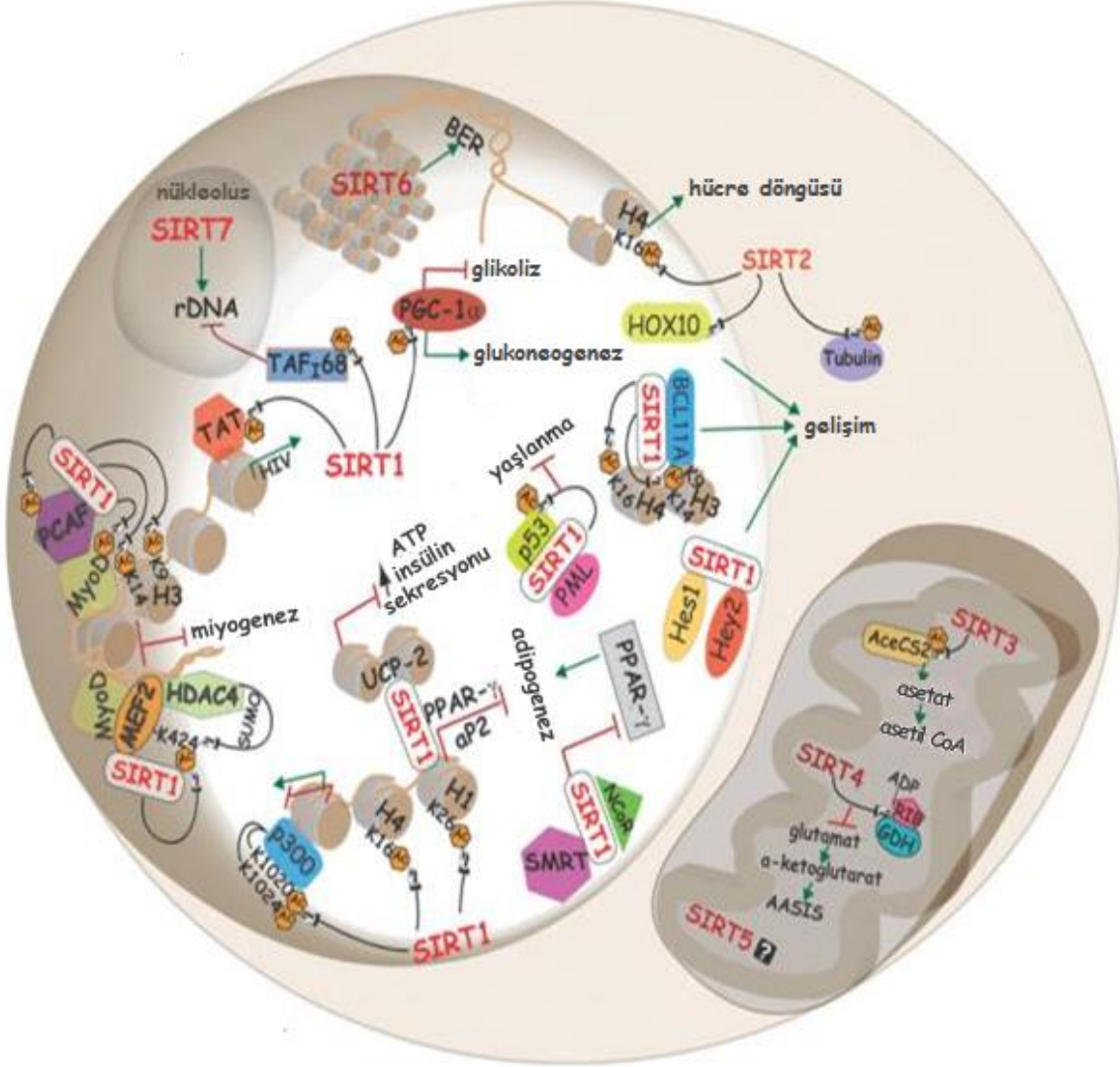
Ayrıca SIRT1, lipid metabolizması, glukoz metabolizması, insülin salgılanması ve termogenez gibi metabolik süreçlerin düzenlenmesinde rol oynar. Yapılan çalışmalarda, SIRT1 aktivasyonunun diyabet, karaciğer yağlanması, inflamasyon ve nörodejeneratif hastalıkların azalmasında etkili olduğu bildirilmiştir (Rahman ve İslam 2011).

SIRT2'nin tümörigenez, hücre sağ kalımı, hücre döngüsünün düzenlenmesi ve inflamasyon gibi birçok süreçte görev aldığı bildirilmiştir (Gomes vd. 2015). Asıl sitoplazmik hedefi olan tubulini hedefleyerek mikrotübül organizasyonunu düzenler (North vd. 2003). FOXO transkripsiyon faktörü ailesinin üyeleri de SIRT2'nin hedefleri arasındadır. SIRT2, hücrenin strese karşı direncinde önemli rolü olan FOXO3a'nın aktive edilmesi, FOXO1'in pro-otofajik rolünün engellenmesi ve P53'ün inhibisyonu yoluyla hücrel sağ kalımı arttırmaktadır (Olmos vd. 2011). Ayrıca SIRT1'e benzer şekilde NF- $\kappa$ B aktivitesini inhibe ederek inflamasyon sürecinin gelişiminde koruyucu rol oynar (Rothgiesser vd. 2010).

Geniş bir substrat yelpazesine sahip olan ana mitokondriyal deasetilaz SIRT3 (Sirtuin 3) (Roth ve Chen 2014), reaktif oksijen türleri (ROT) ve SIRT1 üretimini azaltarak ömür uzunluğunu kontrol etmektedir. SIRT3 deasetilaz yağların  $\beta$ -oksidasyonu, aminoasit metabolizması, elektron transport zinciri ve antioksidan savunma ile ilgili mitokondriyal enzimleri aktive etmektedir. SIRT3, 'ün Ace-CS1 (Asetil Co-A Sentetaz), PGC-1 $\alpha$  ve UCP-1 (Uncoupling Protein 1) gibi mitokondriyal genleri düzenleyerek birçok hücrel yolu aktive ettiği bildirilmektedir (Lombard ve Zwaans 2014). SIRT4 (Sirtuin 4), etkisini ADP-ribozil transferans aktivitesiyle gösterir ve mitokondriyal GDH (Glutamat Dehidrogenaz)'ı inhibe eder. Böylece glutamin ve glutamatu düzenleyerek oksidatif metabolizma ve aminoasitlerin stimüle ettiği insülin salınımını düzenler (Haigis vd. 2006). Mitokondriyal SIRT5 (Sirtuin 5)'in ana hedefi üre siklusu enzimi CPS- 1 (Karbamoil Fosfat Sentetaz-1)'dir. Böylece, üre üretimi ve hücredeki fazla amonyanın uzaklaştırılmasında rol oynayarak oksidatif stresi azaltır (Gertz ve Steegborn 2010).



SIRT6 (Sirtuin 6), DNA stabilizasyonu ve onarımında önemli rol oynamaktadır. SIRT7 (Sirtuin 7)'nin, RNA polimeraz-I ve histonlarla etkileşerek rRNA (ribozomal RNA) transkripsiyonunu düzenlediği bildirilmiştir (Roth ve Chen 2014).



Şekil 2.8 Memeli sirtuinlerinin hüresel fonksiyonları (Michan ve Sinclair 2007).

Sirtuinlerin hücre proliferasyona etkisi çeşitli moleküler süreçler ile gerçekleşir. Bunlardan bazıları; SIRT1'in P53 aktivasyonunu inhibe etmesi, FOXO etkinliğini düzenlemesi, SIRT2'nin hücre döngüsü sırasında kromozom kontrolünü yapması, SIRT6'nın BER'i (Baz Eksizyon Onarımı) etkinleştirmesi, SIRT7'nin ise rRNA transkripsiyonu artırması şeklinde özetlenebilir (Bayram ve İğci 2013). Sirtuinler ve kanser arasındaki ilişkiyi destekleyen çok sayıda deneysel kanıt bulunmaktadır. Bunların önemli bir kısmında, sirtuin ailesinin bazı üyelerinin tümör baskılanmasında rol oynadığı bildirilmiştir.



Bir dizi in vivo fare modeli çalışmaları, SIRT1'in normal hücrelerde genetik stabiliteyi sürdürdüğü ve tümör oluşumunu yavaşlattığı yönündedir. SIRT1'in aşırı ekspresyonu, APC<sup>min/+</sup> modelinde kolon kanseri büyümesini baskılamaktadır (Firestein vd. 2008). Ayrıca hem *SIRT1* hem *p53* heterozigot farelerde spontan tümörler gelişmiştir. Ancak çoğu çalışma, SIRT1 ekspresyonunun bazı insan kanserlerinde malignite ile pozitif korelasyonu olduğunu göstermektedir (Wang vd. 2008b).

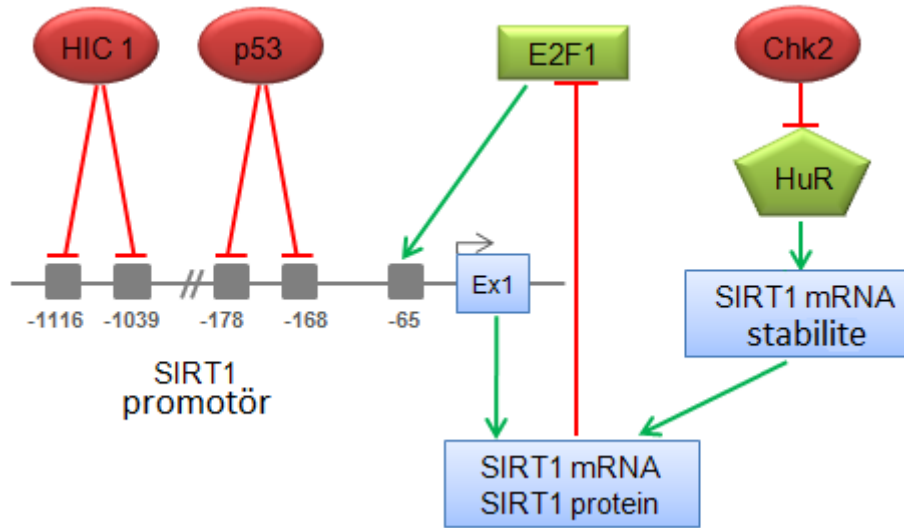
Hücre döngüsünün düzenlenmesinde rol oynayan SIRT2 ile ilgili yapılan çalışmaların çoğu ise daha çok tümör baskılayıcı olarak işlev gördüğü yönündedir. *SIRT2*-nakavt farelerde azalan APC/C (Anafaz Uyarıcı Kompleks/Siklozom) aktivitesine bağlı olarak dişilerde meme tümörleri ve erkeklerde hepatosellüler karsinom gelişmiştir (Kim vd. 2011). Ayrıca *SIRT2*'nin insan gliomalarında da tümör baskılayıcı rol oynadığı bildirilmiştir (Hiratsuka vd. 2003).

### 2.2.1 SIRT1

SIRT1 protein sekansı, maya NAD<sup>+</sup> bağımlı deasetilaz Sir2 (Silent Information Regulatory 2) proteinine en yakın memeli homoloğu olan ve en çok çalışılan memeli sirtuinidir (Roth ve Chen 2014).

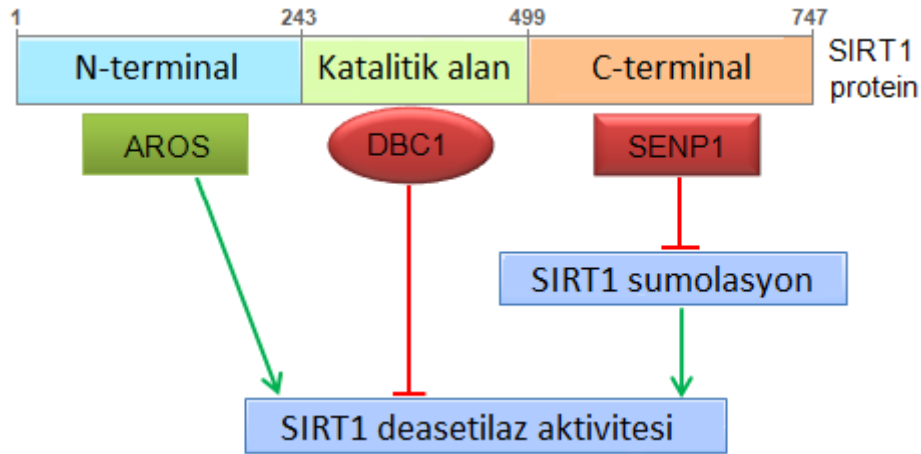
10q21.3 kromozomunda bulunan *SIRT1* geni, içerdiği toplam 9 ekzon dahil yaklaşık 34 kb boyutundadır ve 747 amino asitlik bir proteinini kodlar. İnsan *SIRT1* geni, N terminalinde nükleer bir lokalizasyon sinyali (NLS) ve merkezde korunmuş bir sirtuin katalitik alanı içerir. *SIRT1*'in katalitik etkinliği kofaktör nikotinamid adenin dinükleotidi (NAD<sup>+</sup>)'ne bağlıdır (URL-4).

SIRT1 aktivitesi, AROS (Sirt1'in Aktif Regülatörü), DBC-1 (Deleted in Bladder Cancer Protein 1) ve SENP1 (SUMO Specific Peptidase 1) tarafından düzenlenebilirken (Şekil 2.10), gen ekspresyonu, hem transkripsiyonel hem de post-transkripsiyonel seviyelerde p53, HIC1 (Hypermethylated in Cancer 1), E2F1 (E2F Transkripsiyon Faktör 1) ve HuR (Hu Antijen R) ile modüle edilir (Şekil2.9) (Liu vd. 2009).



**Şekil 2.9** SIRT1 mRNA ekspresyonunun onkogenler ve tümör baskılayıcı genler tarafından modülasyonu (Liu vd. 2009).

Tümör baskılayıcı HIC1, doğrudan *SIRT1* gen promotöründe yer alan bağlanma bölgeleri ile etkileşime girerek *SIRT1* gen transkripsiyonunu baskılar ve böylece SIRT1'in deasetilaz hedefi olan başka bir tümör baskılayıcı P53'ün asetilasyonu ve aktivasyonuna yol açar. Ayrıca P53'ün kendisi de *SIRT1* promotöründeki iki bağlanma bölgesiyle SIRT1 transkripsiyonunu baskılayabilir (Roth ve Chen 2014). Bir tümör baskılayıcı olan miR-34a'nın, *SIRT1*'in 3'-UTR'sine doğrudan bağlandığı, böylece ekspresyonunu bastırdığı ve P53 aracılı apoptozu arttırdığı bildirilmiştir. miR-34a'nın P53'ün transkripsiyonel bir hedefi olduğu da bilinmektedir (Poulose ve Raju 2015). Onkogenik RNA bağlayıcı protein olan HuR ise, SIRT1 mRNA'nın stabilitesinin artmasına ve yüksek ekspresyon seviyesine neden olur. Buna karşılık, bir tümör baskılayıcı olan Chk2 (Kontrol Noktası Kinaz 2), HuR'yi fosforile eder ve SIRT1 ekspresyonunu azaltır. Ayrıca, hücrel stres veya DNA hasarı altında, hücre döngüsü ve apoptoz düzenleyici E2F1, *SIRT1* promotörüne bağlanarak doğrudan *SIRT1* transkripsiyonunu uyarır. Bununla birlikte, SIRT1, E2F1'i baskılayarak kendisi de dahil E2F1'in hedef genlerinin transkripsiyonunu engelleyebilir (Liu vd. 2009).



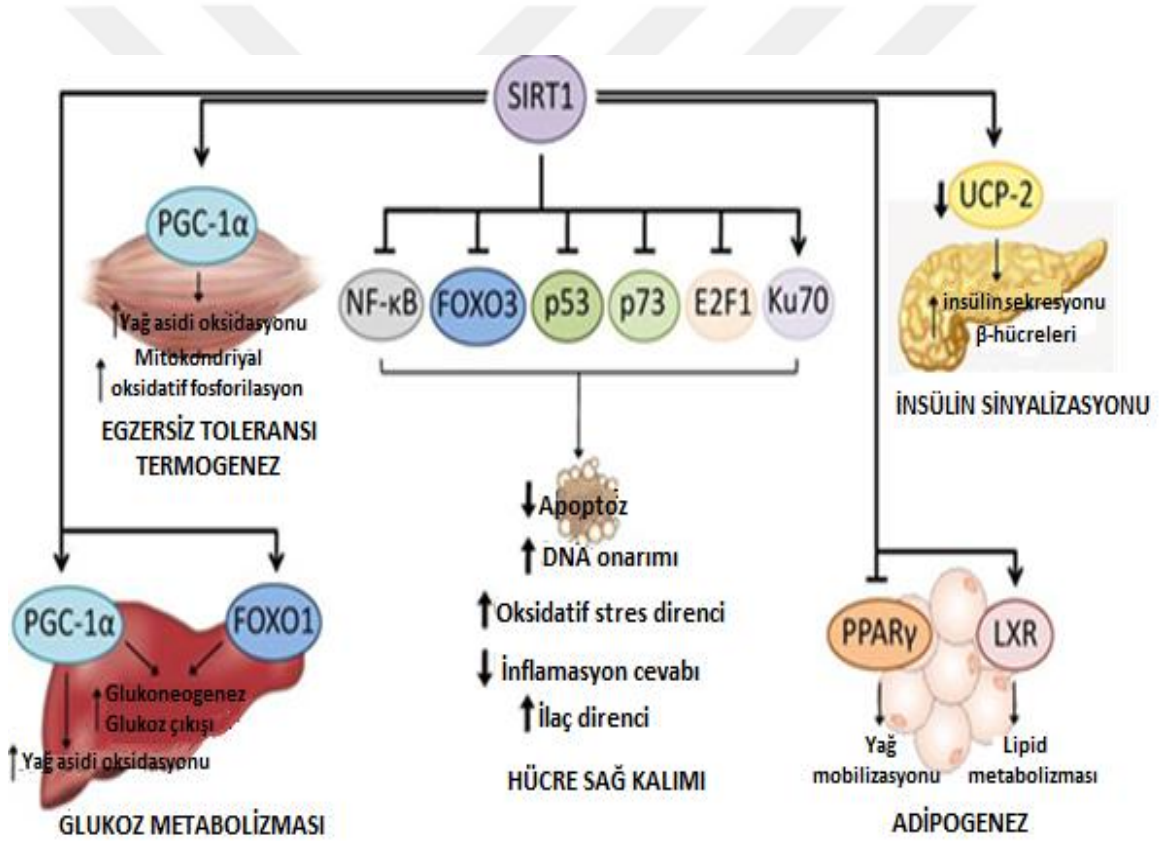
**Şekil 2.10** SIRT1'in deasetilaz aktivitesinin modülasyonu (Liu vd. 2009).

SIRT1'in aktif regülatörü (AROS), SIRT1 proteininin N-terminali ile doğrudan etkileşime girerek aktivitesini artırır. Böylece SIRT1 aracılı P53 deasetilasyonu hem *in vitro* hem de *in vivo* olarak artar ve P53 aracılı transkripsiyonel aktiviteyi inhibe eder. Tümör baskılayıcı DBC1 (Deleted in Bladder Cancer Protein 1), doğrudan SIRT1'in katalitik alanına bağlanarak ve pro-apoptotik nükleer desumolaz SENP1, SIRT1 sumolasyonunu kaldırarak SIRT1'in enzimatik aktivitesini azaltır. SIRT1 inaktivasyonu ise, P53 asetilasyonu ve apoptoz aktivasyonu ile sonuçlanır (Liu vd. 2009).

SIRT1 ağırlıklı olarak çekirdektedir, ayrıca bazı önemli sitoplazmik fonksiyonlara da sahiptir. Hücre çoğalması, farklılaşması, stres yanıtı, metabolizma, enerji homeostazı, yaşlanma ve kanseri düzenlemede çok çeşitli rollere sahiptir (Liu vd. 2009).

SIRT1, histon proteinleri H4 lizin 16 (H4K16), H3 lizin 9 ve 14 (sırasıyla H3K9 ve H3K14), H1 lizin 26 (H1K26)'yı deasetile ederek gen ifadesinin düzenlenmesinde rol oynar. Histon kuyruklarının bu modifikasyonları, belirli biyolojik işlemlerin altında yatan gen susturma ve heterokromatin oluşumuyla yakından ilgilidir. Özellikle, H4K16'daki global genom hipoasetilasyonu, insan kanser hücrelerinin hem hücre hatları hem de klinik numunelerinde gösterilmiştir (Vaquero vd. 2004). Ayrıca SIRT1, besin yoksunluğunda ENOSC (Energy-dependent Nucleolar Silencing Complex) içindeki SUV39H1 (Suppressor of Variegation 3-9 Homolog 1) ve NML (Nucleomethylin) ile bir protein kompleksi oluşturarak, rRNA transkripsiyonunu azaltır, böylece enerji tüketimini azaltarak hücre ömrünü uzatır (Liu vd. 2009).

Bununla birlikte, SIRT1'in biyolojik rolleri, çoğunlukla, metabolik, oksidatif / genotoksik ve onkogenik stres tepkilerinde, çok çeşitli hücrel fonksiyonlarda yer alan, artan sayıda histon olmayan substratın deasetilasyonu yoluyla ortaya çıkar. Bu substratlar genel olarak şu şekilde sınıflandırılabilir; (1) hücre döngüsü ilerlemesini düzenlemek ve çeşitli koşullar altında sağ kalımı teşvik etmek için, transkripsiyon faktörleri P53, FOXO1, FOXO3a, NF- $\kappa$ B, c-MYC, N-MYC, E2F1 ve HIF-1 $\alpha$ ; (2) DNA hasarı onarımını iyileştirmek için DNA tamir mekanizması elemanları Ku-70, NBS1, APE1, XPA/C ve WRN; (3) metabolizmayı düzenlemek için nükleer reseptör, sirkadiyen saat ve ilgili faktörler LXR, FXR, UCP2, PPAR $\gamma$ , PGC1 $\alpha$ , CLOCK ve PER2; (4) gen ekspresyonunu düzenlemek için histon modifiye edici SUV39H1, p300 ve PCAF enzimleri; (5) hücre sinyal molekülleri  $\beta$ -katenin ve SMAD7 (Çizelge 2.3) (Roth ve Chen 2014, Olmos vd. 2013).



**Şekil 2.11** SIRT1'in biyolojik fonksiyonları. SIRT1, DNA onarımı, hücre sağ kalımı, apoptoz, inflamasyon, stres direnci, metabolizma, enerji homeostazı, yaşlanma ve kanser dahil olmak üzere pek çok fizyolojik süreçte rol oynar (Olmos vd. 2011).

### 2.2.1.1 SIRT1'in Metabolizmadaki Rolü

SIRT1, çeşitli doku ve organlarda yağ asidi oksidasyonu, glukoneogenez, insülin salgılanması, insülin duyarlılığı, adipogenez ve sirkadiyen ritmin düzenlenmesi gibi pek çok metabolik sürecin düzenlenmesinde rol oynar. Metabolik homeostaz SIRT1 aracılı deasetilasyon ile kontrol edilir (Olmos vd. 2011).

SIRT1, karaciğerde açlık durumunda peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) koaktivatör 1 (PGC-1 $\alpha$ ) ve FOXO1 aktivasyonu yoluyla glukoneogenezini teşvik eder ve hepatik glukoz çıkışını uyarır (Fröjdö vd. 2011). Ayrıca, enerji üretimini artırmak için PPAR $\gamma$  aracılı  $\beta$ -yağ oksidasyonunu uyarır. (Purushotham vd. 2009) İskelet kasında, egzersiz veya açlık durumunda SIRT1 'in artan seviyeleri PGC-1 $\alpha$ 'nın aktivasyonu ile artan egzersiz toleransı ve termogenez ile sonuçlanan mitokondriyal biyogenezini teşvik eder ve yağ asidi oksidasyonunu uyarır (Nemoto vd. 2005). Ayrıca, karaciğer ve kaslarda insülin duyarlılığının artmasına neden olur (Bordone ve Guarente 2005).

Pankreasta UCP2'yi baskılayarak  $\beta$ -hücrelerinden insülin salgılanmasını artırır ve FOXO ile etkileşime girerek bu hücrelerin hayatta kalmasını teşvik eder (Bordone vd. 2006). Beyaz yağ dokusunda SIRT1, PPAR $\gamma$ 'yı baskılayarak LXR (Karaciğer X Reseptörü)'nin aktivasyonu yoluyla yağ depolamasını azaltır, lipolizi arttırarak yağ kaybını tetikler (Picard vd. 2004).

SIRT1, ayrıca sirkadiyen ritmin düzenlenmesiyle de ilişkilendirilmiştir. SIRT1, memelilerde sirkadiyen kontrolün merkezi olan SCN (Suprakiazmatik Nükleus)'de, transkripsiyon faktörü BMAL1 ve mekanizmanın diğer bileşenlerini düzenleyerek sirkadiyen genliği etkileyebilir. SIRT1'in karaciğer hücrelerinde de sirkadiyen saatin iki merkezi bileşeni olan BMAL1 ve PER2 ile etkileşime girerek karaciğerde metabolik işlemlerin sirkadiyen düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (Chang ve Guarente 2013).

### 2.2.1.2 SIRT1'in Kanserdeki Rolü

Kanser hücrelerinde hipermetile olan genlerin epigenetik susturulmasında SIRT1'in önemli bir rolünün olduğu bulgusu kanser biyolojisi açısından büyük bir öneme sahiptir. Birçok etkisi gösterilen *SIRT1*'in daha çok onkogenik olduğu üzerinde durulmaktadır (Olmos vd. 2011).

Yapılan çalışmalarda SIRT1'in çeşitli kanserlerde yüksek düzeyde eksprese olduğu ve yüksek SIRT1 ekspresyonu düzeylerinin, akciğer kanseri (Zhang vd. 2013), yumuşak doku sarkomu (Kim vd. 2013), prostat kanseri (Huffman vd.2007), lösemi (Kozako vd. 2012), primer kolon kanseri (Firestein vd. 2008), mide kanseri (Cha vd. 2009), karaciğer kanseri (Chen vd. 2012) diffüz büyük B-hücreli lenfoma (Jang vd. 2008) ve meme kanseri (Wu vd. 2012) gibi pek çok kanser türünde bildirilmiş ve kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte, SIRT1'in aşırı ekspresyonunun, kolorektal karsinomda (Jung vd. 2013) ve baş boyun skuamöz hücreli karsinomda (Noguchi vd. 2013) iyi prognoz ile ilişkili olduğu da bildirilmiştir.

SIRT1 genotoksik stres ve DNA hasarı altında hem normal hem de kanser hücrelerinde genom korunmasını teşvik eder. Stres koşullarında, SIRT1, hücre döngüsünü durdurmaya, DNA onarımını ve hücre sağ kalımını destekler. Kronik stres koşullarında veya bazı büyük DNA hasarı seviyelerinde yaşlanmaya ve apoptoza neden olur. Kronik stres ve DNA hasarını takiben tümör baskılayıcıların veya kontrol noktalarının kaybında ise SIRT1, apoptoz inhibisyonu yoluyla tümör oluşumunu ve gelişimini teşvik eder (Bosch-Presegué ve Vaquero 2011).

SIRT1'in kanser ve hücre sağ kalımındaki mekanizması, SIRT1 ekspresyonunun düzenlenmesi ve SIRT1 aktivitesinin modülasyonu ile bağlantılıdır (Bosch-Presegué ve Vaquero 2011). SIRT1 ekspresyonu ve deasetilaz aktivitesi, normal (malign olmayan) hücrelerde P53, Chk2, HIC1 ve DBC1 gibi tümör baskılayıcı proteinler tarafından baskılanır. SIRT1 ekspresyonunun ve/veya aktivitesinin artmasının, P53'ü ve potansiyel olarak başka tümör baskılayıcı genleri inhibe ederek kanser riskini arttırabileceği öngörülmektedir (Liu vd. 2009).

Yapılan çalışmalarda HIC1, SIRT1 ve P53 arasında düzenleyici bir geri besleme döngüsü olduğu gösterilmiştir. HIC1, *SIRT1* transkripsiyonunu baskılayarak SIRT1'in deasetilaz hedefi olan P53'ün asetilasyonu ve apoptoz aktivasyonuna yol açar. DNA hasarı gibi koşullarda hücresel strese cevap olarak P53'ün indüksiyonu, *HIC1* promotörünü aktifleştirerek HIC1'in up-regülasyonuna ve sürecin başlamasına yardımcı olur. DNA hasarı tamir edilen hücrelerde, P53 seviyesindeki azalma HIC1'in azalmasına ve böylece *SIRT1* üzerindeki transkripsiyonel baskının ortadan kalkmasına yol açar. Artan SIRT1 seviyeleri, P53'ün deasetilasyonu ve inaktivasyonuna neden olur (Chen vd. 2005).

*HIC1* promotörünün yaşlanma sırasında hipermetilasyona maruz kaldığı, bunun da yaşlanma sırasında SIRT1'in up-regülasyonuna ve dolayısıyla kansere duyarlılığa yol açabileceği bildirilmiştir. Kanser hücrelerinde promotör hipermetilasyonu nedeniyle tümör baskılayıcı *HIC1*'in inaktive olması SIRT1 ekspresyonunun artmasına neden olur. SIRT1, P53'ü lys382'de deasetile ederek inaktive eder, böylece DNA hasarı ve oksidatif stres durumunda P53'e bağlı apoptozu azaltarak hasar görmüş hücrelerin sağ kalımını ve yaşlanmasını teşvik eder (Chen vd. 2005).

SIRT1'in apoptozu düzenleyerek sürece katıldığı bir başka protein de P73'dür. SIRT1, P53'e benzer bir şekilde P73'ün transkripsiyonel faaliyetini baskılayarak bu gen aracılığıyla gerçekleşen apoptozu engeller (Dai vd. 2007). SIRT1 ayrıca, DNA onarım faktörü Ku-70'i deasetile ederek, homolog olmayan uç birleştirme şeklindeki onarım aktivitesini artırarak stres kaynaklı apoptotik hücre ölümünü inhibe etmesine neden olur. Artan Ku-70 aktivitesi hücrede meydana gelen çift zincir DNA kırıklarının homolog olmayan uç birleştirilmesi yoluyla hataya açık bir şekilde onarılmasına neden olduğu için genomik instabilitenin artışına katkı sağlar (Jeong vd. 2007).

Hücre döngüsü ve apoptoz düzenleyici E2F1, kanser hücreleri genotoksik stres altındayken *SIRT1* transkripsiyonunu tetikler. SIRT1, E2F1 transkripsiyon faktörleri ile etkileşime girerek G/S geçişini düzenleyen bir nükleer protein olan tümör baskılayıcı RB (Retinoblastoma)'nin düzenlenmesinde rol oynar. E2F1 ve/veya RB'nin doğrudan deasetilasyonu RB'ye bağlı apoptozu önler (Wong ve Weber 2007).

Sirtuinler, ayrıca, hücre döngüsünü durdurma, DNA onarımı ve apoptozdaki rollerinden dolayı hem stres yanıtında hem de kanserde çok önemli olan FOXO transkripsiyon faktörlerini düzenler. *FOXO* genleri hücre döngüsünün ilerlemesini engelleyen proteinlerin (p27, Rb2, GADD45) ve hücre ölümünü hızlandıran proteinlerin (Bim, Fas, TRAIL, TRADD) gen ifadelerini etkiler. *FOXO*'nun susturulması ile bu gen etkinliğini kaybeder ve apoptozun başlaması için gerekli transkripsiyonel etkinlik azalır. SIRT1, dört adet bilinen FOXO proteinlerinden üçünü, yani FOXO1, FOXO3a ve FOXO4'ü deasetile ederek bu sürece etki eder. FOXO'nun SIRT1 tarafından deasetilasyon sonucu baskılanması stres direncinde işlev gören FOXO hedef genlerinin transkripsiyonunu azaltır ve apoptozu önler (Brunet vd. 2004).

Ayrıca, *MYC* (*c-MYC* ve *N-MYC*) proto-onkogenlerinin de doğrudan *SIRT1* transkripsiyonunu aktive ettiği gösterilmiştir. *SIRT1* ve *c-MYC* arasındaki pozitif geri besleme döngüsü sonucu *c-MYC*, *SIRT1* ifadesini artırabilir, *SIRT1* de *c-MYC*'yi deasetile ederek stabilize eder ve *c-MYC* transkripsiyonel aktivitesini geliştirir. Böylece apoptoz ve yaşlanmayı baskılayarak *c-MYC* kaynaklı hücre proliferasyonunu teşvik eder (Marshall vd. 2011, Menssen vd. 2012).

Birçok çalışmada, *SIRT1*'in EMT (Epitelyal Mezenkimal Geçiş)'nin pozitif regülatörü olduğunu, hücre göçünü ve metastazı arttırdığı gösterilmiştir (Cha vd.2016).

Bununla birlikte *SIRT1*,  $\beta$ -katenin, NF- $\kappa$ B (Nükleer Faktör Kappa B) ve Survivin gibi birkaç onkogen veya onkoproteini baskılayarak tümör baskılayıcı olarak da işlev görebilir. Bu da *SIRT1*'in her zaman anti-apoptotik olmadığını göstermektedir. WNT/ $\beta$ -katenin sinyal yolunun aktivasyonu, kolorektal kanserlerin %90'ında bulunmuştur. Ayrıca bu sinyal yolunun anormal aktivasyonu meme kanseri, yumurtalık kanseri ve melanom gibi birçok kanserde de rapor edilmiştir. *SIRT1*,  $\beta$ -katenini deasetile ederek nükleer lokalizasyonunu baskılar ve transkripsiyonunu inhibe eder. Böylece,  $\beta$ -kateninin onkogenik fonksiyonunu engelleyerek, hücre çoğalması ve tümör gelişimini yavaşlatır (Firestein vd. 2008).

*SIRT1* ayrıca inflamasyonda önemli rolü olan NF- $\kappa$ B p65 alt ünitesini deasetile ederek transkripsiyonel aktivitesini inhibe eder ve böylece TNF- $\alpha$  (Tümör Nekroz Faktör Alfa)'nın indüklediği apoptozu artırır (Yeung vd. 2004).

Tümör baskılayıcı *BRCA1* (Breast cancer 1) ile ilişkili meme kanserlerinde, Survivin'i baskılaması da, *SIRT1*'in tümör baskılayıcı rolünü desteklemektedir. *BRCA1*, *SIRT1* promotörüyle etkileşimi sonucu *SIRT1* ekspresyonunu artırır, böylece artan *SIRT1* seviyeleri apoptoz inhibitörü Survivin ekspresyonunu baskılar. *BRCA1* mutasyonu ile ilişkili meme kanserlerinde, anormal derecede düşük *SIRT1* seviyeleri ve yüksek Survivin seviyeleri görülmektedir (Wang vd. 2008a).

Diffüz büyük hücreli lenfoma ve Burkitt lenfoma patogeneğinde rol oynayan, onkogen BCL6 (B-Cell Lymphoma 6), *SIRT1*'in diğer bir hedefidir. Farklı çalışmalar, *SIRT1*'in BCL6'ya bağlanarak deasetilasyon yoluyla onkogenik aktivitesini azalttığını göstermiştir (Bereshchenko vd. 2002).



### 2.2.2 SIRT2

SIRT2 (Sirtuin 2), mayada keşfedilen NAD<sup>+</sup> bağımlı deasetilaz aktivitesine sahip Sir2 (Silent Information Regulatory 2) proteinine homolog olan, sirtuin ailesinin yedi üyesinden biridir (Smith vd. 2000).

19q13.2 kromozomunda bulunan *SIRT2* geni, içerdiği toplam 16 ekzon dahil, yaklaşık 2.1 kb boyutundadır (URL-4). İnsan *SIRT2* geni en az iki izoformda ifade edilir. Daha uzun olan izoform 1, 389 amino asitten oluşurken izoform 2, 352 amino asitten oluşur (Voelter-Mahlknecht vd. 2005). Bilinen *SIRT2* izoformları sitoplazmiktir, ancak yapılan son çalışmalarda çekirdekte lokalize olan yeni bir *SIRT2* varyantı, izoform 5 tanımlanmıştır (Rack vd. 2014).

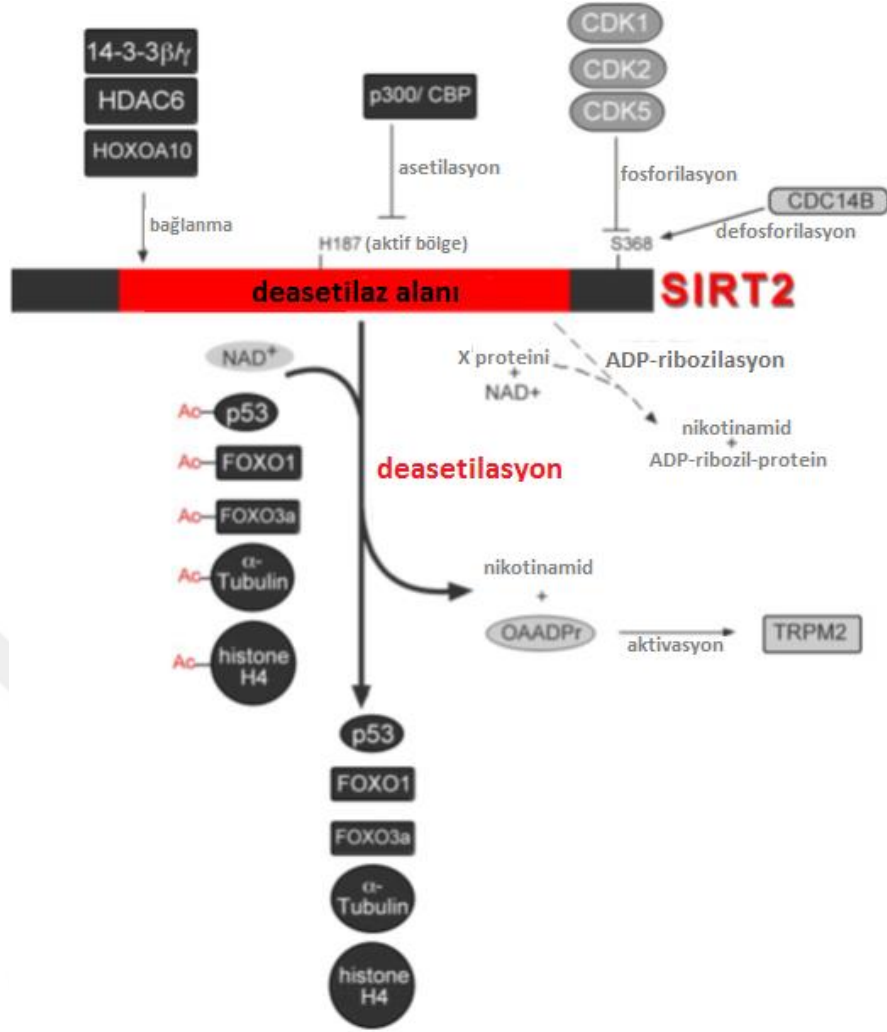
*SIRT2* proteini, deasetilaz işlevi için gerekli olan ve tüm memeli sirtuinlerinde korunmuş olan yaklaşık 275 aminoasitlik merkezi bir katalitik alan içerir. Hem NAD<sup>+</sup> bağımlı enzimatik reaksiyona hem de ADP-riboziltransferaz enzimatik aktivitesine sahiptir (Michan ve Sinclair 2007). Esas olarak sitoplazmik bir protein olmasına rağmen, hücre döngüsüne bağlı bir şekilde geçici olarak çekirdeğe yerleşebilir. *SIRT2*'nin baskın sitoplazmik lokalizasyonu, N-terminal uzantısındaki bir NES (Nükleer Eksport Dizisi) tarafından belirlenir (Wilson vd. 2006).

*SIRT2* genomik bütünlük, hücre büyümesi, farklılaşma ve enerji metabolizması gibi çoklu hücre fonksiyonlarda rol oynar. Yapılan çalışmalarda, *SIRT2*'nin, inflamasyon, oksidatif stres ve mitokondriyal fonksiyonun yanı sıra adiposit farklılaşması, yağ asidi oksidasyonu, glukoneogenez ve insülin duyarlılığı dahil olmak üzere metabolik homeostazın korunmasında çeşitli fizyolojik süreçlerde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Azalan *SIRT2* aktivitesi kanser, Parkinson ve Huntington gibi nörodejeneratif hastalıklar ve çeşitli metabolik hastalıklarla ilişkilendirilmiştir (Gomes vd. 2015).

*SIRT2*, H3 ve H4 histon proteinleri, transkripsiyon faktörleri P53, p65, FOXO1 ve FOXO3A dahil olmak üzere çeşitli protein substratları ve  $\alpha$ -tubulini deasetile eder. Ayrıca *SIRT2*'nin deasetilasyon substratları olmayan, 14-3-3  $\beta/\gamma$ , HOXA10 (Homeobox Transkripsiyon Faktörü 10) ve HDAC6 ile de etkileşime girdiği bilinmektedir (De Oliveira vd. 2012).

SIRT2, aktif formunu oto-asetilasyon ile koruyan bir histon asetil transferaz olan p300'ün katalitik alanındaki lizin rezidülerini deasetile eder. P300'ün SIRT2'ye bağılı deasetilasyonu sonucunda, P53 transkripsiyonel aktivitesi üzerindeki baskılama ortadan kalkar. Buna karşılık SIRT2 de asetil transferaz p300/CBP tarafından asetillenir. Özellikle p300, doğrudan asetilasyon yoluyla SIRT2 aktivitesini inhibe eder. Bu durum hücrelerde asetilaz ve deasetilaz aktivitelerinin karmaşık bir ilişkisini ve düzenlenmesini gösterir. SIRT2 aktivitesi ayrıca çeşitli CDK (Siklin Bağımlı Kinaz) kompleksleri tarafından fosforilasyon ve CDC14B fosfataz tarafından defosforilasyon yoluyla modüle edilir. CDK kompleksleri tarafından SIRT2'nin post-translasyonel fosforilasyonu, çekirdek histonlarının ve  $\alpha$ -tubulinin deasetilasyonu ile ölçülen enzimatik aktivitesini azaltır (Black vd. 2008, Pandithage vd. 2008).

Diğer sirtuinlerin aksine, SIRT2 temel olarak sitoplazmiktir, burada  $\alpha$ -tübülün lys40 ile kolokalize olur ve mikrotübül organizasyonunu düzenler (North vd. 2003). Ayrıca sitoplazmada, SIRT1'e benzer şekilde NF- $\kappa$ B p65 alt ünitesini deasetile ederek inflamasyon sürecinin gelişiminde koruyucu rol oynar (Rothgiesser vd. 2010). G2 / M fazı sırasında, SIRT2 çekirdeğe taşınır ve histon H4K16'yı deasetile eder, böylece metafaz sırasında kromatin yoğunlaşmasını modüle eder. SIRT2 seviyeleri mitozda artar ve aşırı ekspresyonu M fazını uzatarak mitotik çıkışı geciktirir. Bu nedenle, SIRT2'nin, özellikle mikrotübül inhibitör aracılı mitotik strese cevap olarak, kromozomal instabilitenin indüklenmesini önlemek için G2-M'de bir mitotik kontrol noktası proteini olarak işlev görebileceği düşünülmektedir (Vaquero vd. 2006, Inoue vd. 2007). SIRT2, APC/C'nin aktivitesini pozitif olarak düzenleyerek mitozun bütünlüğünün korunmasında önemli bir role sahiptir (Kim vd. 2011).



Şekil 2.12 SIRT2 düzenleyici ağ (Harting ve Knoll 2010).

### 2.2.2.1 SIRT2'nin Metabolüzmadaki Rolü

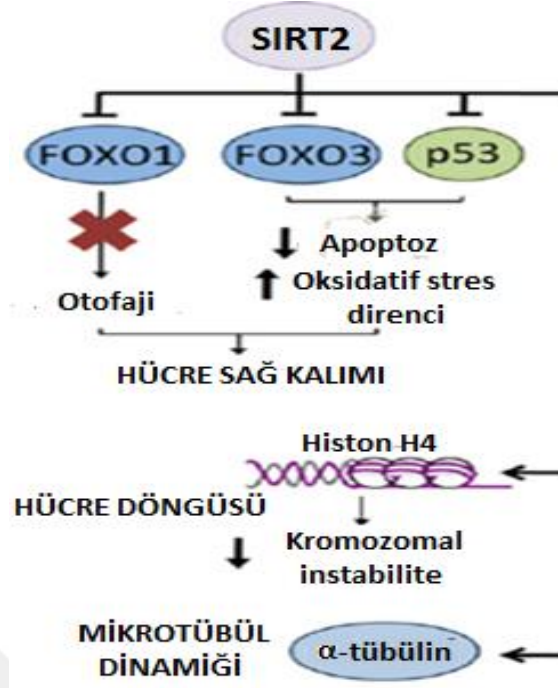
Yapılan çalışmalarda, SIRT2'nin, inflamasyon ve mitotik fonksiyonunun yanı sıra oksidatif stres, adiposit farklılaşması, yağ asidi oksidasyonu, glukoneogenez ve insülin duyarlılığı dahil olmak üzere metabolik homeostazın korunmasında çeşitli fizyolojik süreçlerde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (Gomes vd. 2015).

SIRT2, yaşlanmayla birlikte beyinde biriken, merkezi sinir sisteminde oldukça bol bulunan bir proteindir (Maxwell vd. 2011). SIRT2, transkripsiyon faktörü SREBP-2 (Sterol Regüle Edici Element Bağlayıcı Protein 2)'yi pozitif olarak düzenler, böylece nöronlarda kolesterol biyosentezini sağlar (Luthi-Carter vd. 2010).

SIRT2, FOXO1'i deasetile ederek adiposit farklılaşmasını negatif düzenler. FOXO1'in SIRT2'ye bağlı deasetilasyonu, FOXO1'in PPAR $\gamma$ 'ye bağlanmasını teşvik eder, bu da PPAR $\gamma$  aktivitesinin ve dolayısıyla adiposit farklılaşmasının baskılanmasına neden olur. Yapılan çalışmalarda da, SIRT2 ekspresyonunun lipolizi desteklediği gösterilmiştir. Bu nedenle, SIRT2 aktivitesini modüle etmenin, obezitedeki artan yağ kütlesinden kaynaklanan metabolik bozuklukları kısmen iyileştirebileceği tahmin edilmektedir (Jing vd. 2007, Wang ve Tong 2009).

SIRT2, aynı zamanda hücrel stres altında antioksidan ve proapoptotik moleküllerin ekspresyonunu teşvik etmek için FOXO3a'yı deasetile eder. FOXO3a'nın SIRT2'ye bağlı deasetilasyonu oksidatif stresi azaltmak için MnSOD (Mangan Süperoksit Dismutaz) ekspresyonunun artmasına neden olur. Sonuç olarak, SIRT2, mitokondriyal antioksidan enzim MnSOD'un indüksiyonu yoluyla hücrel ROT seviyelerini azaltarak genotoksik ve oksidatif strese karşı koruma sağlar. Stres aşılamazsa, SIRT2, BIM'i indükleyerek apoptozu teşvik eder (Wang vd. 2007). Ayrıca Wang vd. (2014), SIRT2'nin deasetilasyon yoluyla G6PD (Glikoz-6-fosfat Dehidrogenaz)'yi aktive ettiğini, bunun da hücreleri oksidatif hasardan korumada önemli bir rol oynadığını göstermiştir.

Jiang vd. (2011) tarafından yapılan bir çalışmada ise SIRT2'nin, glukoneogenezde önemli bir enzim olan PEPCK1 (Fosfoenolpirüvat Karboksilikaz 1) 'in deasetillenmesi ve stabilize edilmesinde rol oynayabileceği gösterilmiştir.



Şekil 2.13 SIRT2'nin biyolojik rolleri (Olmos vd. 2011).

### 2.2.2.2 SIRT2'nin Kanserdeki Rolü

Farklı tümör çeşitlerinde, hücre döngüsünün kontrolü ve farklılaşmasında görev alan genlerin mutasyonuna oldukça sık rastlanmaktadır (Vogelstein ve Kinzler 2004). Yapılan birçok çalışma, hücresel strese cevap olarak hücre döngüsünün düzenlenmesindeki rolü nedeniyle *SIRT2*'nin tümörigenezde rol oynadığını göstermektedir (Inoue vd. 2007).

*SIRT2* genel olarak, hasar görmüş hücrelerde DNA hasarı stresine cevap olarak hücrelerin apoptoza ilerlemesini teşvik eder (North vd. 2003). Çoğu araştırma, *SIRT2*'nin bir tümör baskılayıcı olarak işlev gördüğünü ve *SIRT2* kaybının mitotik kontrol noktasını etkilediğini, genomik instabiliteye ve tümörigeneze katkıda bulunduğunu göstermektedir. *SIRT2*'nin inhibisyonu hücreleri kontrolsüz büyümeye yatkınlaştırabilir (Hiratsuka vd. 2003, Inoue vd. 2007).

Yapılan çalışmalar, küçük hücreli dışı akciğer kanseri (Li vd. 2013), glioma (Hiratsuka vd. 2003), mide karsinomları (Peters vd. 2010) ve hepatoselüler karsinom da (Kim vd. 2011) dahil olmak üzere birçok kanser türünde, *SIRT2* ekspresyonunun azaldığını göstermektedir. İnsan gliomlarında, bu azalmanın, *SIRT2* geninin delesyonuyla ilişkili olabileceği tahmin

edilmektedir, çünkü *SIRT2*, 19q13.2'de, bu tür karsinomda sıkça delesyona uğrayan bir bölgedir (Hiratsuka vd. 2003).

Buna karşın aralarında akut miyeloid lösemi (Dan vd. 2012), hepatosellüler kanser (Kim vd. 2011) ve prostat kanserinin de (Hou vd. 2012) bulunduğu çeşitli kanser türlerinde *SIRT2* ekspresyonunun arttığı bildirilmiştir. *SIRT2*, ayrıca meme kanserinde farklı tümör derecelerine bağlı hem tümör baskılanmasında hem de tümör gelişiminin desteklenmesinde rol oynar (McGlynn vd. 2014).

Kim vd.'nin *SIRT2* nakavt farelerde yapmış oldukları çalışmalar, *SIRT2*'nin tümör baskılayıcı rolünü desteklemektedir. *SIRT2*'nin eksikliği, daha yüksek anöploidi oranlarına neden olan *Cdh1* (Kadherin-1) ve *Cdc20*'nin deasetilasyonu yoluyla *APC/C* aktivitesinin azalmasına neden olur. Sonuç olarak, *SIRT2* eksikliği olan farelerde, artan bir kanser insidansı ve cinsiyete özgü tümörler geliştiği gösterilmiştir. Dişilerde esas olarak meme tümörleri, erkeklerde hepatosellüler karsinomlar ortaya çıkmaktadır (Kim vd. 2011).

*SIRT2* ayrıca, *FOXO3a*'yı deasetile ederek pro-apoptotik protein *BIM*'in ekspresyonunu düzenler. *FOXO3a*'nın *SIRT2*'ye bağlı deasetilasyonu oksidatif stresi azaltmak için *MnSOD* ekspresyonunun artmasına neden olur. Sonuç olarak, *SIRT2*, mitokondriyal antioksidan enzim *MnSOD*'un indüksiyonu yoluyla hücrel ROT seviyelerini azaltarak genotoksik ve oksidatif strese karşı koruma sağlar. Stres aşılamazsa, *SIRT2*, *BIM*'i indükleyerek apoptozu teşvik eder (Wang vd. 2007). Genel olarak, *SIRT2* aşırı ifadesinin, hücre proliferasyonunu azalttığı ve DNA hasar stresine cevap olarak hücre ölümünü düzenlediği bulunmuştur. Bu kanıtlar *SIRT2*'nin bir tümör baskılayıcı işlevini desteklemektedir.

Başka bir çalışmada ise, *SIRT2*'nin, lipid biyosentezi ve dolayısıyla tümör büyümesi için önemli olan ATP-sitrat liyazı deasetile edebileceği ve bozulmasını destekleyebileceği gösterilmiştir. *SIRT2* inhibisyonu, ATP-sitrat liyaz stabilitesini artırır ve dolayısıyla tümör büyümesini teşvik edebilir (Lin vd. 2013).

*SIRT2*'nin tümör baskılayıcı rolünün aksine, birçok kanser hücre hattında, *SIRT2*'nin nakavtı ya da farmakolojik inhibisyonun kanser hücre proliferasyonunu ve tümör gelişimini inhibe edebileceği gösterilmiştir. *SIRT2* azalmasının/inhibisyonunun anti-proliferatif etkisi üzerine önerilen potansiyel bir mekanizma, *SIRT2*'nin *FOXO*, *K-RAS* ve *MYC* gibi onkoproteinleri

stabilize etmeye veya aktifleştirmeye yardımcı olmasıdır. Böylece, SIRT2'yi inhibe etmek, bu onkogenlerin aktivasyonunu destabilize ya da inaktive ederek kanser gelişimini önler (Jing vd. 2014).

Asetile haldeki sitoplazmik FOXO1, otofajik hücre ölümünü transkripsiyondan bağımsız bir şekilde indüklemek için Atg7 (Autophagy-Related Protein 7) ile etkileşime girer. SIRT2'nin FOXO1'i deasetile ettiği ve seviyesini / aktivitesini azalttığı bildirilmiştir; SIRT2 inhibisyonu, FOXO1 aktivitesini artırarak hücre ölümünü teşvik eder (Zhao vd. 2010).

SIRT2, birçok kanserde aktive edici mutasyonları bulunan, onkogenik K-RAS'ı deasetile eder. SIRT2, mutant K-RAS K104 aktivitesini deasetilasyon yoluyla pozitif olarak düzenler. K-RAS K104 mutantını içeren kolorektal kanser hücreleri ve küçük hücreli dışı akciğer kanseri hücreleri, SIRT2 inhibisyonuna daha duyarlıdır. SIRT2 ekspresyonunun inhibisyonu, K-RAS'ın mutant formlarını eksprese eden kanserleri tedavi etmede yeni bir yol olabilir (Yang vd. 2013).

SIRT2, pankreas kanseri hücrelerinde c-MYC ve nöroblastoma hücrelerinde N-MYC seviyelerini arttırarak kanser hücre proliferasyonunu teşvik eder. SIRT2 inhibisyonunun, bu hücrelerde c-MYC ve N-MYC onkoproteinlerini down-regüle ettiği gösterilmiştir. Bu, SIRT2'nin enzimatik aktivitesiyle, c-MYC ve N-MYC onkoproteinlerini down regüle eden ubikuitin ligaz NEDD4'ün transkripsiyonu üzerindeki baskısının ortadan kalkmasıyla gerçekleşir. SIRT2 inhibitörlerinin kullanılması, MYC kaynaklı nöroblastom ve pankreas kanserinin önlenmesi ve tedavisinde, potansiyel bir terapötik hedef olabilir (Liu vd. 2013).

Meme kanseri hücrelerinde güçlü sirtuin inhibitörleriyle yapılan son deneyler, tümör baskılayıcı P53'ün sadece SIRT1'in değil, aynı zamanda SIRT2'nin de hedefi olduğunu ve diğer sirtuin genlerinin de hedefi olabileceğini göstermektedir. SIRT2 inhibisyonu, P53 ve P21 gibi tümör baskılayıcı genlerin seviyelerini arttırarak kanser hücrelerinde apoptozu teşvik eder (Peck vd. 2010, Li vd. 2011). Eş zamanlı olarak hem SIRT1 hem de SIRT2'nin inhibisyonu, bazı tümör hücre hatlarında ve Burkitt lenfoma ksenograftlarında apoptozu arttırmaktadır (Peck vd. 2010, Heltweg vd. 2006).

Çoğu kanser hücre hattında ise, sadece SIRT2 down-regülasyonunun apoptoza neden olmak için yeterli olduğu gösterilmiştir. Li vd. (2011) tarafından yapılan bir çalışmada, SIRT2

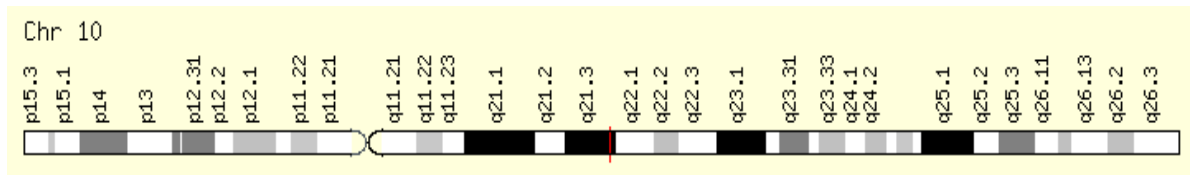
down-regülasyonunun, P53 seviyelerini etkileyerek HeLa kanser hücre hattında apoptoza neden olduğu gösterilmiştir. SIRT2 inhibisyonu, p38 MAPK aktivasyonu yoluyla p300'ün bozulmasına ve buna bağlı olarak negatif P53 regülatörü MDM2 proto-onkogeninin azalmasına yol açarak P53'ün seviyesinin artmasına neden olur. Bunun yanı sıra, SIRT2 inhibisyonu hem P53 seviyesini arttırarak hem de P53'ü deasetile etme aktivitesi inhibe edilerek antikanser tedavisi için faydalı olabileceği düşünülmektedir (Liv vd. 2011, Hoffman vd. 2014).

SIRT2 ayrıca, kanser hücrelerinde laktat üretiminin artmasından sorumlu olan LDH-A (Laktat Dehidrogenaz A)'yı aktive ederek kanser hücre metabolizmasını etkiler. SIRT2 inhibisyonu, kanser hücrelerinin tercihi katabolizmasının laktat yönünde olması ve glikozun artan alımına neden olan değişen metabolizma yolunu engelleyerek kanser hücre metabolizmasını bozabilir (Zhao vd. 2013).

## 2.3 SIRT1 VE SIRT2 GEN POLİMORFİZMLERİ

### 2.3.1 SIRT1 rs11596401 Gen Polimorfizmi

*SIRT1*, 10. kromozomda 67.884.669-67.918.390 nükleotidleri arasından kodlanmaktadır. Polimorfizm ise 67.896.279 nükleotidde bulunmaktadır (URL-5).



Şekil 2.14 *SIRT1* geninin genomik lokasyonu (URL-4).



Dizi bilgisi (URL-5):

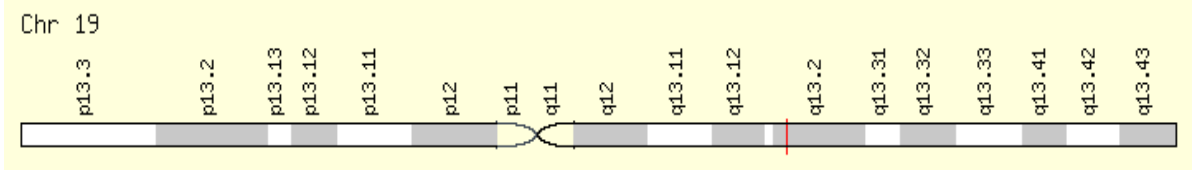
>gnl|dbSNP|rs11596401|allelePos=501|totalLen=1001|taxid=9606|snpclass=1|alleles='C/T'|mol=Genomic|build=151

TCACCCAGGCTGGAGTGCCGTGGTGAGATCTCGGCTCACTACAACCTTCACCTCC  
CGAGTTCAAGCAATTCTGCTGCCTCAGTCTACTGAGTAGCTGGGATTACAGGTGC  
CCATCACCACGCCAGCTAATTTTTCTAATTTTAGTAGAGACGGGATTTACCATG  
TTGGTCAGGCTGGTCTCGAACTCCTGACCTCAGGTGATCCGCCCGCCTAGGCCAA  
AGTGCTGGGATTACAGGCGTGAGTCTCCACGCCAGCCCTTAAATTTTCAATTTAG  
ACTGGAAATTTCAAGTAATGGAGAGGTGTGTTAAGGAAGTTATTGCTCTGTTAGA  
GCAGTTTCTTAAATTTGGCACTATTGACATTTTGGGCTGGATTTTTCTTTTTGTTTC  
TGAGATAGTTTTCACTCTGTTCGAGCCATCACAGCTCGTTGCAGCCTTGAACCTCCTGG  
GCTCCTTGAACAGGAGGCTCCTGCCTGAGCCTCCTGAGTAGCTGAGACCATAGGC  
AYGTACCATATACCTAGCTAAATGTGTTTTTGACTTTCTTTTTTCTTTGTAGAGTCA  
AGTTCTCACTATGTTGTCCAGGCTGGTCTTGAAATCCTGGGTTCCAGCAATTCTCC  
TGCTTAGCCTTACAGAGTGTGGGATTGTAGGCATAGGCCACTGCACCCGGCCTT  
GGGCTGATATTTATTTGCTATGGGGAACCTTCTGTGCGTTGTAGGATGTTTGGCA  
ATGTCCCTGGCCGGCCAGGTGCAGCGGCTCACACCTGTAATCCCAGCACTTTGGG  
AGGCTGAGGTGGGCGGATCACTTGAGGCTGGGAGTTCAGAAGAGACCAGCCAAC  
ATGGTGAAACCCTGTCTCTACTAAAAATACAAAAATTAGCCGGGTGTGGTGACAC  
ACATGAGAATCACTTGAACCTCAGGAGGCTGAGTTTGCCGTGAGCTGAGATCGCGC  
TGCTGTACTCCAGCCTGGGTGACAAAGCAAGAATCTGTCTCAAAAAAAAAAAAAA  
AAAAA

Yukarıda verilen dizide Y; C ya da T nükleotidlerini ifade etmektedir. Polimorfizm meydana geldiğinde C alelinin yerini T almaktadır.

### **2.3.2 SIRT2 rs2015 Gen Polimorfizmi**

*SIRT2* 19.kromozomdan 38.878.555-38.899.862 nükleotidleri arasından kodlanmaktadır. Polimorfizm ise 38.878.729 nükleotidde bulunmaktadır (URL-5).



Şekil 2.15 *SIRT2* geninin genomik lokasyonu (URL-4).

Dizi bilgisi (URL-5):

>gnl|dbSNP|rs2015|allelePos=501|totalLen=1001|taxid=9606|snpclass=1|alleles='A/C'|mol=Genomic|build=151

TCAGCTTCCCCAAGAAGTCCCCGCCACCTGCCAAGGACGAGGCCAGGACAACA  
GAGAGGGAGAAACCCAGTGACAGCTGCATCTCCCAGGCGGGATGCCGAGCTCC  
TCAGGGACAGCTGAGCCCCAACCGGGCCTGGCCCCCTCTTAACCAGCAGTTCTTG  
TCTGGGGAGCTCAGAACATCCCCCAATCTTTACAGCTCCCTCCCCAAACTGGG  
GTCCCAGCAACCCTGGCCCCAACCCAGCAAATCTCTAACACCTCCTAGAGGCC  
AAGGCTTAAACAGGCATCTCTACCAGCCCCACTGTCTCTAACCACTCCTGGGCTA  
AGGAGTAACCTCCCTCATCTCTAACTGCCCCACGGGGCCAGGGCTACCCAGAA  
CTTTTAACTCTTCCAGGACAGGGAGCTTCGGGCCCCCACTCTGTCTCCTGCCCCCG  
GGGGCCTGTGGCTAAGTAAACCATAACCTACCCAGTGTGGGTGTGGGCCT  
CTGAATMTAACCCACACCCAGCGTAGGGGGAGTCTGAGCCGGGAGGGCTCCCGA  
GTCTCTGCCTTCAGCTCCCAAAGTGGGTGGTGGGCCCCCTTCACGTGGGACCCAC  
TTCCCATGCTGGATGGGCAGAAGACATTGCTTATTGGAGACAAATTA AAAACAAA  
AACAACTAACAAATCCGGTCTGGCCTCCTGTTTCTTTCTGTGGGCACCCAGGGAAA  
TCTCTGAAGGGAGGGGGTTAGATCTTGGGCCACTAAGGAACCAGAAAGTCTCCG  
GGATCCAGAGTGAGGGGTAAACAAGAGGGTCCACGGGGGCCCTCGTGGCTCTG  
ACCCCTGGACTCCCAGCCTGCCAGTGTCCCTTCCCTCTAAGCCCCGTCCTAAAGG  
CCTGAGGCCCCAGAAAGAGGGAGGAAAGTTGACTTCAGATACCCAGCCCCGCC  
TCTTCCCCCTGCCTGCTCAGCTTCCCTCTCTCCACTTCCCTGCTACTGCAGGCCTCTCC  
TCCGAGAACAGGTA

Yukarıda verilen dizide M; A ya da C nükleotidlerini ifade etmektedir. Polimorfizm meydana geldiğinde A alelinin yerini C aleli almaktadır.

## BÖLÜM 3

### MALZEME VE YÖNTEM

#### 3.1 KULLANILAN ARAÇ VE GEREÇLER

Bu çalışmaya, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Onkoloji Anabilim Dalı ve Medikal Park Gebze Hastanesi Medikal Onkoloji Bölümünde histopatolojik olarak akciğer kanseri tanısı konmuş, akraba olmayan 100 hasta (çalışma grubu) ve herhangi bir inflamatuvar hastalığı olmayan 100 sağlıklı birey (kontrol grubu) dahil edilmiştir. Bilgilendirme işleminin ardından tüm gönüllü bireylerin rutin kontrolü için verdikleri kanın 2ml'si EDTA'lı tüplere alınmıştır. Periferik dolaşımdaki lökositlerden PureLink® Genomic DNA Mini Kit ile DNA izolasyonu yapılmıştır. Elde edilen DNA'lar analizi yapılana kadar -20<sup>0</sup>C'de saklanmıştır. SIRT1 rs11596401 ve SIRT2 rs2015 gen polimorfizmlerinin genotiplenmesi için öncelikle uygun primerler tasarlanarak PCR ile ilgili diziler çoğaltılmıştır. Daha sonra seçilen restriksiyon enzimleri ile kesim reaksiyonu gerçekleştirilmiştir ve agaroz jel elektroforezi yöntemi ile analiz edilmiştir. Elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

##### 3.1.1 Alet ve Cihazlar

- Thermal Cyclers (BIO-RAD T100™)
- Buzdolabı (Bosch)
- Buzdolabı (Altus)
- Mikrosantrifüj (Nüve NF 048)
- Minisantrifüj (Isolab)
- Vorteks (Nüve NM 110)
- Termal Blok (Inovia UHB-1)

- Etüv (Nüve EN 500)
- Mikropipet seti (Thermo Scientific – Finnpiquette, Sartorius, Isolab)
- Mikrodalga Fırın (Altus ALMD 17B)
- Manyetik Karıştırıcı (Nüve MK 418)
- Elektroforez Güç Kaynağı (Thermo Scientific EC 300XL)
- Elektroforez Tankı (JUNYI®)
- Jel Dökümantasyon Sistemi (Vilber Lourmat Bio-Print ST4, Cedex, France)
- Derin Dondurucu (Bosch)
- Otoklav (Nüve)
- Spektrofotometre (Mecasys- Optizen)
- Hassas Terazî (Rad-Wag)

### 3.1.2 Kimyasal Malzemeler

- PureLink Genomic DNA Mini Kit (invitrogen by life technologies)
- dH<sub>2</sub>O (distile su) (Eczacıbaşı)
- Trizma base (Sigma T1503)
- Asetik Asit (Merck – UN 2789)
- Etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) (Sigma 3341160)
- Ethidium Bromide (EtBr) (Sigma E-7637)
- Orange G (Sigma – O7252-25G)
- Disodyum EDTA (Na<sub>2</sub>EDTA) (Thermo Scientific – 17892)
- Gliserol (Aklar Kimya)
- Ethanol Absolute (≥%99.9) (Isolab chemicals UN1170)
- Agaroza (life technologies)
- 100 bp DNA Ladder (Thermo Scientific GeneRuler 100bp)

- 50 bp DNA Ladder (Thermo Scientific GeneRuler 50bp)
- 10X Taq Buffer (+ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_2$ , - $\text{MgCl}_2$ ) (Thermo Scientific)
- 2 mM dNTP Mix (Thermo Scientific)
- 25 mM  $\text{MgCl}_2$  (Thermo Scientific)
- Dimetil sülfoksit (DMSO) (VMR Life Science)
- Taq DNA Polimeraz 5U/ $\mu\text{l}$  (Thermo scientific)
- Primerler (Oligomer – 100nmol)
- DdeI restriksiyon enzimi (Thermo Scientific)
- MseI restiksiyon enzimi (Thermo Scientific)
- BccI restriksiyon enzimi (New England BioLabs)

### 3.1.3 Çözeltiler

- 50X Tris-Asetik asit-EDTA (TAE) Tamponu

242 g Tris baz

57.1 ml asetik asit

37.2 g  $\text{Na}_2\text{EDTA}$

Distile su ile 1000 ml'ye tamamlanır. Bir gece boyunca manyetik karıştırıcıda çözünmesi sağlanır.

- Elektroforez Yürütme Tamponu

Hazırlanan 50X TAE'den 20 ml alınır, distile su ile 1000 ml'ye tamamlanır. 1X'lik TAE yürütme tamponu hazırlanmış olur.

- Orange G Çözeltisi

2.232 g  $\text{Na}_2\text{EDTA}$

200 mg Orange G

60 ml Gliserol

40 ml distile suda çözülür.

➤ %3'lük Agaroz Jel Çözeltisi

200 ml 1X TAE Tamponu

6 g Agaroz

10 µl Ethidium Bromide

➤ %1.5'lik Agaroz Jel Çözeltisi

200 ml 1X TAE Tamponu

3 g Agaroz

10 µl Ethidium Bromide

## **3.2 KULLANILAN YÖNTEMLER**

### **3.2.1 Periferik Kandan DNA İzolasyonu**

#### **3.2.1.1 Prensip**

Periferik kanda bulunan hücreler nükleaz inhibitörü guanidin HCl varlığında, proteinlerin degradasyonunu sağlayan proteinaz K ile inkübe edilir. Bu işlemle hücrelerin parçalanması sağlanır. Açığa çıkan hücresel nükleik asitler spin kolona yerleştirilmiş silika tabanlı membrana bağlanırlar. Bu özel matriksteki fiberlere bağlanan nükleik asitleri kontaminasyona veya safsızlığa sebep olabilecek hücresel elemanlardan ve ortamdaki diğer moleküllerden arındırmak için yıkama ve santrifügasyon işlemleri gerçekleştirilir. Sonrasında düşük yoğunluklu tuz elüsyonu ile fiberlere bağlı olan nükleik asitlerin bu yapıdan ayrılması sağlanır.

#### **3.2.1.2 Protokol**

Toplanan kanların 200 µl'si ile PureLink Genomic DNA Mini Kit (invitrogen by life technologies) kullanılarak üretici firmanın aşağıdaki protokolüne göre DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir.

Protokol:

1. 55 °C'de su banyosu veya ısı bloğu hazırlanır.
2. Steril bir mikrosantrifüj tüpüne, 200 µL taze veya donmuş kan örneği eklenir.
3. Örneğe 20 µL Proteinaz K eklenir.
4. Örneğe 20 µL RNase A eklenip, karıştırmak için kısaca vortekslenir ve 2 dakika oda sıcaklığında inkübe edilir.
5. 200 µL PureLink® Genomic Lysis Binding Buffer eklenir ve homojen bir çözelti elde etmek için iyice vortekslenir.
6. Proteinlerin parçalanmasını teşvik etmek için 55 ° C'de 10 dakika inkübe edilir.
7. Lizat'a 200 µL %96-100 etanol eklenir, homojen bir çözelti elde etmek için 5 saniye boyunca vortekslenir.
8. Bir toplama tüpü ve bir PureLink® Spin Column'u (spin kolon) paketten çıkarılır.
9. PureLink® Genomic Lysis Binding Buffer ve etanol ile hazırlanan lizat (~ 640 µL) PureLink® Spin Kolonu'na eklenir.
10. Oda sıcaklığında 1 dakika boyunca 10.000 x g'de santrifüjlenir.
11. Toplama tüpü atılır ve spin kolon kitle birlikte verilen temiz bir PureLink® toplama tüpüne yerleştirilir.
12. Kolona etanol ile hazırlanan 500 µL Wash Buffer 1 eklenir.
13. Oda sıcaklığında 1 dakika boyunca 10.000 x g'de santrifüj edilir.
14. Toplama tüpü atılır ve spin kolon temiz bir toplama tüpüne yerleştirilir.
15. Kolona etanol ile hazırlanmış 500 µL Wash Buffer 2 eklenir.
16. Kolonu 3 dakika boyunca maksimum hızda oda sıcaklığında santrifüj edilir. Toplama tüpü atılır.
17. Spin kolon steril bir 1.5 mL mikrosantrifüj tüpüne yerleştirilir.

18. Kolona 25–200 µL PureLink® Genomic Elution Buffer eklenir.

19. Oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edilir. Kolon oda sıcaklığında 1 dakika boyunca maksimum hızda santrifüjlenir. Tüp saflaştırılmış genomik DNA içerir.

20. İkinci bir elüsyon aşaması aynı hacimde Elution Buffer kullanılarak gerçekleştirilir. Kolon oda sıcaklığında 1,5 dakika maksimum hızda santrifüjlenir.

21. Tüpe akan genomik DNA içeren buffer DNA'nın saklanacağı mini santrifüj tüplerine aktarılır ve -20 °C'de uzun süre saklanabilir.

### 3.2.2 Primer Tasarımı ve Restriksiyon Enzimi Seçimi

NCBI (National Center for Biotechnology Information-Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi)'ın kısa genetik varyasyonların bilgilerini derlemek için oluşturduğu dbSNP veritabanında (URL-5) polimorfizmlerin ID'leri taranarak dizi bilgileri sağlandı.

Bu diziler, mevcut kesim bölgeleri ve restriksiyon enzimlerinin haritasını çıkarmaya yarayan online bir araç olan NEB Cutter (URL-6) adresine kopyalandıktan sonra polimorfizmi tanıyan enzimler belirlenerek aralarında diziyi en az lokustan kesenler seçildi. Daha sonra enzimlerin diziyi bir bölgeden kesebileceği nükleotid aralıkları belirlenerek bu diziyeye primer tasarlama çalışmaları gerçekleştirildi.

Primer tasarımında temel olarak Primer 3 programını kullanan NCBI'nin primer tasarlama aracı Primer-BLAST (URL-5) ve PerlPrimer uygulamasından yararlanıldı. Edinilen primer çiftlerinden  $T_m$  ve %GC oranı uygun olanlar, kendileri ve birbirleriyle komplementer baz eşleşmesi yapmayanlar seçilerek online bir primer özellikleri hesaplayıcısı olan OligoCalc (Oligonucleotide Properties Calculator)'ta kontrol edildi.

### 3.2.3 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

İzole edilen DNA'ların kalitesi ve saflığı spektrofotometrede 260 ve 280 nm dalgaboylarındaki ölçümler kullanılarak değerlendirildi. PCR'da kullanılacak konsantrasyonda olacak şekilde ayarlandı (25-50 ng). *SIRT1* ve *SIRT2* gen amplifikasyonları



PCR yöntemiyle gerçekleştirildi. Kullanılan forward ve reverse (ileri ve geri) primer dizileri aşağıdaki gibidir:

SIRT1 F: 5' TTTCAAGTAATGGAGAGGTGTG 3'

SIRT1 R: 5' ATGTTGGCTGGTCTCTTCTG 3'

SIRT2 F: 5' CCC CAA CCC CAG CAA ATC TC 3'

SIRT2 R: 5' GAC CCT CTT GTT ACC CCT CAC 3'

Her bir örnek için toplam 25 µl reaksiyon hacminde PCR ortamı hazırlandı. Reaksiyon tüpüne 1mM 1X Taq Buffer, 1.5mM MgCl<sub>2</sub>, 0,2mM dNTP mix, 30 pmol primerler, 25-50ng DNA ve 1U Taq polimeraz enzimi eklendi. Amplifikasyonlar "Biorad T100™ Thermal Cycler" cihazı ile aşağıdaki programlarda gerçekleştirildi.

SIRT1 Program:

95°C 3 dakika..... (İlk Denatürasyon)  
95°C 45 saniye ..... (Denatürasyon)  
60°C 45 saniye .... (Primer Bağlanması)  
72°C 45 saniye ..... (Uzama)  
72°C 7 dakika ..... (Son uzama)

[35 Döngü]

SIRT2 Program:

95°C 3 dakika ..... (İlk Denatürasyon)  
95°C 45 saniye ..... (Denatürasyon)  
62°C 45 saniye .... (Primer Bağlanması)  
72°C 45 saniye ..... (Uzama)  
72°C 7 dakika ..... (Son uzama)

[35 Döngü]

Amplifikasyon sonunda elde edilen ürünler %1.5'luk agaroz jelde yürütülerek UV altında görüntülendi ve bant boyları (sırasıyla 550 bp ve 562 bp) doğrulandı.

### 3.2.4 Agaroz Jel Elektrofrez

Öncelikle 242g Tris baz, 57.1 ml glasiyel asetik asit ve 37.2 g Na<sub>2</sub>EDTA bir cam şişe içerisinde manyetik karıştırıcıda bir gece boyunca çözdürülerek 50X'lik TAE tamponu hazırlandı. Daha sonra elektroforez işlemine kullanılmak üzere 1X'e seyreltmek için 50X'likten 20 ml alınarak dH<sub>2</sub>O ile 1000 ml'ye tamamlandı. Jelin hazırlanırken ve yürütme esnasında yürütme tamponu olarak bu çözelti kullanıldı.

PCR sonrasında tasarlanan primerlerin doğru bölgeyi çoğaltıp çoğaltmadığını kontrol etmek için ürünler agaroz jelde yürütüldü. Amplikonların *SIRT1* için 550 bp ve *SIRT2* için 562 bp'lik tek bant içermesi beklenmekteydi. Bunun belirlenmesi için %1.5'lük agaroz jel hazırlandı. 200 ml 1X TAE tamponu ve 3 g agaroz bir erlen içerisinde aktarıldı ve mikrodalgada homojen bir görünüm oluşuncaya kadar agarozun erimesi sağlandı. Jelin tablaya ve taraklara zarar vermemesi için hafifçe karıştırılarak soğuması beklendi. Daha sonra 10 mg/ml'lik EtBr'den 10 µl eklenerek iyice karışması sağlandı ve hazırlanan tablaya döküldü ve taraklar yerleştirildi. Jel donduktan sonra taraklar çıkarılarak içinde 1X'lik yürütme tamponu (1X TAE tamponu) bulunan elektroforez tankına yerleştirildi. PCR ürünleri üzerlerine 10 µl Orange G boyası eklenerek pipetaj yapılarak jeldeki kuyucuklara yüklendi. Bant boyutlarını karşılaştırarak tespit etmek amacıyla referans DNA bantları içeren 100 bp'lik DNA Ladder kullanıldı. Örnekler 120 voltta 30 dk yürütüldü. Yürütme sonunda jel, jel dökümantasyon sistemi (Vilber Lourmat Bio-Print ST4, Cedex, France) ile UV altında görüntüldü. Elde edilen bantların boyutları kullanılan DNA Ladder ile karşılaştırılarak yaklaşık olarak belirlendi ve doğrulandı.

### 3.2.5 Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP)

PCR sonrası elde edilen amplikonların, seçilen uygun enzimlerle ve bunların optimum çalışma sıcaklıklarında inkübe edilerek restriksiyonu gerçekleştirildi. Bu reaksiyon, 10-15 µl PCR ürünü, 5U restriksiyon enzimi ve 1X tampon (enzime uygun) ile 25 µl hacimde gerçekleştirildi. Aşağıda kullanılan enzimler ve reaksiyon koşulları gösterilmiştir (Çizelge 3.1). Enzim kesimi sonrasında %3'lük agaroz jel hazırlanarak örnekler yüklendi ve 120 voltta 50-60 dk yürütüldü. Bant boyutları kullanılan 100 bp DNA Ladder'a göre değerlendirildi.

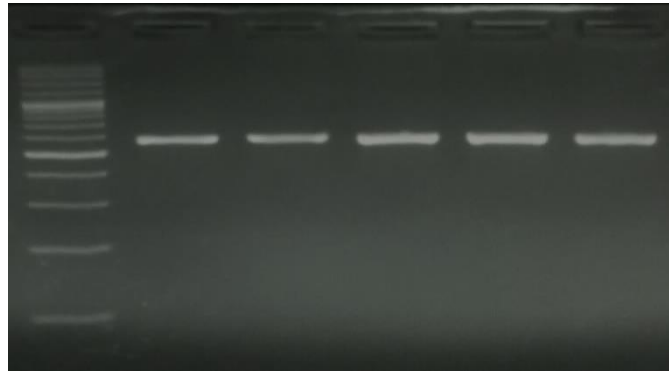
**Çizelge 3.1** Kullanılan enzimler ve reaksiyon koşulları.

Gen	SNP ID	Restriksiyon Enzimi	Kesim bölgesi	Reaksiyon Koşulları
SIRT1	rs11596401 (C/T)	NlaIII	5' ... C A T G ↓ ... 3' 3' ... ↑ G T A C ... 5'	37°C'de 16 saat inkübasyon
SIRT2	rs2015 (A/C)	TfiI	5' ... G ↓ A A T C ... 3' 3'... C T T A ↑ G ... 5'	37°C'de 16 saat inkübasyon

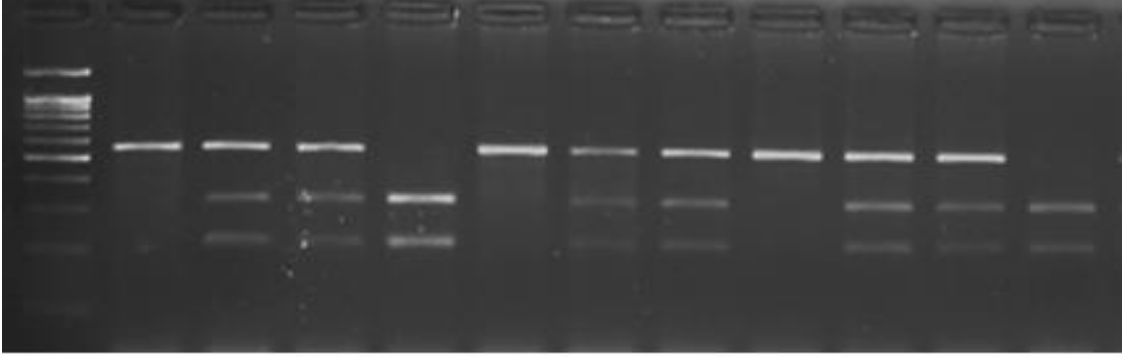
### 3.2.6 Verilerin Değerlendirilmesi

#### 3.2.6.1 SIRT1 rs11596401 (C/T) Gen Polimorfizmi

*SIRT1* rs11596401 polimorfizminde normal alel olan C'nin yerini T aleli almaktadır. Akciğer kanseri hastalarında ve sağlıklı kontrollerde rs11596401 polimorfizmini saptamak için ilgili gen bölgesi amplifiye edildikten sonra her bir örnek %1.5'lük agaroz jelde yürütülerek kontrol edildi. Marker (100 bp DNA Ladder) ile karşılaştırıldığında beklenildiği gibi yaklaşık 550 bp ( $\pm 10$  bp) boylarında bantlar elde edildi (Şekil 3.1). Elde edilen PCR ürünleri NlaIII ile kesilerek RFLP gerçekleştirildi. Restriksiyon ürünleri hazırlanan %3'lük agaroz jelde 120 volt güç ile yaklaşık bir saat yürütülerek C aleli için 550 bp, T aleli için 332 ve 218 bp boylarında bantlar elde edildi (Şekil 3.2).



**Şekil 3.1** SIRT1 primerleriyle yapılan PCR'in agaroz jelde kontrolü. İlk kuyucukta 100 bp DNA Ladder kullanılmıştır. Diğer kuyucuklarda farklı bireylere ait PCR ürünleri bulunmaktadır.

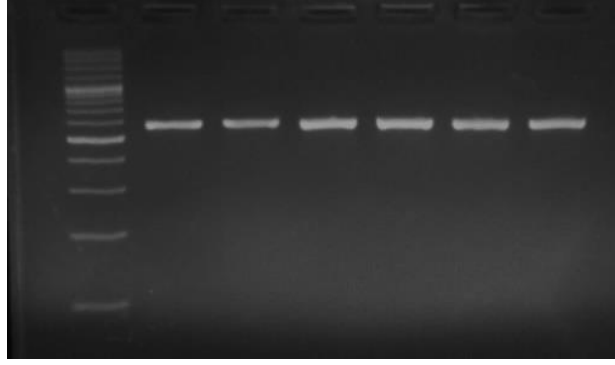


**Şekil 3.2** *SIRT1* rs11596401 gen polimorfizmi jel elektroforez görüntüsü. İlk kuyucuğa 100 bp DNA Ladder yüklenmiştir. 100 bp'lik DNA Ladder'dan sonraki 1, 5 ve 8 nolu örnekler CC; 2, 3, 6, 7, 9 ve 10 nolu örnekler CT; 4 ve 11 nolu örnekler TT genotipindedir.

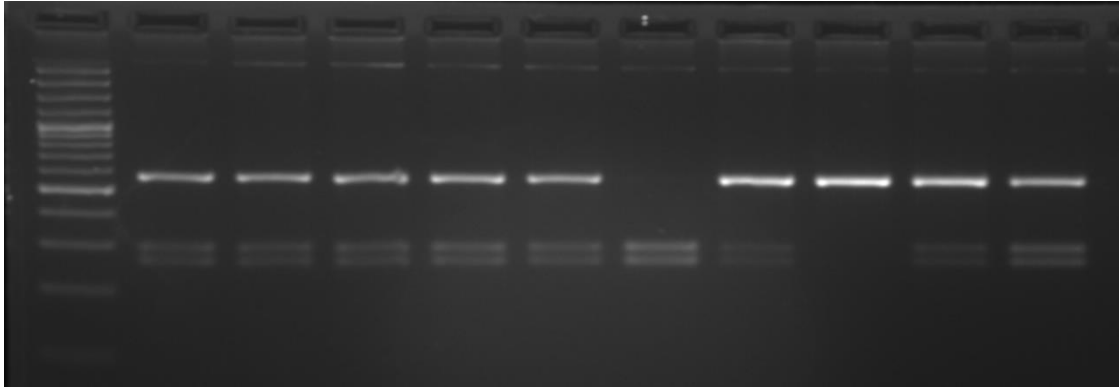
### 3.2.6.2 *SIRT2* rs2015 (A/C) Gen Polimorfizmi

*SIRT2* rs2015 polimorfizminde normal alel A'nın yerini C aleli almaktadır. Kullanılan TfiI enzimi polimorfik alel C'yi tanıyarak kesmektedir. Genotipte A aleli bulunması durumunda 562 bp'lik, C aleli bulunması durumunda 300 bp ve 262 bp'lik bantlar beklenmektedir.

Akciğer kanseri hastaları ve kontrollerde rs2015 polimorfizmini saptamak için ilgili gen bölgesi amplifiye edildikten sonra her bir örnek %1.5'lük agaroz jelde yürütülerek kontrol edildi. Marker (100 bp DNA Ladder) ile karşılaştırıldığında beklenildiği gibi yaklaşık 562 bp ( $\pm 10$  bp) boylarında bantlar elde edildi (Şekil 3.3). PCR ürünleri TfiI ile kesilerek RFLP gerçekleştirildi. Restriksiyon ürünleri hazırlanan %3'lük agaroz jelde yürütüldü ve görüntüldü. Marker (DNA Ladder) ile kıyaslanarak elde edilen bantlara göre belirlenen genotipler şu şekildedir; 562 bp AA aleli, 300+262 bp CC aleli, 562+300+262 bp AC aleli (Şekil 3.4).



**Şekil 3.3** SIRT2 primerleriyle yapılan PCR'in agaroz jelde kontrolü. İlk kuyucukta 100 bp DNA Ladder kullanılmıştır. Diğer kuyucuklarda farklı bireylere ait PCR ürünleri bulunmaktadır.



**Şekil 3.4** *SIRT2* rs2015 gen polimorfizmi jel elektroforez görüntüsü. İlk kuyucuğa 100 bp DNA Ladder yüklenmiştir. 100 bp'lik DNA Ladder'dan sonraki 8 nolu örnek AA; 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9 ve 10 nolu örnekler AC; 6 nolu örnek CC genotipindedir.

### 3.2.7 İstatistiksel Analiz

Gerçekleştirilen vaka kontrol çalışmasında akciğer kanseri hastaları ve sağlıklı kontroller arasındaki polimorfizmlerin genotip sıklığını karşılaştırmak için  $\chi^2$  (ki-kare) testi kullanıldı. Polimorfizmler ve akciğer kanseri arasındaki ilişki ikili lojistik regresyon analizi yoluyla modellenmiştir. Genotipler arasındaki akciğer kanseri riskini karşılaştırmak için OR değeri ve %95 güven aralığı hesaplandı.  $p < 0.05$  değeri, istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. İstatistiksel analiz SPSS 18.0 (SPSS Inc., Chicago, IL) paket programı kullanılarak gerçekleştirildi.



## BÖLÜM 4

### BULGULAR

Akciğer kanseri ile *SIRT1* ve *SIRT2* gen polimorfizmleri arasındaki ilişkinin incelendiği bu çalışmaya 100 akciğer kanseri hastası, 100 sağlıklı kontrol dahil edilmiştir. Akciğer kanseri hasta grubunda 89 erkek 11 kadın bulunurken, kontrol grubunda 88 erkek 12 kadın bulunmaktadır. Gruplar arasında yaşa ve cinsiyete bağlı anlamlı bir fark bulunmamaktadır (Çizelge 4.1).

**Çizelge 4.1** Akciğer kanseri hasta ve kontrol grubunun cinsiyet ve yaşa göre dağılımı.

<b>SIRT1(rs11596401)</b>	<b>Kontrol</b>	<b>Hasta</b>
<b>SIRT2 (rs2015)</b>	<b>n (%)</b>	<b>n (%)</b>
<b>Kadın</b>	12 (12)	11 (11)
<b>Erkek</b>	88 (88)	89 (89)
<b>Yaş Ortalaması</b>	45,8±10,62	43,26±10,54

#### 4.1 SIRTUİN GEN POLİMORFİZMLERİNİN FREKANSLARI

##### 4.1.1 SIRT1 rs11596401 Gen Polimorfizmi

Akciğer kanseri hastaları ve sağlıklı kontrol grubu *SIRT1* rs11596401 (C/T) gen polimorfizmi açısından incelendiğinde kontrol grubunun 23'ünün (%23) CC genotipinde, 54'ünün (%54) CT genotipinde, 23'ünün (%23) TT genotipinde olduğu saptandı. Hasta grubunun ise 23'ünün (%23) CC genotipinde, 48'inin (%48) CT genotipinde ve 29'unun (%29) TT genotipinde olduğu saptandı. Genotip dağılımı açısından iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunamadı ( $p=0.593$ ,  $OR=1.261$ ;  $CI=0.569-2.795$ ) (Çizelge 4.2).

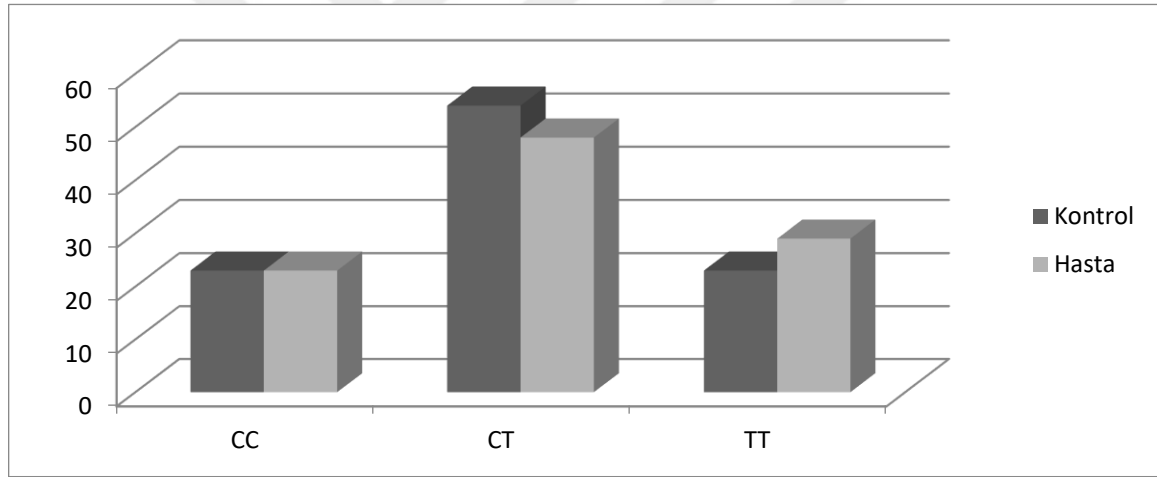
*SIRT1* rs11596401 (C/T) gen polimorfizmi için kontrol ve hasta grupları alel frekansları açısından karşılaştırıldığında C alel frekansı kontrol grubunda %50, hasta grubunda %47

olarak bulundu. T alel frekansı ise kontrol grubunda %50, hasta grubunda ise %53 olarak bulundu. Alel frekansları açısından da kontrol ve hasta grubu arasında istatistiksel olarak farklılık bulunamadı ( $p=0.617$ ;  $OR=1.128$ ;  $CI=0.762-1.669$ ) (Çizelge 4.3).

**Çizelge 4.2** Akciğer kanseri hastalarında ve sağlıklı kontrollerde *SIRT1* rs11596401 gen polimorfizm genotip frekansları.

SNP	Genotip	Sağlıklı Kontroller n=100	Akciğer Kanseri Hastaları n=100	P değeri	OR (95 % GA)
<b>SIRT1</b> <b>rs11596401</b> <b>(C/T)</b>	CC	23 (% 23)	23 (% 23)	0.593	Referans
	CT	54 (% 54)	48 (% 48)		0.889 (0.443-1.784)
	TT	23 (% 23)	29 (% 29)		1.261 (0.569-2.795)

%95 GA; %95 güven aralığı, OR; Göreceli olasılık oranları (odds ratio)



**Şekil 4.1** *SIRT1* rs11596401 gen polimorfizm genotip frekansları.

**Çizelge 4.3** Akciğer kanseri hastalarında ve sağlıklı kontrollerde *SIRT1* rs11596401 gen polimorfizminin alel dağılımı.

SNP	Alel	Sağlıklı Kontroller n=100	Akciğer Kanseri Hastaları n=100	P değeri	OR (% 95 GA )
<b>rs 11596401</b>	C	% 50	% 47	0.617	1.128 (0.762-1.669)
	T	% 50	% 53		



#### 4.1.2 SIRT2 rs2015 Gen Polimorfizmi

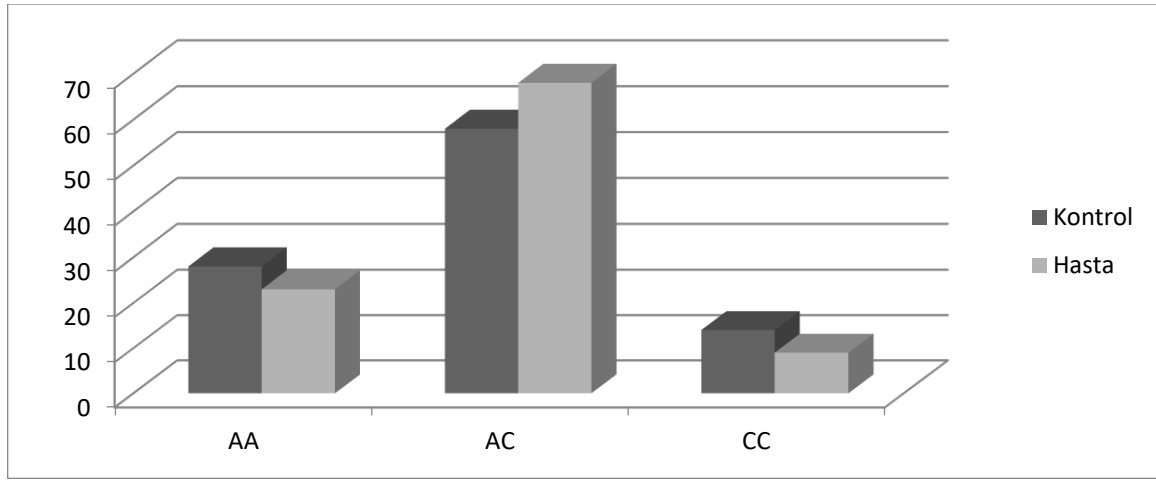
Akciğer kanseri hastaları ve sağlıklı kontrol grubu *SIRT2* rs2015 (A/C) gen polimorfizmi açısından incelendiğinde kontrol grubunun 28'inin (%28) AA genotipinde, 58'inin (%58) AC genotipinde, 14'ünün (%14) CC genotipinde olduğu saptandı. Hasta grubunun ise 23'ünün (%23) AA genotipinde, 68'inin (%68) AC genotipinde, 9'unun (%9) CC genotipinde olduğu saptandı. Genotip dağılımı açısından iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunamadı ( $p=0.306$ ,  $OR=0.783$ ;  $CI=0.287-2.133$ ) (Çizelge 4.4).

*SIRT2* rs2015 (A/C) gen polimorfizmi için kontrol ve hasta grupları alel frekansları açısından karşılaştırıldığında A alel frekansı kontrol ve hasta gruplarının ikisinde de %57 olarak bulundu. C alel frekansı da yine kontrol ve hasta gruplarının ikisinde de %86 olarak bulundu. Alel frekansları açısından da kontrol ve hasta grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı ( $p=1.0$ ;  $OR=1.0$ ;  $CI=0.673-1.486$ ) (Çizelge 4.5).

**Çizelge 4.4** Akciğer kanseri hastalarında ve sağlıklı kontrollerde *SIRT2* rs2015 gen polimorfizminin genotip frekansları.

SNP	Genotip	Sağlıklı Kontroller n=100	Akciğer Kanseri Hastaları n=100	P değeri	OR (95 % GA)
<b>SIRT2 rs2015 (A/C)</b>	AA	28 (% 28)	23 (% 23)	0.306	Referans
	AC	58 (% 58)	68 (% 68)		1.427 (0.743-2.743)
	CC	14 (% 14)	9 (% 9)		0.783 (0.287-2.133)

%95 GA; %95 güven aralığı, OR; Göreceli olasılık oranları (odds ratio)



Şekil 4.2 *SIRT2* rs2015 gen polimorfizm genotip frekansları.

Çizelge 4.5 Akciğer kanseri hastalarında ve sağlıklı kontrollerde *SIRT2* rs2015 gen polimorfizminin alel dağılımı.

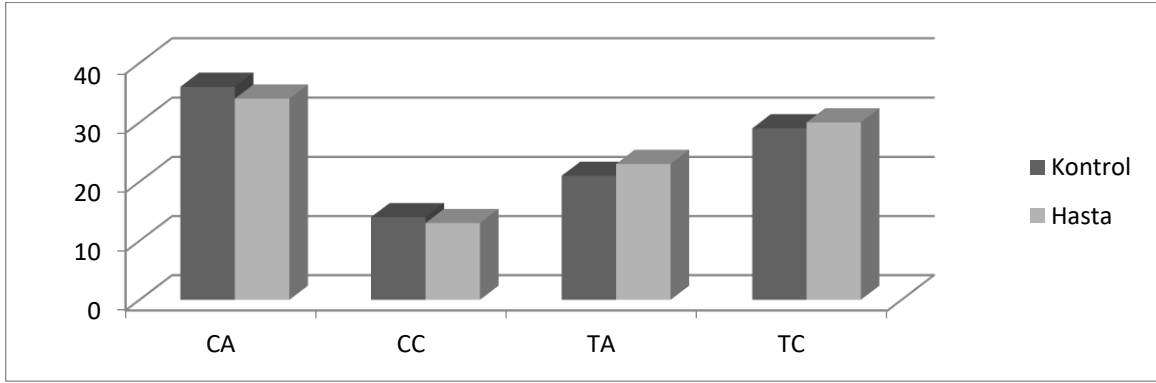
SNP	Alel	Sağlıklı Kontroller n=100	Akciğer Kanseri Hastaları n=100	P değeri	OR (% 95 GA )
rs 2015	A	% 57	% 57	1.000	1.000 (0.673-1.486)
	C	% 43	% 43		

#### 4.1.3 *SIRT1* rs11596401 (C/T) ve *SIRT2* rs2015 (A/C) Polimorfizmleri Haplotip Analizi

*SIRT1* rs11596401 (C/T) ve *SIRT2* rs2015 (A/C) gen polimorfizmleri haplotip açısından incelendiğinde de hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (Çizelge 4.6 ve Şekil 4.3).

Çizelge 4.6 Akciğer kanseri hastalarında ve sağlıklı kontrollerde *SIRT1* rs11596401 / *SIRT2* rs2015 haplotip dağılımları.

Haplotip rs11596401/rs2015	Sağlıklı Kontroller n=100	Akciğer Kanseri Hastaları n=100	P değeri	OR (% 95 GA )
CA	% 36	% 34	0.939	Referans
CC	% 14	% 13	0.958	0.983 (0.525-1.843)
TA	% 21	% 23	0.586	1.160 (0.680-1.977)
TC	% 29	% 30	0.716	1.095 (0.671-1.788)



Şekil 4.3 *SIRT1* rs11596401-*SIRT2* rs2015 gen polimorfizmlerinin haplotip dağılımı





## BÖLÜM 5

### TARTIŞMA

Akciğer kanseri, GLOBOCAN 2018 verilerine göre dünya genelinde en sık rastlanan kanser türlerinden biri olmakla birlikte, kanser nedeniyle meydana gelen ölümlerin yaklaşık beşte birinden sorumludur. Akciğer kanseri kötü prognoz nedeniyle, dünyada ölüme en çok neden olan kanser türleri arasında, erkeklerde birinci sırada, kadınlarda ise meme kanserinden sonra ikinci sırada gelmektedir ve tanıdan itibaren beş yıllık mortalitesi %85-90 arasındadır (WHO 2018a, Beckles vd. 2003). Genel olarak sigara, cinsiyet, yaş, ırk, diyet, çevresel kirlilik, aile öyküsü, genetik yatkınlık gibi etiyolojik faktörlerin sebep olduğu akciğer kanseri; diğer kanser türlerinde olduğu gibi ülkemizde görülme sıklığı gittikçe artan bir hastalıktır (Gültekin 2017).

Çoğu kanserde olduğu gibi akciğer kanseri de onkogenlerin aktivasyonu veya tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonu ile başlar (Sato vd. 2007). Akciğer adenokarsinomlarında çoğunlukla *KRAS* proto-onkogen mutasyonları görülürken, küçük hücreli akciğer karsinomunda tümör baskılayıcı gen *P53* mutasyonu ile *EGFR* amplifikasyon ve mutasyonu daha sık görülür (Hainaut vd. 1998, Shigematsu ve Gazdar 2006).

SIRT1 ekspresyonunun ve/veya aktivitesinin artmasının, *P53*'ü ve potansiyel olarak başka tümör baskılayıcı genleri inhibe ederek kanser riskini arttırabileceği öngörülmektedir (Li vd. 2015). *P53* proteini, hücre döngüsünün ilerlemesi ve apoptozun ana düzenleyicisidir. Tümör gelişimi sırasında, SIRT1'in up-regülasyonu, *P53*'ün deasetilasyonu ve inaktivasyonu sonucu hücrelerin apoptozu atlamasına ve DNA hasarını sürdürmesine izin verir (Lee vd. 2011).

Meme kanseri hücrelerinde güçlü sirtuin inhibitörleriyle yapılan son deneyler, tümör baskılayıcı *P53*'ün sadece SIRT1'in değil, aynı zamanda SIRT2'nin de hedefi olduğunu ve diğer sirtuin genlerinin de hedefi olabileceğini göstermektedir. SIRT2 inhibisyonu, *P53* ve *P21* gibi tümör baskılayıcı genlerin seviyelerini arttırarak kanser hücrelerinde apoptozu teşvik eder (Peck vd. 2010, Li vd. 2011). Eş zamanlı olarak hem SIRT1 hem de SIRT2'nin

inhibisyonu, bazı tümör hücre hatlarında ve Burkitt lenfoma ksenograftlerinde apoptozu arttırmaktadır (Peck vd. 2010, Heltweg vd. 2006).

Önceki çalışmalarda hücre ve hayvan modellerinde HIC1, SIRT1 ve p53 arasında; HIC1'in SIRT1 transkripsiyonunu baskıladığı, bu durumun SIRT1'in deasetilaz hedefi olan p53'ün artan asetilasyonu ve aktivasyonu ile sonuçlandığı düzenleyici bir döngü tanımlanmıştır. Ayrıca, DBC1 proteininin, SIRT1 deasetilaz ve p53 arasındaki etkileşimi bloke ettiği, p53 asetilasyonunun artmasına neden olduğu gösterilmiştir (Chen vd. 2005). Tseng vd. (2009) ise HIC1-SIRT1-P53'ün deregülasyonunun ilk defa akciğer kanserinde potansiyel bir prognostik biyobelirteç olduğunu göstermişlerdir. Yüksek SIRT1 ekspresyonunun, düşük HIC1 ekspresyonu / P53 asetilasyonu ile birlikte, akciğer kanseri hastalarında kötü prognoz ile ilişkili olduğunu ve akciğer skuamöz hücreli karsinomlarında DBC1 inaktivasyonunun, P53'ün SIRT1 aracılı deasetilasyonunu arttırdığını bildirmişlerdir.

Zhang vd. (2013), küçük hücreli dışı akciğer kanserinde SIRT1 ekspresyonu ile klinik özellikler, kemoterapiye yanıt ve prognoz arasındaki ilişkiyi araştırmak amacıyla yaptıkları çalışmada SIRT1 ekspresyonunun tümör evresi, tümör boyutu ve farklılaşma durumu ile anlamlı şekilde ilişkili olduğunu bulmuşlardır. İleri evre 295 KHDAK hastasından oluşan çalışma grubunda yüksek SIRT1 ekspresyonunun kemoterapiye direnç, daha kısa sağ kalım ve kötü prognoz ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir. İn vitro olarak, insan KHDAK H292 hücre hattında siRNA tekniği ile azaltılmış *SIRT1* ekspresyonunun hücre proliferasyonunu, göçünü ve metastazını önemli ölçüde inhibe ettiğini göstermişlerdir. Farelerle yapmış oldukları in vivo tümör oluşumu ve metastaz analizleri, *SIRT1* nakavtının, nude farelerde tümör hacmini ve metastatik yeteneğini önemli ölçüde azalttığını göstermiştir.

Han vd. (2013), SIRT1'in, KHDAK hastalarının beyin metastazı dokularında yüksek oranda ifade edildiğini ortaya koyan çalışmalarıyla SIRT1 ekspresyonunun, KHDAK hücre hatlarının (A549) göç kabiliyeti ile pozitif ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Beyin metastazı, küçük hücreli dışı akciğer kanserinde (KHDAK) sık görülen önemli bir komplikasyondur. KHDAK hastaları arasında yaklaşık%20 ila%40 bir noktada beyin metastazı geliştirir. Benzer şekilde Cha vd. (2009), SIRT1 ekspresyonunun lenf nodu metastazı ve tümör invazyonu ile anlamlı bir şekilde ilişkili olduğunu ve gastrik karsinomun kötü prognozu ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir.

Li vd. (2015), 75 akciğer adenokarsinom hastası ve 75 sağlıklı bireye ait dokuyu immünohistokimyasal boyama yöntemiyle incelemiş ve yüksek SIRT1 seviyeleri gözlemiştir. Çalışmaları sonucunda, SIRT1'in akciğer adenokarsinomunun ilerlemesinde kritik bir rol oynadığını ve kötü prognozla ilişkili olduğu sonucuna varmışlardır. Ayrıca, Wang vd. (2017) PubMed ve Web of Science veri tabanlarında Aralık 2016 öncesi yayınlanan çalışmaları kapsayan meta-analizlerinde, önceki çalışmalarla tutarlı olarak SIRT1 aşırı ekspresyonunun özellikle karaciğer kanseri ve akciğer kanserinde sağ kalımla ve kötü prognozla ilişkili olduğunu bildirmişlerdir.

Lee vd. (2019), SIRT1'in KHDAK'de klinikopatolojik önemini incelemek ve metforminin SIRT1 inhibisyonu üzerindeki etkilerini araştırmak için tasarladıkları çalışmada, diğer çalışmalarla benzer şekilde KHDAK dokularında yüksek SIRT1 seviyeleri ve SIRT1 aşırı ekspresyonunun KHDAK hastalarında kötü sağkalım ile ilişkili olduğunu tespit etmiştir

Yüksek SIRT1 ekspresyonu, prostat kanseri (Huffman vd.2007), primer kolon kanseri (Firestein vd. 2008), diffüz büyük B-hücreli lenfoma (Jang vd. 2008), mide (Cha vd. 2009), lösemi (Kozako vd. 2012), karaciğer (Chen vd. 2012) ve meme kanseri (Wu vd. 2012) gibi pek çok kanser türünde bildirilmiş ve kötü prognozla ilişkilendirilmiştir. Bununla birlikte, SIRT1'in aşırı ekspresyonunun, kolorektal karsinomda (Jung vd. 2013) ve baş boyun skuamöz hücreli karsinomda (Noguchi vd. 2013) iyi prognoz ile ilişkili olduğu da bildirilmiştir. SIRT1 ekspresyon seviyelerinin akciğer kanseriyle ilişkisini araştıran çalışmalara rağmen *SIRT1* gen polimorfizmleri ile akciğer kanseri arasındaki ilişkiyi analiz eden az sayıda çalışma yer almaktadır.

Leng vd. (2013) Colorado platosunda radona maruz kalan eski madencilerde (267 skuamöz hücreli karsinoma vakası ve 383 kontrol) skuamöz hücreli karsinoma duyarlılığı etkileyip etkilemediğini değerlendirmek için moleküler bir epidemiyolojik çalışma yapmıştır. Bu çalışmada, rs10997817, rs7097008, rs7895833, rs12414281, rs17533847 ve rs747024 dahil *SIRT1*'deki 11 SNP (Tek nükleotid Polimorfizmi)'nin 6'sı, skuamöz hücreli karsinom için artan risk ile ilişkilendirilmiştir. *SIRT1*'in bulunduğu haplotip bloğundaki genetik çeşitlilik ile madencilerdeki skuamöz hücreli karsinom riski arasında bir ilişki olduğu tespit edilmiştir (P = 0.003). Özellikle *SIRT1* rs7097008 A aleli ile işaretlenen haplotip aleller, skuamöz hücreli karsinom vakalarında artan risk (OR=1.69, P=8.2 × 10<sup>-5</sup>) ve madencilerde skuamöz hücreli karsinom vakalarında (HR=0.79, P=0.03) daha yüksek sağ kalım ile ilişkilendirilmiştir.

İşlevsel *SIRT1* rs7097008'in, A alelinin bronşiyal epitel hücrelerinde düşük gen ekspresyonu ve periferik lenfositlerde riskli DNA onarım kapasitesi ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Bu çalışmalarıyla *SIRT1*'in madencilerde radon kaynaklı kanserde tümör baskılayıcı rolü oynayabileceğini öne sürmüşlerdir.

Lv vd. (2017) Çin popülasyonunda 246 kontrol ve 79 skuamöz hücreli karsinom, 124 adenokarsinom içeren 257 küçük hücreli dışı akciğer kanseri hastasından oluşan çalışma grubunda *SIRT1* genindeki dört SNP'yi (rs12778366 (C/T), rs2273773(C/T), rs3758391(C/T), rs4746720(C/T)) analiz ederek *SIRT1* gen polimorfizmleri ile insan KHDAK arasında anlamlı bir ilişki bulamadıklarını bildirmişlerdir. Bu 4 SNP üzerinde yapılan haplotip birliktelik analizi de, akciğer kanseri ile de anlamlı bir ilişki göstermemiştir ( $P > 0.05$ ).

Mısır halk popülasyonunda yapılan başka bir çalışmada da ise 541 meme kanseri kadın ve 439 sağlıklı kontrol grubunda *SIRT1* varyantları (rs3758391, rs3740051 ve rs12778366) ile meme kanseri arasındaki ilişki araştırılmıştır. Rizk vd. (2016)'nin RT-PCR yöntemi ile yaptıkları çalışmada *SIRT1* geninin rs3758391 ve rs12778366 polimorfizmlerinin Mısır popülasyonunda meme kanseri riski ve prognozu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Her iki SNP de TT genotipinin meme kanseri hastalarında, yüksek tümör dereceleri ve daha yüksek lenf nodu tutulumu ile ilişkilendirilmiştir.

Bu tez kapsamında PCR-RFLP yöntemi kullanılarak, sirtuin ailesinden *SIRT1* rs11596401 gen polimorfizminin akciğer kanseri riski ile ilişkisi araştırılmıştır. Literatürde bu polimorfizmin akciğer kanseri ile ilişkilerinin incelendiği bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızda 100 akciğer kanseri hastası birey, 100 sağlıklı birey *SIRT1* rs11596401 (C/T) gen polimorfizmi açısından incelendi ve genotip dağılımı açısından iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunamadı ( $p=0.593$ , OR=1.261; CI=0.569-2.795). Alel frekansları açısından da kontrol ve hasta grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı ( $p=0.617$ ; OR=1.128; CI=0.762-1.669). Dolayısıyla bu polimorfizmin, akciğer kanseri ile ilişkili olmadığı düşünülmektedir.

Birçok çalışma, hücrel stres cevap olarak hücre döngüsünün düzenlenmesindeki rolü nedeniyle SIRT2'nin tümörigenezde rol oynadığını göstermektedir. SIRT2 genel olarak, kritik hasar görmüş hücrelerde DNA hasar stresine cevap olarak hücrelerin apoptoza ilerlemesini teşvik eder (Inoue ve vd. 2007).



Yapılan çalışmaların çoğunda akciğer kanserinde düşük SIRT2 seviyeleri elde edilmiştir. Örneğin; Li vd.'nin (2013) KHDAK hastaları ve hücre hatlarında (A549 ve H1299) SIRT2 ekspresyonunu analiz ettikleri çalışma, tümör hücrelerinde SIRT2 mRNA ve protein seviyelerinin tümör dışı dokulara kıyasla önemli ölçüde düşük olduğunu göstermektedir. Ayrıca yaptıkları diğer analizlerde SIRT2 aşırı ekspresyonunun ROT üretimini ve p27 seviyelerini arttırdığını bildirmişlerdir. A549 ve H1299 hücre hatlarında SIRT2'nin aşırı ekspresyonu, hücre proliferasyonunun inhibisyonuna ve hücre apoptozuna neden olmuştur (Li vd. 2016).

Gong vd. (2018) yedi memeli sirtuininin (SIRT1-7), KHDAK'deki klinikopatolojik parametreler ve prognoz ile olan ilişkilerini araştırmak ve karşılaştırmak için yaptıkları çalışmada SIRT2 protein ekspresyonunun, KHDAK dokularında normal dokularla karşılaştırıldığında down-regüle edildiğini göstermiştir. Ayrıca Li vd.'nin çalışmasından elde edilen sonuçları tekrar analiz ederek SIRT2 mRNA ekspresyonunun KHDAK dokularında down-regülasyonunu göstermişlerdir.

2015 yılında yapılan bir çalışmada, SIRT2'nin, KHDAK hücrelerinin proliferasyonunu, koloni oluşumunu ve tümör büyümesini in vitro ve in vivo olarak *JMJD2A* (Lysine-spesific demethylase 4A; KDM4A)'ya bağımlı bir şekilde inhibe ettiği gösterilmiştir. Xu vd. (2015) bu çalışmalarında SIRT2'nin, *JMJD2A*'nın promotör bölgesine bağlanarak *JMJD2A* ifadesini negatif olarak düzenlediğini ve küçük hücreli dışı akciğer kanseri büyümesini baskıladığını açıklamışlardır.

Ayrıca fare modelleriyle yapılan deneylerde, pankreas ve akciğer kanserinde, *SIRT2*<sup>-/-</sup> *KRAS*<sup>G12D</sup> farelerde, *KRAS*<sup>G12D</sup> farelere oranla, artan *KRAS* asetilasyonu sonucu fenotipte daha agresif tümörler geliştiği saptanmıştır. Song vd. (2016) farelerle yapmış oldukları deneylerde *SIRT2* nakavtinin onkogenik *KRAS*'ın neden olduğu akciğer adenokarsinomlarının ilerlemesini arttırdığını göstermişlerdir. *KRAS* K147, *SIRT2*'ye özgü yeni bir deasetilasyon hedefi olarak tanımlanırken, asetilasyon durumunun doğrudan *KRAS* aktivitesini düzenleyerek sonuçta hücre çoğalması, koloni oluşumu ve tümör büyümesi üzerindeki etkisi gösterilmiştir.

Yapılan çalışmalar, küçük hücreli dışı akciğer kanseri (Li vd. 2013), glioma (Hiratsuka vd. 2003), mide karsinomları (Peters vd. 2010) ve hepatoselüler karsinom (Kim vd. 2011) dahil

olmak üzere birçok kanser türünde, SIRT2 ekspresyonunun azaldığını göstermektedir. Buna karşın SIRT2'nin aralarında akut miyeloid lösemi (Dan vd. 2012), hepatosellüler kanser (Kim vd. 2011) ve prostat kanserinin (Hou vd. 2012) de bulunduğu çeşitli kanser türlerinde olumsuz sonuçları vardır. SIRT2, ayrıca meme kanserinde farklı tümör derecelerine bağlı hem tümör baskılanmasında hem de tümör gelişiminin desteklenmesinde rol oynar (McGlynn vd. 2014).

*SIRT2* kanser prognozunda önemli bir rol oynamasına rağmen, literatürde *SIRT2* varyantlarının akciğer kanseri ile ilişkisini araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır. Literatür taramamızda, *SIRT2* varyantlarının kanserle ilişkisini ortaya koyan Yang vd. (2017) tarafından yapılmış sadece bir çalışmaya rastlanmış olup bu çalışmada *SIRT2* varyantları ile kolorektal kanser arasındaki ilişki araştırılmıştır. Çin popülasyonundan 842 kolorektal kanser hastası ve 1.718 sağlıklı kontrol grubu dahil edilerek yapılan çalışmada *SIRT2*'nin 3'UTR bölgesinde yer alan minör allel sıklığı > 0.05 olan iki varyant (rs2015 ve rs2241703) belirlenerek Taqman genotipleme yöntemi kullanılarak genotiplenmiştir. rs2015 A aleli, rs2015 C aleli ile karşılaştırıldığında, erkeklerde ve 60 yaşın üstündeki hastalarda düşük kolorektal kanseri riski ile ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır. Yang vd. bu çalışmayla *SIRT2* genindeki rs2015 (A/C) polimorfizminin, kolorektal kanser riski ile ilişkili olduğunu ve kolorektal kanser karsinogenezinde *SIRT2*'nin önemli bir rol oynadığını göstermiştir.

Biz de bu tez kapsamında Yang vd. (2017)'nin kolorektal kanserde *SIRT2* varyantlarıyla yapmış oldukları çalışmaya benzer şekilde *SIRT2*'nin 3'UTR bölgesinde yer alan *SIRT2* rs2015 gen polimorfizminin akciğer kanseri riski ile ilişkisini araştırdık. Çalışmamızda 100 akciğer kanseri hastası birey, 100 sağlıklı birey PCR-RFLP yöntemi kullanılarak *SIRT2* rs2015 (A/C) gen polimorfizmi açısından incelendi. Genotip dağılımı açısından iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunamadı ( $p=0.306$ ,  $OR=0.783$ ;  $CI=0.287-2.133$ ) Alel frekansları açısından da kontrol ve hasta grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı ( $p=1.0$ ;  $OR=1.0$ ;  $CI=0.673-1.486$ ). *SIRT2* geni kanserde önemli bir rol oynamasına rağmen *SIRT2* rs2015 gen polimorfizminin akciğer kanseri patogenezinde rolü olmadığı düşünülmektedir.

GLOBOCAN 2018 verilerine göre, akciğer kanseri, en sık rastlanan kanser türlerinden biri olmakla birlikte (2.1 milyon yeni vaka, toplam vakaların %11.6'sı), kanserden ölümlerin yaklaşık beşte birinden sorumludur (1.76 milyon ölüm, toplam kanser ölümlerinin %18.4'ü).

Akciğer kanseri kötü prognoz nedeniyle, dünyada ölüme en çok neden olan kanser türleri arasında, erkeklerde birinci sırada (%22), kadınlarda ise meme kanserinden sonra ikinci sırada (%13.8) gelmektedir (WHO 2018b). Akciğer kanseri dünya genelinde en yaygın görülen kanser türü olmakla birlikte, GLOBOCAN verilerine göre 2018 yılında yaklaşık 2.1 milyon yeni vaka tespit edilmiş ve 1.76 milyon akciğer kanserine bağlı ölüm meydana gelmiştir. Sigara, cinsiyet, yaş, ırk ve çevresel kirlilik gibi etiyolojik faktörlerin yanında çok sayıda genetik değişim bu kanserin gelişimine yol açabilmektedir.

Bu çalışma için akciğer kanseri riski oluşturabilecek genetik değişiklikler araştırılmış ve *SIRT1* rs11596401 ile *SIRT2* rs2015 tek nükleotid polimorfizmleri seçilmiştir. 100 akciğer kanseri hastası ve 100 sağlıklı kontrol grubundan oluşan çalışmamızda rs11596401 gen polimorfizmi hasta ve kontrollerde genotip ve alel dağılımı açısından analiz edilmiş ancak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. Literatürde rs11596401 gen polimorfizminin akciğer kanserinde etkisinin araştırıldığı ilk çalışma olması sebebiyle çalışmanın daha yüksek sayıda hasta ve sağlıklı bireyle tekrar edilmesi faydalı olacaktır. Literatürde rs2015 ile ilgili sadece bir tane çalışma bulunmaktadır ve bu çalışmada kolorektal kanserde bir risk faktörü olabileceği rapor edilmiştir. Bizim çalışmamızda ise hasta ve kontrollerde genotip ve alel dağılımı arasında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. Sonuçlara göre çalışmanın daha geniş bir popülasyonla tekrarlanması gerektiği düşünülmektedir. Bunun yanı sıra sonuçlar bireylerin etnik kökenlerine de bağlı olabileceğinden; farklı coğrafyalardaki bireyler rs2015 açısından değerlendirilmelidir.



## BÖLÜM 6

### SONUÇ VE ÖNERİLER

Akciğer kanseri, hava yolu epitel hücrelerinin kontrolsüz çoğalması sonucu oluşan genetik değişikliğin fenotipe yansıdığı bir hastalıktır. Akciğer kanseri sadece yaygın olarak görülen bir kanser olması yönüyle değil, neden olduğu mortalite yükü nedeniyle de önemli bir sağlık sorunudur. Sigara, cinsiyet, yaş, ırk ve çevresel kirlilik gibi etiyolojik faktörlerin yanında çok sayıda genetik değişim bu kanserin gelişimine yol açabilmektedir. Onkogenler, tümör süpresör genler ve DNA tamir kapasitesi akciğer kanserine yatkınlıkta önemli rol oynamaktadır. Tümör süpresör *P53*, *KRAS* proto-onkogeni ve *EGFR* mutasyonlarının akciğer kanserinde en sık meydana gelen değişiklikler arasında gelmektedir. *P53* ve *KRAS* gibi bazı tümör baskılayıcı ve onkogenlerin sirtuinlerin deasetilasyon hedefi olduğu bilinmektedir. Sirtuinler, çeşitli enzimatik aktiviteleri ile aralarında asetilasyonun önemli bir form olduğu translasyon sonrası modifikasyonları düzenlemede önemli rol oynamaktadır. Sirtuinler, histonlar, transkripsiyon faktörleri ve metabolik enzimler dahil olmak üzere birçok hedefi etkisiz hale getirir.

Çalışmamızda akciğer kanseri ile *SIRT1* rs11596401 (C/T) ve *SIRT2* rs2015 (A/C) gen polimorfizmleri arasındaki ilişki araştırılmış olup elde edilen sonuçlar aşağıda sıralanmıştır:

1. *SIRT1* rs11596401 (C/T) gen polimorfizmi için genotip ( $p=0.593$ ) ve alel frekansları ( $p=0.617$ ) açısından akciğer kanseri hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.
2. *SIRT2* rs2015 (A/C) gen polimorfizmi için genotip ( $p=0.306$ ) ve alel frekansları ( $p=1.0$ ) açısından akciğer kanseri hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

Yaptığımız bu çalışma sonucunda *SIRT1* rs11596401 (C/T) ve *SIRT2* rs2015 (A/C) gen polimorfizmlerinin akciğer kanseri patogenezinde etkin bir rolünün olmadığı tespit edilmiştir. Sonuçlara göre her iki gen polimorfizmi ile ilgili çalışmanın daha geniş bir popülasyonla

tekrarlanması gerektiği düşünölmektedir. Bunun yanı sıra sonuçlar bireylerin etnik kökenlerine de bağlı olabileceğinden; farklı coğrafyalardaki bireyler bu polimorfizmler açısından değerlendirilmelidir.



## KAYNAKLAR

- Alberg A J and Samet J M** (2003) Epidemiology of lung cancer. *Chest.*, 123: 21-49.
- Amos C I, Wu X, Broderick P, Gorlov I P, Gu J, Eisen T, et al.** (2008) Genome-wide association scan of tag SNPs identifies a susceptibility locus for lung cancer at 15q25.1, *Nat. Genet.*, 40: 616-622.
- Bayram A ve İğci M** (2013) Sirtuin Genleri ve İşlevleri. *Fırat Tıp Derg./Fırat Med. J.*, 18(3): 136-140.
- Beckles MA, Spiro SG, Colice GL and Rudd RM** (2003) Initial evaluation of the patient with lung cancer: symptoms, signs, laboratory tests, and paraneoplastic syndromes. *Chest.*, 123: 97-104.
- Bell D W, Gore I, Okimoto R A, Godin-Heymann N, Sordella R, Mulloy R, Sharma S V, Brannigan B W, Mohapatra G, Settleman J and Haber D A** (2005) Inherited susceptibility to lung cancer may be associated with the T790M drug resistance mutation in EGFR. *Nat. Genet.*, 37(12): 1315-1316.
- Bereshchenko O R, Gu W and Dalla-Favera R** (2002) Acetylation inactivates the transcriptional repressor BCL6. *Nat. Genet.*, 32: 606–613.
- Black J C, Mosley A, Kitada T, Washburn M and Carey M** (2008) The SIRT2 deacetylase regulates autoacetylation of p300. *Mol. Cell*, 32(3): 449-455.
- Boffetta P** (2004) Epidemiology of environmental and occupational cancer. *Oncogene*, 23(38): 6392-6403.
- Bordone L and Guarente L** (2005) Calorie restriction, SIRT1 and metabolism: understanding longevity. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, 6: 298-305.
- Bordone L, Motta M C, Picard F, Robinson A, Jhala U S, Apfeld J, McDonagh T, Lemieux M, McBurney M, Szilvasi A, Easlson E J, Lin S J and Guarente L.** (2006) Sirt1 regulates insulin secretion by repressing UCP2 in pancreatic beta cells. *PLoS Biol.*, 4(2): e31.
- Bosch-Presegué L and Vaquero A** (2011) The dual role of sirtuins in cancer. *Genes Cancer*, 2(6): 648-662.
- Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre L A and Jemal A** (2018) Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J. Clin.*, 68(6):394-4.

## KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Brunet A, Sweeney L B, Sturgill J F, Chua K F, Greer P L, Lin Y, Tran H, Ross S E, Mostoslavsky R, Cohen H Y, Hu L S, Cheng H L, Jedrychowski M P, Gygi S P, Sinclair D A, Alt F W and Greenberg M E** (2004) Stress-dependent regulation of foxo transcription factors by the sirt1 deacetylase. *Science*, 303: 2011–2015.
- Cha B K, Kim Y S, Hwang K E, Cho K H, Oh S H, Byoung-Ryun K, Hong-Young J, Kwon-Ha Y, Eun-Taik J and Hak-Ryul K** (2016) Celecoxib and sulindac inhibit TGF- $\beta$ 1-induced epithelial-mesenchymal transition and suppress lung cancer migration and invasion via downregulation of sirtuin 1. *Oncotarget*, 7(35): 57213–57227.
- Cha E J, Noh S J, Kwon K S, Kim C Y, Park B H, Park H S, Lee H, Chung M J, Kang M J, Lee D G, Moon W S and Jang K Y** (2009) Expression of DBC1 and SIRT1 is associated with poor prognosis of gastric carcinoma. *Clin. Cancer Res.*, 15: 4453–4459.
- Chang H C and Guarente L** (2013) Sirt1 mediates central circadian control in the scn by a mechanism that decays with aging. *Cell*, 153(7): 1448–1460.
- Chang H C and Guarente L** (2014) SIRT1 and other sirtuins in metabolism. *Trends Endocrinol Metab.*, 25(3): 138-45.
- Chen H C, Jeng Y M, Yuan R H, Hsu H C and Chen Y L** (2012) SIRT1 promotes tumorigenesis and resistance to chemotherapy in hepatocellular carcinoma and its expression predicts poor prognosis. *Ann. Surg. Oncol.*, 19(6): 2011–2019.
- Chen W Y, Wang D H, Yen R C, Luo J, Gu W and Baylin S B** (2005) Tumor suppressor HIC1 directly regulates SIRT1 to modulate p53-dependent DNA-damageresponses. *Cell*, 123(3): 437-448.
- Cooper W A, Lam D C, O'Toole S A and Minna J D** (2013) Molecular biology of lung cancer. *J. Thorac Dis.*, 5 Suppl 5:S479-490.
- Coşkunpınar E** (2013) Küçük hücreli dışı akciğer kanseri hastalarında RRM1, RRM2 ve ERCC2 gen polimorfizmleri ve serum 8-OHG ve LDH düzeylerinin hastalığın riski ve prognozu üzerine etkilerinin araştırılması, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 87 s.
- Cruz C S D, Tanoue L T and R A Matthay** (2011) Lung Cancer: Epidemiology, Etiology, and Prevention. *Clin. Chest. Med.*, 32(4): 10.
- Dai J M, Wang Z Y, Sun D C, Lin R X and Wang S Q** (2007) SIRT1 interacts with p73 and suppresses p73-dependent transcriptional activity. *J. Cell Physiol.*, 210: 161-166.
- Dan L, Klimenkova O, Klimiankou M, Klusman J H, van den Heuvel-Eibrink M M, Reinhardt D, Welte K and Skokowa J** (2012) The role of sirtuin 2 activation by nicotinamide phosphoribosyltransferase in the aberrant proliferation and survival of myeloid leukemia cells. *Haematologica*, 97: 551–9.



## KAYNAKLAR (devam ediyor)

- De Oliveira R M, Sarkander J, Kazantsev A G and Outeiro T F** (2012) SIRT2 as a Therapeutic Target for Age-Related Disorders. *Front. Pharmacol.*, 3: 82.
- Ergüney S (Ed.)** (2012) Kanser Evrelemesi ve Sonuç Bildirimi Üzerine Genel Bilgiler. *AJCC Kanser Evreleme Atlası*. 2. Baskı, ISBN: 978-975-96147-2-0 Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 634: 1-32.
- Ferlay J, Parkin D M and Steliarova-Foucher E** (2010) Estimates of cancer incidence and mortality in Europe in 2008. *Eur. J. Cancer*, 46(4): 765-81.
- Firestein R, Blander G, Michan S, Oberdoerffer P, Ogino S, Campbell J, Bhimavarapu A, Luikenhuis S, de Cabo R, Fuchs C, Hahn WC, Guarente LP and Sinclair D A** The SIRT1 deacetylase suppresses intestinal tumorigenesis and colon cancer growth. (2008) *PLoS One*, 3(4): e2020.
- Flick F and Lüscher B** (2012) Regulation of Sirtuin Function by Posttranslational Modifications. *Front. Pharmacol.*, 28: 3-29.
- Fröjdö S, Durand C, Molin L, Carey A L, El-Osta A, Kingwell B A, Febbraio M A, Solari F, Vidal H and Pirola L** (2011) Phosphoinositide 3-kinase as a novel functional target for the regulation of the insulin signaling pathway by SIRT1. *Mol. Cell Endocrinol*, 335: 166-76.
- Gallardo E, Navarro A, Viñolas N, Marrades R M, Diaz T, Gel B, Quera A, Bandres E, Garcia-Foncillas J, Ramirez J and Monzo M** (2009) miR-34a as a prognostic marker of relapse in surgically resected non-small-cell lung cancer. *Carcinogenesis*, 30(11):1903-9.
- Gertz M and Steegborn C** (2010) Function and regulation of the mitochondrial Sirtuin isoform Sirt5 in Mammalia. *Biochim. Biophys. Acta*, 1804(8): 1658-1865.
- Ginsberg R J, Vokes E E and Rosenzweig K** (2001) Non-small cell lung cancer. In: DeVita VT, Hellman S and Rosenberg SA (Ed.) *Cancer: Principles and Practice of Oncology*. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 925-982.
- Go H, Jeon Y K, Park H J, Sung S W, Seo J W and Chung D H** (2010) High MET gene copy number leads to shorter survival in patients with non small cell lung cancer. *J. Thorac. Oncol.*, 5(3):305-313.
- Gomes P, Fleming Outeiro T and Cavadas C** (2015) Emerging role of Sirtuin 2 in the regulation of mammalian metabolism. *Trends Pharmacol. Sc.*, 36: 756-768.
- Gong J, Wang H, Lou W, Wang G, Tao H, Wen H, Liu Y and Xie Q** (2018) Associations of sirtuins with clinicopathological parameters and prognosis in non-small cell lungcancer. *Cancer Manag. Res.*, 10: 3341-3356.

## KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Gültekin M, Hacıkamiloğlu E, Boztaş G, Dündar S, Utku E Ş, Ergün A, Sevinç A, Tütüncü S ve Seymen E** (2017) 2014 Yılı Verileri, *Türkiye kanser istatistikleri*. Şencan İ ve Keskinlik B (Ed.) T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Ankara, 16-41.
- Haigis M C, Mostoslavsky R, Haigis K M, Fahie K, Christodoulou D C and Murphy A J** (2006) SIRT4 inhibits glutamate dehydrogenase and opposes the effects of calorie restriction in pancreatic beta cells. *Cell*, 126(5): 941–54.
- Hainaut P, Hernandez T, Robinson A, Rodriguez-Tome P, Flores T, Hollstein M, Harris C C and Montesano R** (1998) IARC database of p53 gene mutations in human tumors and cell lines: updated compilation, revised formats and new visualisation tools. *Nucleic Acids Res.*, 26(1): 205-13.
- Halilçolar H, Tatar D, Ertuğrul G, Çakan A, Gayrafoğlu M ve Kömürcüoğlu B** (1999) *Epidemiyoloji: Akciğer kanseri multidisipliner yaklaşım*, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, 17-22.
- Han L, Liang X H, Chen L X, Bao S M and Yan Z Q** (2013) SIRT1 is highly expressed in brain metastasis tissues of non-small cell lung cancer (NSCLC) and in positive regulation of NSCLC cell migration. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.*, 6(11): 2357-2365.
- Harting K and Knoll B** (2010) SIRT2-mediated protein deacetylation: An emerging key regulator in brain physiology and pathology. *Eur. J. Cell Biol.*, 89(2-3), 262-269.
- Heltweg B, Gathbonton T, Schuler A D, Posakony J, Li H, Goehle S, Kollipara R, Depinho R A, Gu Y, Simon J A and Bedalov A** (2006) Antitumor activity of a small-molecule inhibitor of human silent information regulator 2 enzymes. *Cancer Res.*, 66: 4368–4377.
- Hiratsuka M, Inoue T, Toda T, Kimura N, Shirayoshi Y, Kamitani H, Watanabe T, Ohama E, Tahimic CG, Kurimasa A and Oshimura M** (2003) Proteomics-based identification of differentially expressed genes in human gliomas: down-regulation of SIRT2 gene. *Biochem. Biophys. Res. Commun*, 309: 558–566.
- Hirsch F R, Varella-Garcia M, Franklin W A, Veve R, Chen L, Helfrich B, Zeng C, Baron A and Bunn P A Jr** (2002) Evaluation of HER-2/neu gene amplification and protein expression in nonsmall cell lung carcinomas. *Br. J. Cancer.*, 86: 1449-1456.
- Hoffmann G, Breitenbücher F, Schuler M and Ehrenhofer-Murray A E** (2014) A novel sirtuin 2 (SIRT2) inhibitor with p53-dependent pro-apoptotic activity in non-small cell lung cancer. *J Biol Chem*, 289(8): 5208-5216.
- Hou H, Chen W, Zhao L, Zuo Q, Zhang G, Zhang X, Wang H, Gong H, Li X, Wang M, Wang Y and Li X** (2012) Cortactin is associated with tumour progression and poor prognosis in prostate cancer and SIRT2 other than HADC6 may work as facilitator in situ. *J. Clin. Pathol.*, 65(12): 1088–1096.

## KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Huffman D M, Grizzle W E, Bamman M M, Kim J S, Eltoum I A, Elgavish A and Nagy T R** (2007) SIRT1 is significantly elevated in mouse and human prostate cancer. *Cancer Res.*, 67(14): 6612-6618.
- Inoue T, Hiratsuka M, Osaki M and Oshimura M** (2007) The molecular biology of mammalian SIRT proteins: SIRT2 in cell cycle regulation. *Cell Cycle*, 6: 1011–1018.
- İtil O** (2000) Akciğer kanserlerinin epidemiyolojisi ve etyolojisi. In: Haydaroğlu A (Ed.) *Akciğer kanserleri: Tanı ve tedavi*. İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi, 2000: 15-34.
- Jang K Y, Hwang S H, Kwon K S, Kim K R, Choi H N, Lee N R, Kwak J Y, Park B H, Park H S, Chung M J, Kang M J, Lee D G, Kim H S, Shim H and Moon W S** (2008) SIRT1 expression is associated with poor prognosis of diffuse large B-cell lymphoma. *Am. J. Surg. Pathol.*, 32(10): 1523–1531.
- Janssen-heijnen M L G and Coebergh J W W** (2003) The changing epidemiology of lung cancer in Europe. *Lung Cancer*, 41: 245-258.
- Jemal A, Vineis P, Bray F, Torre L and Forman D (Ed.)** (2014) Risk Faktörleri, *Kanser Atlası*. Polatel S. (Çeviri Ed.), İkinci Baskıdan Çeviri, ISBN-10: 1-60443-228-4, ISBN-13: 978-1-60443-228-2, Türk Kanser Araştırma ve Savaş Kurumu Derneği, Türkiye, 136: 16-33.
- Jeong J, Juhn K, Lee H, Kim S H, Min B H, Lee K M, Cho M H, Park G H and Lee K H** (2007) SIRT1 promotes DNA repair activity and deacetylation of Ku70. *Exp. Mol. Med.*, 39: 8–13.
- Jiang W, Wang S, Xiao M, Lin Y, Zhou L, Lei Q, Xiong Y, Guan K L and Zhao S** (2011) Acetylation regulates gluconeogenesis by promoting PEPCK1 degradation via recruiting the UBR5 ubiquitin ligase. *Mol. Cell*, 43(1): 33-44.
- Jing E, Gesta S and Kahn C R** (2007) SIRT2 regulates adipocyte differentiation through FoxO1 acetylation/deacetylation. *Cell Metab.*, 6(2): 105-114.
- Jing H, Hui J and Hening L** (2014) Sirtuin inhibitors as anticancer agents. *Future Med. Chem.*, 6(8): 945–966.
- Jung W, Hong K D, Jung W Y, Lee E, Shin B K, Kim H K, Kim A and Kim B H** (2013) SIRT1 expression is associated with good prognosis in colorectal cancer. *Korean J. Pathol.*, 47(4): 332–339.
- Kaufman E L, Jacobson J S, Hershman D L, Desai M and Neugut A I** (2008) Effect of breast cancer radiotherapy and cigarette smoking on risk of second primary lung cancer. *J. Clin. Oncol.*, 26(3):392-8.
- Kersting M, Friedl C, Kraus A, Behn M, Pankow W and Schuermann M** (2000) Differential frequencies of p16 (INK4a) promoter hypermethylation, p53 mutation, and K-ras mutation in exfoliative material mark the development of lung cancer in symptomatic chronic smokers. *J. Clin. Oncol.*, 18(18):3221-3229.

## KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Kim D W, Ahn M J, Shi Y, De Pas T M, Yang P C and Riely G J** (2012) Results of a global phase II study with crizotinib in advanced ALK-positive non-small cell lung cancer (NSCLC). *J. Clin. Oncol.*, 30: 7533.
- Kim H S, Vassilopoulos A, Wang R H, Lahusen T, Xiao Z, Xu X, Li C, Veenstra T D, Li B, Yu H, Ji J, Wang X W, Park S H, Cha Y I, Gius D and Deng C X** (2011) SIRT2 maintains genome integrity and suppresses tumorigenesis through regulating APC/C activity. *Cancer Cell*, 20(4): 487–499.
- Kim J R, Moon Y J, Kwon K S, Bae J S, Wagle S, Yu T K, Kim K M, Park H S, Lee J H, Moon W S, Lee H, Chung M J and Jang K Y** (2013) Expression of SIRT1 and DBC1 is associated with poor prognosis of soft tissue sarcomas. *PLoS One*, 8(9): e74738.
- Kohno T, Nakaoku T, Tsuta K, Tsuchihara K, Matsumoto S, Yoh K and Goto K** (2015) Beyond ALK-RET, ROS1 and other oncogene fusions in lung cancer. *Transl Lung Cancer Res.*, 4(2):156-64.
- Kozako T, Aikawa A, Shoji T, Fujimoto T, Yoshimitsu M, Shirasawa S, Tanaka H, Honda S, Shimeno H, Arima N and Soeda S** (2012) High expression of the longevity gene product SIRT1 and apoptosis induction by sirtinol in adult T-cell leukemia cells. *Int. J. Cancer*, 131(9): 2044-2055.
- Landi M T, Chatterjee N, Yu K, Goldin L R, Goldstein A M, Rotunno M, et al.** (2011) A genome-wide association study of lung cancer identifies a region of chromosome 5p15 associated with risk for adenocarcinoma. *Am. J. Hum. Genet.*, 88(6): 861.
- Larsen J E and Minna J D** (2011) Molecular biology of lung cancer: clinical implications. *Clin. Chest. Med.*, 32(4):703-740.
- Lee B B, Kim Y, Kim D, Cho E Y, Han J, Kim H K, Shim Y M and Kim D H** (2019) Metformin and tenovin-6 synergistically induces apoptosis through LKB1-independent SIRT1 down-regulation in non-small cell lung cancer cells. *J. Cell Mol. Med.*, 23(4): 2872-2889.
- Lee H, Kim K R, Noh S J, Park H S, Kwon K S, Park B H, Jung S H, Youn H J, Lee B K, Chung M J, Koh D H, Moon W S and Jang K Y** (2011) Expression of DBC1 and SIRT1 is associated with poor prognosis for breast carcinoma. *Hum. Pathol.*, 42(2): 204-213.
- Leng S, Picchi M A, Liu Y, Thomas C L, Willis D G, Bernauer A M, Carr T G, Mabel P T, Han Y, Amos C I, Lin Y, Stidley C A, Gilliland F D, Jacobson M R and Belinsky S A** (2013) Genetic variation in SIRT1 affects susceptibility of lung squamous cell carcinomas in former uranium miners from the Colorado plateau. *Carcinogenesis*, 34(5): 1044-1050.
- Li C, Wang L, Zheng L, Zhan 3, Xu B, Jiang J and Wu C** (2015) SIRT1 expression is associated with poor prognosis of lung adenocarcinoma. *Oncotargets and Therapy*, 8: 977–984.

## KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Li Y, Matsumori H, Nakayama Y, Osaki M, Kojima H, Kurimasa A, Ito H, Mori S, Katoh M, Oshimura M and Inoue T** (2011) SIRT2 down-regulation in HeLa can induce p53 accumulation via p38 MAPK activation-dependent p300 decrease, eventually leading to apoptosis. *Genes Cells*, 16(1): 34–45.
- Li Z, Huang J, Yuan H, Chen Z, Luo Q and Lu S** (2016) SIRT2 inhibits non-small cell lung cancer cell growth through impairing Skp2-mediated p27 degradation. *Oncotarget*, 7(14): 18927-18939.
- Li Z, Xie Q R, Chen Z, Lu S and Xia W** (2013) Regulation of SIRT2 levels for human non-small cell lung cancer therapy. *Lung Cancer*, 82(1): 9-15.
- Lin R, Tao R, Gao X, Li T, Zhou X, Guan K L, Xiong Y and Lei Q Y** (2013) Acetylation Stabilizes ATP-Citrate Lyase to Promote Lipid Biosynthesis and Tumor Growth. *Mol. Cell*, 51(4): 506–518.
- Liu T, Liu P Y and Marshall G M** (2009) The critical role of the class III histone deacetylase SIRT1 in cancer. *Cancer Res.*, 69(5): 1702-1705.
- Liu P Y, Xu N, Malyukova A, Scarlett C J, Sun Y T, Zhang X D, Ling D, Su S P, Nelson C Chang D K, Koach J, Tee A E, Haber M, Norris M D, Toon C, Rooman I, Xue C, Cheung B B, Kumar S, Marshall G M, Biankin A V and Liu T** (2013) The histone deacetylase SIRT2 stabilizes Myc oncoproteins. *Cell Death and Differentiation*, 20: 503–514.
- Lodish H, Berk A, Kaiser C A, Krieger M, Scott M P, Bretscher A, Ploegh H and Matsudaira P** (2011) Cancer. *Moleküler Hücre Biyolojisi*, Geçgil H, Özmen M ve Yeşilada Ö (Ed.), 6. Baskıdan Çeviri, ISBN: 978-605-4414-94-9, Palme Yayınevi, Ankara, 1107-1148.
- Lohinai Z, Klikovits T, Moldvay J, Ostoros G, Raso E, Timar J3, Fabian K, Kovalszky I, Kenessey I, Aigner C, Renyi-Vamos F, Klepetko W, Dome B and Hegedus B** (2017) KRAS-mutation incidence and prognostic value are metastatic site-specific in lung adenocarcinoma: poor prognosis in patients with KRAS mutation and bone metastasis. *Sci. Rep.*, 7: 39721.
- Lombard D B and Zwaans B M M** (2014) SIRT3: as simple as it seems. *Gerontology*, 60: 56–64.
- Lv Y, Lin S and Peng F** (2017) SIRT1 gene polymorphisms and risk of lung cancer. *Cancer Manag Res.*, 9: 381-386.
- Lynch T J, Bell D W, Sordella R, Gurubhagavatula S, Okimoto R A, Brannigan B W, Harris P L, Haserlat S M, Supko J G, Haluska F G, Louis D N, Christiani D C, Settleman J and Haber D A** (2004) Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N. Engl. J. Med.*, 350(21): 2129-2139.

## KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Marshall G M, Liu P Y, Gherardi S, Scarlett C J, Bedalov A, Xu N, Iraci N, Valli E, Ling D, Thomas W, van Bekkum M, Sekyere E, Jankowski K, Trahair T, Mackenzie K L, Haber M, Norris M D, Biankin A V, Perini G and Liu T** (2011) SIRT1 promotes N-Myc oncogenesis through a positive feedback loop involving the effects of MKP3 and ERK on N-Myc protein stability. *PLoS Genet.*, 7(6): e1002135.
- Maxwell M M, Tomkinson E M, Nobles J, Wizeman J W, Amore A M, Quinti L, Chopra V, Hersch S M and Kazansev A G** (2011) The Sirtuin 2 microtubule deacetylase is an abundant neuronal protein that accumulates in the aging CNS. *Human Molecular Genetics*, 20(20): 3986-3996.
- Menssen A, Hydbring P, Kapelle K, Vervoorts J, Diebold J, Lüscher B, Larsson LG and Hermeking H** (2012) The c-MYC oncoprotein, the NAMPT enzyme, the SIRT1-inhibitor DBC1, and the SIRT1 deacetylase form a positive feedback loop. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 109(4): E187-196.
- McGlynn L M, Zino S, MacDonald A I, Curle J, Reilly J E, Mohammed Z M, McMillan D C, Mallon E, Payne A P, Edwards J and Shiels P G** (2014) SIRT2: tumour suppressor or tumour promoter in operable breast cancer? *Eur. J. Cancer*, 50: 290–301.
- Michan S and Sinclair D** (2007) Sirtuin in mammals: insights into their biological function. *Biochem. J.*, 404(1): 1-13.
- Muir C S and Nectoux J** (1996) *Cancer Epidemiology and Prevention*, In: Schottenfeld D and Fraumeni J F (Ed.) 2nd ed. New York: Oxford University Press, 141-167.
- Müsellim B.** (2007) Türkiye'de sık karşılaşılan hastalıklar 2, *Akciğer Kanserli Güncel Yaklaşım Sempozyum Dizisi No: 58*, 2007, İstanbul, 113-118.
- Nemoto S, Fergusson M M and Finkel T** (2005) SIRT1 functionally interacts with the metabolic regulator and transcriptional coactivator PGC-1{alpha}. *The Journal of biological chemistry*, 280: 16456–16460.
- Nevins J R** (2001) The Rb/E2F pathway and cancer. *Human molecular genetics*, 10(7): 699-703.
- Noguchi A, Li X, Kubota A, Kikuchi K, Kameda Y, Zheng H, Miyagi Y, Aoki I and Takano Y** (2013) SIRT1 expression is associated with good prognosis for head and neck squamous cell carcinoma patients. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol.*, 115(3): 385–392.
- North B J, Marshall B L, Borra M T, Denu J M and Verdin E** (2003) The human Sir2 ortholog, SIRT2, is an NAD<sup>+</sup>-dependent tubulin deacetylase. *Mol. Cell*, 11(2): 437-444.
- Olmos Y, Brosens J J and Lam E W** (2011) Interplay between SIRT proteins and tumour suppressor transcription factors in chemotherapeutic resistance of cancer. *Drug Resistance Updates*, 14(1): 35–44.

## KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Ost D E, Yeung S-C J, Tanoue L T and Gould M K** (2013) Clinical and organizational factors in the initial evaluation of patients with lung cancer: diagnosis and management of lung cancer: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines. *Chest. Journal*, 143(5\_suppl): e121S-e141S.
- Palmirotta F, Cives M, Della-Morte D, Capuani B, Lauro D, Guadagni F and Silvestris F** (2016) Sirtuins and Cancer: Role in the Epithelial-Mesenchymal Transition. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1-9.
- Pandithage R, Lilischkis R, Harting K, Wolf A, Jedamzik B, Lüscher-Firzlaff J, Vervoorts J, Lasonder E, Kremmer E, Knöll B and Lüscher B** (2008) The regulation of SIRT2 function by cyclin-dependent kinases affects cell motility. *J. Cell Biol.*, 180(5): 915-929.
- Parsons A, Daley A, Begh R and Aveyard P** (2010) Influence of smoking cessation after diagnosis of early stage lung cancer on prognosis: systematic review of observational studies with meta-analysis. *B.M.J.*, 340: b5569.
- Peck B, Chen C Y, Ho K K, Di Fruscia P, Myatt S S, Coombes R C, Fuchter M J, Hsiao C D and Lam E W** (2010) SIRT inhibitors induce cell death and p53 acetylation through targeting both SIRT1 and SIRT2. *Mol. Cancer Ther.*, 9(4): 844-55.
- Peters C J, Rees J R, Hardwick R H, Hardwick J S, Vowler S L, Ong C A, Zhang C, Save V, O'Donovan M, Rassl D, Alderson D, Caldas C and Fitzgerald R C** (2010) A 4-gene signature predicts survival of patients with resected adenocarcinoma of the esophagus, junction, and gastric cardia. *Gastroenterology*, 139(6): 1995-2004.
- Picard F, Kurtev M, Chung N, Topark-Ngarm A, Senawong T, Machado De Oliveira R, Leid M, McBurney M W and Guarente L** (2004) Sirt1 promotes fat mobilization in white adipocytes by repressing PPAR-gamma. *Nature*, 429: 771-776.
- Poulose N and Raju R** (2015) Sirtuin regulation in aging and injury. *Biochim. Biophys. Acta*, 1852(11): 2442-2455.
- Purushotham A, Schug T T, Xu Q, Surapureddi S, Guo X and Li X** (2009) Hepatocyte-specific deletion of SIRT1 alters fatty acid metabolism and results in hepatic steatosis and inflammation. *Cell metabolism*, 9: 327-338.
- Rack J G, VanLinden M R, Lutter T, Aasland R and Ziegler M** (2014) Constitutive nuclear localization of an alternatively spliced sirtuin-2 isoform. *J. Mol. Biol.*, 426(8): 1677-1691.
- Radzikowska, E, Roszkowski K and Glaz P** (2001) Lung cancer in patients under 50 years old. *Lung Cancer*, 33: 203-211.
- Rahman S and Islam R** (2011) Mammalian Sirt1: insights on its biological functions *Cell Commun Signal*, 9: 11.

## KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Rizk S M, Shahin N N and Shaker O G** (2016) Association between SIRT1 Gene Polymorphisms and Breast Cancer in Egyptians *PLoS One*, 11(3): e0151901.
- Roh M S** (2014) Molecular Pathology of Lung Cancer: Current Status and Future Directions. *Tuberc. Respir. Dis. (Seoul)*, 77(2): 49-54.
- Rosell R, Carcereny E, Gervais R, Vergnenegre A, Massuti B et al.** (2012) Erlotinib versus standard chemotherapy as first-line treatment for European patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (EURTAC): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol.*, 13(3): 239-246.
- Roth M and Chen W Y** (2014) Sorting out functions of sirtuins in cancer *Oncogene*, 33(13): 1609–1620.
- Rothgiesser K M, Erener S, Waibel S, Lüscher B and Hottiger M O** (2010) SIRT2 regulates NF- $\kappa$ B dependent gene expression through deacetylation of p65 Lys310. *J Cell Sci.*, 123(Pt 24): 4251-4258.
- Ruano-Ravina A, Figueiras A and Barros-Dios J M** (2003) Lung cancer and related risk factors: an update of the literature. *Public Health*, 117: 149–156.
- Sauve A A** (2010) Sirtuin chemical mechanisms. *Biochim. Biophys. Acta*, 1804(8): 1591-1603.
- Sato M, Shames D S, Gazdar A F and Minna J D A** (2007) A translational view of the molecular pathogenesis of lung cancer. *J. Thorac. Oncol.*, 2(4): 327-43.
- Shigematsu H and Gazdar A F** (2006) Somatic mutations of epidermal growth factor receptor signaling pathway in lung cancers. *Int. J. Cancer*, 118: 257-262.
- Shigematsu H, Lin L, Takahashi T, Nomura M, Suzuki M, Wistuba I I, Fong K M, Lee H, Toyooka S, Shimizu N, Fujisawa T, Feng Z, Roth J A, Herz J, Minna J D and Gazdar A F** (2005) Clinical and biological features associated with epidermal growth factor receptor gene mutations in lung cancers. *J. Natl. Cancer Inst.*, 97(5); 339-346.
- Siegfried J M** (1998) Biology and chemoprevention of lung cancer. *Chest.*, 113(1 Suppl): 40S-45S.
- Smith J S, Brachmann C B, Celic I, Kenna M A, Muhammad S, Starai V J, Avalos J L, Escalante-Semerena J C, Grubmeyer C, Wolberger C and Boeke J D** (2000) A phylogenetically conserved NAD-dependent protein deacetylase activity in the Sir2 protein family. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 97: 6658–6663.
- Smith T J, Yang G, Seril D N, Liao J and Kim S** (1998) Inhibition of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridil)-1-butanone-induced lung tumorigenesis by dietary olive oil and squalene. *Carcinogenesis*, 19: 703-706.



## KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Song H Y, Biancucci M, Kang H J, O'Callaghan C, Park S H, Principe D R, Jiang H, Yan Y, Satchell K F, Raparia K, Gius D and Vassilopoulos A** (2016) SIRT2 deletion enhances KRAS-induced tumorigenesis in vivo by regulating K147 acetylationstatus. *Oncotarget*, 7(49): 80336-80349.
- Spiro S G and Porter J C** (2002) Lung Cancer-Where Are We Today? Current Advances in Staging and Nonsurgical Treatment. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 166: 1166–1196.
- Spitz M R, Hong W K, Amos C I, Wu X, Schabath M B, Dong Q, Shete S and Etzel C J.** (2007) A risk model for prediction of lung cancer. *J. Natl. Cancer Ins.*, 99: 715-726.
- Straif K, Cohen A and Samet J (Ed.)** (2013) *Air pollution and cancer*, IARC Scientific Publications; 161
- Taddei A, Roche D, Bickmore WA and Almozni G** (2005) The effects of histone deacetylase inhibitors on heterochromatin: implications for anti-cancer therapy? *EMBO Reports*, 6: 520-524.
- Takahashi T, Nau M M, Chiba I, Birrer M J, Rosenberg R K, Vinocour M, Levitt M, Pass H, Gazdar A F and Minna J D** (1989) p53: a frequent target for genetic abnormalities in lung cancer. *Science*, 246(4929): 491-494.
- Tanvetyanon T and Bepler G** (2008) Beta-carotene in multivitamins and the possible risk of lung cancer among smokers versus former smokers: a meta-analysis and evaluation of national brands. *Cancer*, 113(1):150-157.
- Tatar D, Kılınc O, Yorgancıoğlu A, Aksel N, Halilçolar H ve Özacar R** (2000) Akciğer tümörü ve akciğer tüberkülozu birlikteliği. *Solunum*, 2: 56-60.
- Toraks Derneği Akciğer Maligniteleri Çalışma Grubu** (2006) *Akciğer kanseri tanı ve tedavi rehberi*. Ağustos Cilt7, Ek 2, 1-35.
- Travis W D, Brambilla E, Nicholson A G, Yatabe Y, Austin J H M, Beasley M B, Chirieac L R, Dacic S, Duhig E, Flieder D B, Geisinger K, Hirsch F R, Ishikawa Y, Kerr K M, Noguchi M, Pelosi G, Powell C A, Tsao M S and Wistuba I** (2015) The 2015 World Health Organization classification of lung tumors: impact of genetic, clinical and radiologic advances since the 2004 classification. *J. Thorac. Oncol.*, 10: 1243-1260.
- Tseng R C, Lee C C, Hsu H S, Tzao C and Wang Y C** (2009) Distinct HIC1-SIRT1-p53 loop deregulation in lung squamous carcinoma and adenocarcinoma patients. *Neoplasia*, 11(8): 763-770.
- (URL-1)** < <https://www.seer.cancer.gov/> > Ziyaret tarihi: 21.10.2018
- (URL-2)** < <https://www.toraks.org.tr/> >, Ziyaret tarihi: 12.04.2018
- (URL-3)** < <https://gco.iarc.fr/> > Ziyaret tarihi: 15.09.2018

## KAYNAKLAR (devam ediyor)

(URL-4) < <https://www.genecards.org> > Ziyaret tarihi: 15.04.2019

(URL-5) < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> > , Ziyaret tarihi: 20.03.2017

(URL-6) < <https://nc2.neb.com/NEBcutter2/> > , Ziyaret tarihi: 20.03.2017.

**Vähäkangas K H, Samet J M, Metcalf R A, Welsh J A, Bennett W P, Lane D P and Harris C C** (1992) Mutations of p53 and ras genes in radon-associated lung cancer from uranium miners. *Lancet*, 339:576-580.

**Vaquero A, Scher M, Lee D, Erdjument-Bromage H, Tempst P and Reinberg D** (2004) Human SirT1 interacts with histone H1 and promotes formation of facultative heterochromatin. *Mol. Cell*, 16(1): 93-105.

**Vaquero A, Scher M B, Lee D H, Sutton A, Cheng H L, Alt F W, Serrano L, Sternglanz R and Reinberg D** (2006) SirT2 is a histone deacetylase with preference for histone H4 Lys 16 during mitosis. *Genes Dev.*, 20(10): 1256-1261.

**Voelter-Mahlknecht S, Ho A D and Mahlknecht U** (2005) FISH-mapping and genomic organization of the NAD-dependent histone deacetylase gene, Sirtuin 2 (Sirt2). *Int. J. Oncol.*, 27(5): 1187-1196.

**Vogelstein B and Kinzler K W** (2004) Cancer genes and the pathways they control. *Nat. Med.*, 10(8): 789-799.

**Wang C, Yang W, Dong F, Guo Y, Tan J, Ruan S and Huang T** (2017) The prognostic role of Sirt1 expression in solid malignancies: a meta-analysis. *Oncotarget*, 8(39): 66343-66351.

**Wang F, Nguyen M, Qin F X and Tong Q** (2007) SIRT2 deacetylates FOXO3a in response to oxidative stress and caloric restriction. *Aging cell*, 6: 505–514.

**Wang F and Tong Q** (2009) SIRT2 suppresses adipocyte differentiation by deacetylating FOXO1 and enhancing FOXO1's repressive interaction with PPARgamma. *Molecular biology of the cell*, 20: 801–808.

**Wang Y P, Zhou L S, Zhao Y Z, Wang S W, Chen L L, Liu L X, Ling Z Q, Hu F J, Sun Y P, Zhang J Y, Yang C, Yang Y, Xiong Y, Guan K L and Ye D** (2014) Regulation of G6PD acetylation by SIRT2 and KAT9 modulates NADPH homeostasis and cell survival during oxidative stress. *The EMBO journal*, 33: 1304-1320.

**Wang R H, Zheng Y, Kim H S, Xu X, Cao L, Luhasen T, Lee M H, Xiao C, Vassilopoulos A, Chen W, Gardner K, Man Y G, Hung M C, Finkel T and Deng C X** (2008a) Interplay among BRCA1, SIRT1, and Survivin during BRCA1-associated tumorigenesis. *Mol. Cell*, 32: 11-20.

## KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Wang R H, Sengupta K, Li C, Kim H S, Cao L, Xiao C, Kim S, Xu X, Zheng Y, Chilton B, Jia R, Zheng Z M, Appella E, Wang X W, Ried T and Deng C X (2008b)** Impaired DNA damage response genome instability and tumorigenesis in sirt1 mutant mice. *Cancer Cell*, 14(4): 312-323.
- Wang Y, Broderick P, Webb E, Wu X, Vijayakrishnan J, Matakidou A, et al. (2008c)** Common 5p15.33 and 6p21.33 variants influence lung cancer risk. *Nat. Genet.*, 40(12): 1407-1409.
- Wilson J M, Le V Q, Zimmerman C, Marmorstein R and Pillus L (2006)** Nuclear export modulates the cytoplasmic Sir2 homologue Hst2. *EMBO Rep.*, 7(12): 1247-1251.
- Wong S and Weber J D (2007)** Deacetylation of the retinoblastoma tumour suppressor protein by SIRT1. *Biochem J.*, 407:451-460.
- World Health Organization (2018a)** Press Release, Latest global cancer data: Cancer burden rises to 18.1 million new cases and 9.6 million cancer deaths in 2018, Geneva, Switzerland.
- World Health Organization (2018b)** World health statistics 2018: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals. ISBN: 978-92-4-156558-5, Geneva.
- Wu M, Wei W, Xiao X, Guo J, Xie X, Li L, Kong Y, Lv N, Jia W, Zhang Y and Xie X (2012)** Expression of SIRT1 is associated with lymph node metastasis and poor prognosis in both operable triple-negative and non-triple-negative breast cancer. *Med. Oncol*, 29(5): 3240-3249.
- Wynder E L and Muscat J E (1995)** The changing epidemiology of smoking and lung cancer histology. *Environ Health Perspect* 103(Suppl. 8): 143-148.
- Xu W, Jiang K, Shen M, Qian Y and Peng Y (2015)** SIRT2 suppresses non-small cell lung cancer growth by targeting JMJD2A. *Biol. Chem.*, 396: 929–936.
- Yang M H, Laurent G, Bause A S, Spang R, German N, Haigis M C and Haigis K M (2013)** HDAC6 and SIRT2 regulate the acetylation state and oncogenic activity of mutant K-RAS. *Mol. Cancer Res.*, 11(9): 1072-1077.
- Yang Y, Ding J, Gao Z G and Wang Z J (2017)** A variant in SIRT2 gene 3'-UTR is associated with susceptibility to colorectal cancer. *Oncotarget*, 8(25): 41021-41025.
- Yeung F, Hoberg J E, Ramsey C S, Keller M D, Jones D R, Frye R A and Mayo M W (2004)** Modulation of NF- $\kappa$ B-dependent transcription and cell survival by the SIRT1 deacetylase. *EMBO J.*, 23: 2369–2380.
- Yıldız K (2017)** Akciğer kanserinin sınıflamasında patolojide yenilikler. *Toraks Cerrahisi Bülteni*, 10: 31-39.

## KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Zang E A and Wynder E L** (1996) Differences in lung cancer risk between men and women: examination of the evidence. *J. Natl. Can. Inst.*, 88: 183-192.
- Zhang T, Rong N, Chen J, Zou C, Jing H, Zhu X and Zhang W** (2013) SIRT1 expression is associated with the chemotherapy response and prognosis of patients with advanced NSCLC. *PLoS One*, 5: 8(11).
- Zhao Y, Yang J, Liao W, Liu X, Zhang H, Wang S, Wang D, Feng J, Yu L and Zhu W G** (2010) Cytosolic FoxO1 is essential for the induction of autophagy and tumour suppressor activity. *Nat. Cell Biol.*, 12: 665–675.
- Zhao D, Zou S W, Liu Y, Zhou X, Mo Y, Wang P, Xu Y H, Dong B, Xiong Y, Lei Q Y and Guan K L** (2013) Lysine-5 acetylation negatively regulates lactate dehydrogenase A and is decreased in pancreatic cancer. *Cancer Cell*, 23(4): 464–476.

## EK AÇIKLAMALAR

### Ek-A: Etik Kurul Karar Formu

#### B.E.Ü. KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Akciğer Kanseri Patogenezinde Sirtuinin Rolü
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	2017-40-22/03

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Bülent Ecevit Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	B.E.Ü Tıp Fakültesi Dekanlığı, 67600 Kozlu-ZONGULDAK
	TELEFON	0 372 26132 60
	FAKS	0 372 261 02 65
	E-POSTA	etiksekretery@gmail.com

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç. Dr. Sevim KARAKAŞ ÇELİK			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Moleküler Biyoloji ve Genetik			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	B.E.Ü. Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Anabilim Dalı			
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI				
	DESTEKLEYİCİ	Üniversite			
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
FAZ 4		<input type="checkbox"/>			
Gözlemsel ilaç çalışması		<input type="checkbox"/>			
Tıbbi cihaz klinik araştırması		<input type="checkbox"/>			
İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		<input type="checkbox"/>			
İlaç dışı klinik araştırma		<input checked="" type="checkbox"/>			
Diğer ise belirtiniz : Yüksek Lisans Tezi					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	10/04/2017		Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>

Prof. Dr. Ali Uğur EMRE  
B.E.Ü. Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanı V.  
İmza:

## Ek-A (devam ediyor)

### B.E.Ü. KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Akciğer Kanseri Patogenezinde Sirtuinin Rolü
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	2017-40-22/03

DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı		Açıklama
		SIGORTA	<input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input checked="" type="checkbox"/>	Bilimsel Araştırma Projesi (BAP)-10000 TL
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>	
	İLAN	<input type="checkbox"/>	
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>	
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>	
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>	
	DİĞER:	<input type="checkbox"/>	
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 19/04/2017	Tarih: 2017/08	
	B.E.Ü. Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Sevim KARAKAŞ ÇELİK'in sorumluluğunda yürütülecek olan ve yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.		

B.E.Ü. KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Doç. Dr. Günnur ÖZBAKIŞ DENGİZ

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
			E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Günnur ÖZBAKIŞ DENGİZ (Başkan)	Tıbbi Farmakoloji	B.E.Ü. Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	Görevli
Prof. Dr. Ali Uğur EMRE (Başkan Yrd.)	Genel Cerrahi	B.E.Ü. Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Ayşe Semra DEMİR AKCA (Bildirimlerden sorumlu üye)	Aile Hekimliği	B.E.Ü. Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Hilal AYOĞLU	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	B.E.Ü. Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Mehmet ARASLI	İmmünoloji	B.E.Ü. Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. İbrahim Emem PİŞKİN	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	B.E.Ü. Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Kıvanç ERGEN	Biyofizik	B.E.Ü. Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	Görevli
Doç. Dr. Sibel KOÇAK	Endodonti	B.E.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Meltem KÜRTÜNCÜ	Çocuk Sağlığı ve Hemşireliği	B.E.Ü. Sağlık Yüksekokulu	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Bilgehan AÇIKGÖZ	Halk Sağlığı	B.E.Ü. Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Serpil YAZGAN	Göz Hastalıkları	B.E.Ü. Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Yasin ÖZTÜRK	İç Hastalıkları	B.E.Ü. Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Av. İbrahim Kerem ERTEM	Hukuk	Serbest	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Ecz. Mehmet Kıvanç ERDEM	Eczacı	Serbest	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Zöhre BORAZAN	Ev Hanımı	Serbest	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

Prof. Dr. Ali Uğur EMRE  
B.E.Ü. Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanı V.  
İmza:

## ÖZGEÇMİŞ

İlke ULU 23.11.1983 tarihinde İstanbul'un Zeytinburnu ilçesinde dünyaya geldi. İlk ve orta öğrenimini Fatma Süslügil İlkokulu ve Kemal Hasoğlu İlköğretim Okulu'nda, lise öğrenimini ise Kemal Hasoğlu Lisesi'nde başarıyla tamamladı. Lisans eğitimini 1999-2003 yılları arasında Trakya Üniversitesi Biyoloji Bölümünde tamamladı. 2007 yılında Uludağ Üniversitesi Eğitim Fakültesinde tezsiz yüksek lisans eğitimini tamamlayarak 2013 yılında Milli Eğitim Bakanlığı'nda Biyoloji Öğretmenliği görevine atandı. Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji Anabilim Dalında yüksek lisansına devam etmektedir.

### **ADRES BİLGİLERİ:**

**Adres:** Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi (Yeni Eğitim Bloğu), Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Araştırma Laboratuvarı, İncivez/ ZONGULDAK

**Tel:** (+90) 372 291 11 00

**E-posta:** ilkeulu8@gmail.com