

**TRAKYA ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**BİYOFİZİK ANABİLİM DALI**  
**YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

Tez Yöneticisi  
Yrd. Doç. Dr. Tammam Sipahi

**AKCİĞER KANSERLİ HASTALARDA NQO1 GEN**  
**POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI**

(Yüksek Lisans Tezi)

**KAMİLE ÖZKAN**

**EDİRNE-2008**

**TRAKYA ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**BİYOFİZİK ANBİLİM DALI**  
**BİYOFİZİK YÜKSEK LİSANSI**

Tez Yöneticisi  
Yrd. Doç. Dr. Tammam Sipahi

**AKCİĞER KANSERLİ HASTALARDA NQO1 GEN**  
**POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI**

(Yüksek Lisans Tezi)

**KAMİLE ÖZKAN**

Destekleyen Kurum: Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi  
TÜBAP-2008-32

Tez no:

**EDİRNE-2008**

T.C.  
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ  
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğü

ONAY

Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Anabilim Dalı yüksek lisans programı çerçevesinde ve Yrd. Doç. Dr. Tammam Sipahi danışmanlığında yüksek lisans öğrencisi Kamile Özkan tarafından tez başlığı “Akciğer Kanseri Hastalarda NQO1 Gen Polimorfizminin Araştırılması” olarak teslim edilen bu tezin tez savunma sınavı 06/08/2008 tarihinde yapılarak aşağıdaki jüri üyeleri tarafından “Yüksek Lisans Tezi” olarak kabul edilmiştir.

Yrd. Doç. Dr. Tammam SİPAHİ  
Biyofizik A.D.  
JÜRİ BAŞKANI

Yrd. Doç. Dr. Tefvik GÜLYAŞAR  
Biyofizik A.D.  
ÜYE

Yrd. Doç. Dr. Gülnur KIZILAY  
Histoloji A.D.  
ÜYE

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. İsmet DÖKMECİ  
Enstitü Müdürü

## **TEŐEKKÜR**

Çalıőmamda, bilgi ve deneyimleriyle bana yön veren, desteğini ve yardımını esirgemeyen tez danıőmanım değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Tammam Sipahi'ye, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım değerli hocam Biyofizik A.D. başkanı Prof. Dr. Seralp Őener'e, sayın hocam Yrd. Doç. Dr. Tefvik Gülyaşar'a, hasta materyalini sağlamamda yardımcı olan sayın hocam Doç. Dr. Zafer Koçak'a ve Araő. Gör. Dr. Alaattin Özen'e, yüksek lisans eğitimim süresince emeği geçen hocalarım Prof. Dr. Kadir Kaymak'a, Yrd. Doç. Dr. Arzu Vardar'a, Doç. Dr. Mevlüt Türe'ye, Uzm. Dr. Perihan Özkan Gümüőkaya'ya, tezimin istatistik çalıőmasındaki yardımlarından dolayı Araő. Gör. Dr. İmran Kurt'a ve her zaman yanımda olan arkadaőım Araő. Gör. Arzu Ay Baőak'a teőekkürü bir borç bilirim.

## SİMGE VE KISALTMALAR

bç	baz çifti
DNA	Deoksiribonükleik Asit
dNTP	Deoksinüleotittrifosfat
EDTA	Etanol Diamin Tetra Asetik Asit
GRP	Gastrin Releasing Peptide
HGF	Hepatocyte Growth Factor
KHAK	Küçük Hücreli Akciğer Kanseri
KHDAK	Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri
MET	Metastasis Onkogene
ml	mililitre
mM	milimolar
NAD(P)H	Kinon oksidoredüktaz
NDF	New Differentiation Factor
OD	Optik Dansite
PAH	Polinükleer Aromatik Hidrokarbonlar
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
SCF	Stem Cell Factor
TAPMG	Toraks Derneği Akciğer ve Plevra Maligniteleri Grubu
UV	Ultraviyole
µl	mikrolitre

<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>sayfa</b>
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
AKCİĞER KANSERİ	3
Akciğer Kanseri Etiyolojisindeki Risk Faktörleri	6
AKCİĞER KANSERİ TÜRLERİ	11
EVRELEME VE TEDAVİ	12
AKCİĞER KANSERİNİN MOLEKÜLER BİYOLOJİSİ	12
NAD(P)H:KİNON OKSİDOREDÜKTAZ (NQO1) GENİ	14
GEREÇ VE YÖNTEMLER	18
GEREÇLER	18
KİMYASAL MADDELER VE MALZEMELER	18
KULLANILAN CİHAZLAR	19
TAMPON VE ÇÖZELTİLER	19
YÖNTEMLER	21
BULGULAR	26
TARTIŞMA	30
SONUÇLAR	32
TÜRKÇE ÖZET	33
İNGİLİZCE ÖZET	34
KAYNAKLAR	35
RESİMLEMELER LİSTESİ	42
ÖZGEÇMİŞ	44
EK	

## GİRİŞ VE AMAÇ

Kanser, sık görülmesi ve öldürücülüğünün yüksek olması nedeniyle günümüzün en önemli sağlık sorunlarından biri haline gelmiştir. Dünyada en yaygın ve en yüksek ölüm oranına sahip kanser türlerinden biri de akciğer kanseridir (1).

Dünyada her yıl akciğer kanseri sebebiyle bir milyondan fazla kişi ölmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde yine her yıl yaklaşık 178000 vaka tespit edilmekte ve bu vakaların yaklaşık 160000'i ölmektedir (2). Tüm dünyada 1985'ten beri, akciğer kanseri vakalarının sayısında erkeklerde %44, kadınlarda %76 artış olduğu belirlenmiştir (1). Diğer kanser tiplerinde ölümler azalırken, akciğer kanserine bağlı ölümlerde 3 kat artış saptanmıştır (3). Akciğer kanserinin prognozu, diğer kanser tiplerine göre daha kötüdür ve beş yıllık sağ kalım oranı %15'ten daha azdır (4).

Akciğer kanserinin en önemli sebeplerinden biri sigaradır (5). Sigara içmeyen akciğer kanserli hastaların, sigara içen akciğer kanserli hastalara göre daha çok sağ kalıma sahip oldukları görülmüştür (6).

Akciğer kanserinin sigaradan başka risk faktörleri de vardır. Mesleki ve çevresel faktörler, diyet ve genetik faktörlerin de akciğer kanserine sebep olduğu belirlenmiştir (7-9).

Akciğer kanseri, çeşitli moleküler anomalilerin çok uzun zamanda birikimi sonucunda da oluşur. Ayrıca, karsinojen metabolizmasını düzenleyen genler de akciğer kanseri oluşumunda etkilidir (10). NAD(P)H: Kinon oksidoredüktaz (NQO1)

geni, karsinojenlerin detoksifikasyonu ve aktivasyonunda görev alır (11). NAD(P)H, akciğer kanserinde önemli bir modülatördür (12). Genin 609. pozisyonunda ortaya çıkan C>T polimorfizmine bağlı olarak, prolinin yerine serin geçer. Son yıllarda yapılan çalışmalarda TT homozigot bireylerde enzimin hemen hemen hiç aktif olmadığı ve sağ kalım süresinin daha kısa olduğu gözlemlenmektedir (13).

Bu çalışma, NQO1 geninin akciğer kanseri üzerindeki olası etkilerini incelemek amacıyla yapıldı. Bunun için, hasta ve kontrol grubundan ikişer mililitre (ml) kan alınarak EDTA'lı tüplere konuldu. Bu kanlardan DNA'lar izole edildi. İzole edilen DNA'lardan, özgün primerler kullanılarak, polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemiyle istenilen bölgeler çoğaltıldı. NQO1 geninin 609. pozisyonunda görülen C>T polimorfizmini incelemek amacıyla Hinf1 restriksiyon enzimi kullanılarak kesim yapıldı. Kesim ürünleri agaroz jelde yürütüldü ve etidyum bromür ile boyanarak ultraviyole ışık altında görüntülendi.

Çalışmanın, hastalığın erken teşhisi ve tanısının konulmasında yardımcı bilgiler vermesi beklenmektedir.



## GENEL BİLGİLER

### AKCİĞER KANSERİ

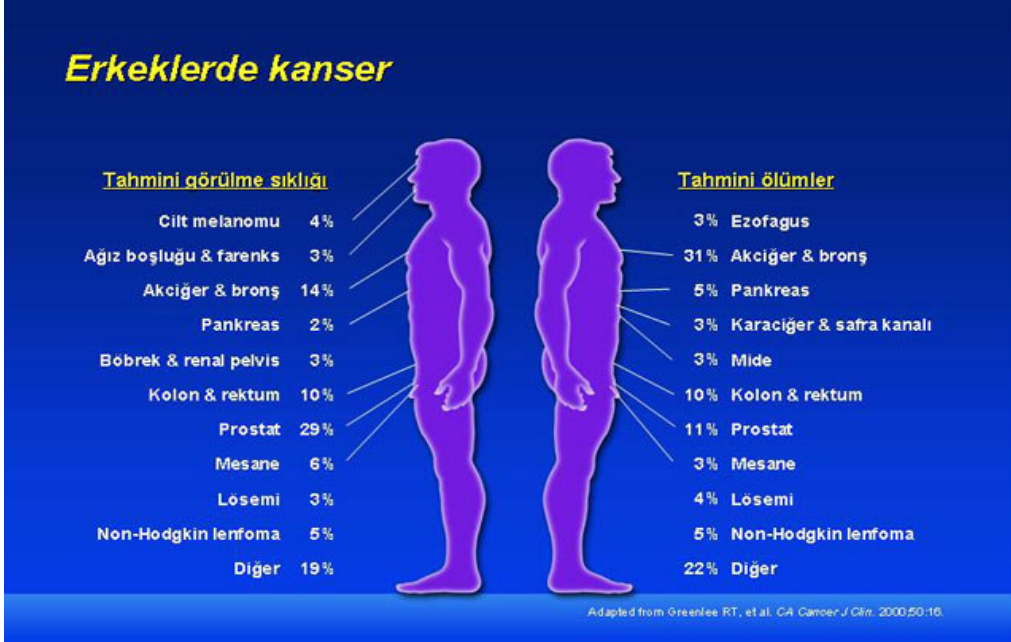
#### Epidemiyoloji

Akciğer kanseri, 20. yüzyılın başlarında nadir görülen bir hastalık olduğu halde, günümüzde bazı ülkelerde kanser ölümlerinin en sık nedeni haline gelmiştir (1,14). Bu yüzyılın başlarında, bağımlılık yapıcı maddeler içeren sigaranın imal edilmeye başlanması, akciğerlerin solunumla sürekli karsinojenlere maruz kalmasına neden olmuştur. Pasif içiciliğin de akciğer kanserine neden olduğunu gösteren çalışmalar vardır (15). Yakın zamanda yapılan analizlerde sigara içmeyen erkeklerde akciğer kanseri riskinin arttığı görülmekte fakat bunun nedeni tam olarak bilinmemektedir (16).

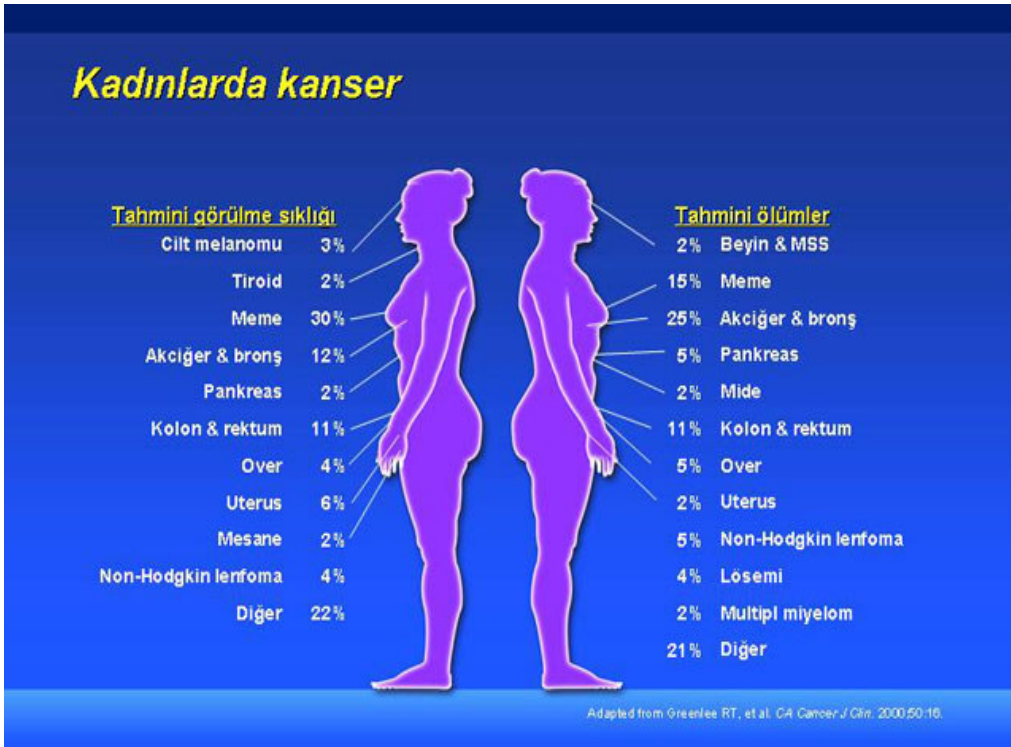
Erkeklerde en sık, %29'luk oranla prostat kanseri, ardından %14 ile akciğer kanseri görülmektedir (şekil 1).

Kadınlarda da durum çok farklı değildir. En çok %30 ile meme kanseri ve ardından %12'lik oranıyla akciğer kanseri görülmektedir (şekil 2).

Erkeklerde akciğer kanserine bağlı mortalite, 1930'lardan sonra hızla artmaya başlamış, 1950'lerin ortalarında ölüm nedenleri arasında ilk sıralara yerleşmiştir (18). Kadınlarda bu oran 1980'lerde artmış ve akciğer kanseri ABD'de meme kanserinin önüne geçmiştir (19). ABD'de akciğer kanseri mortalite ve insidansında ırk, etnik köken ve cinsiyet arasında önemli farklılıklar vardır. Siyah ırkta beyaz ırka oranla %50 daha fazla görülmektedir (20). Erkeklerde akciğer kanseri riski, kadınlarda olduğundan daha yüksektir (21).



Şekil 1. Erkeklerde kanser görölme sıklığı ve tahmini ölümler (17)



Şekil 2. Kadınlarda kanser görölme sıklığı ve tahmini ölümler (17)

Ülkemizde Sağlık Bakanlığı'nın tüm sağlık kuruluşlarında tanı alan kanser olgularının kaydedildiği pasif kanser kayıt sistemi verilerine göre akciğer kanseri insidansı 11.5/100.000'dir. Sağlık Bakanlığı verilerine göre akciğer kanseri sıklığı batı bölgelerimizde en yüksek Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerinde en düşük değerlerdedir (22).

Akciğer kanseri gelişimi yaşla birlikte artmaktadır. 45 yaşından sonra risk belirgindir. 55 ve 60 yaşlar arasında ise insidans en yüksek değerini alır (7). Ülkemizdeki akciğer kanseri özelliklerini belirlemek amacıyla Toraks Derneği Akciğer ve Plevra Maligniteleri Grubu (TAPMG) tarafından 2002 yılında yapılan ulusal, hastane bazlı retrospektif çalışmada, 11849 akciğer kanserli olgunun %90.4'ü erkek, %9.6'sı kadın olup olgular büyük oranda (%56.7) 46-65 yaşları arasında yer almaktadır. Olguların yaklaşık %90'ında sigara kullanım öyküsü saptanmıştır (23).

Akciğer kanseri, günümüzde en yaygın kanser türü olmasına rağmen, coğrafik dağılımlara göre alt gruplarında belirgin farklılıklar göstermektedir (24). ABD ve Japonya'da en sık adenokarsinoma saptanırken, Asya ülkelerinde skuamöz hücreli kanser en sık görülen akciğer kanseri türüdür (25,26). Ülkemizde ise en çok görülen akciğer kanseri türü, skuamöz hücreli akciğer kanseridir (yaklaşık %20) ve daha düşük oranda da adenokarsinomaya rastlanır. En az görülen ise %2'lik oranıyla büyük hücreli akciğer kanseridir (27).

Akciğer kanseri olgularının yaklaşık %90'ından sorumlu tek etken sigaradır. Risk, günlük içilen sigara sayısı, sigara içilen yıl, sigaraya başlama yaşı, filtresiz veya yüksek katran içerikli sigara içimi ile artar. Sigaranın bırakılma süresi ile orantılı olarak risk azalır. Yani sigara içilen yıl sayısı, kritik öneme sahiptir. Hiç sigara içmeyenlerle karşılaştırıldığında, sigara içenlerde riskin 20 kat fazla olduğu görülmüştür (17).

Akciğer kanserlerinin çoğu, sigara alışkanlığına bağlansa da tiryakilerin yaklaşık %20'sinde akciğer kanseri oluşmaktadır (8). Ayrıca akciğer kanserli hastaların hem sigara içen hem de sigara içmeyen akrabalarında akciğer kanseri riskinde 2.4 kat artış gözlenmiştir. Bu da akciğer kanserinde genetik yatkınlığın olabileceğini gösterir (28). Kalıtsal akciğer kanserinin, toplumda sık görülen ve son derece önemli olan polimorfizmlerden kaynaklandığı düşünülmektedir (29).

## **Etiyoloji**

Aktif sigara kullanımı, çevresel sigara dumanı, çeşitli mesleki maruziyetler ve hava kirliliği gibi pek çok faktör, akciğer kanseri oluşumunda önemli rol oynamaktadır (30). Yaşam tarzı, kanser riskini değiştirebilen bir faktördür (31). Genellikle yapılan çalışmalar; sigara kullanımı, mesleki ve çevresel maruziyetlere odaklanarak, akciğer kanseri etiolojisini açıklamayı hedeflemektedir. Ancak akciğer kanseri gelişiminde bireysel duyarlılık kadar karsinogenlerin aktivasyonu veya inaktivasyonundaki genetik kapasite de etkilidir (32).

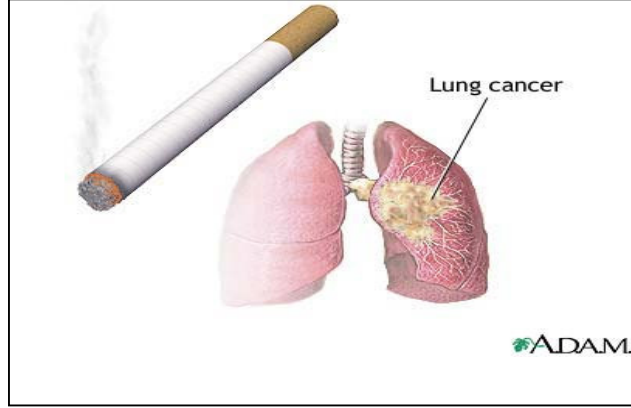
Akciğer kanseri ve diyet arasındaki ilişkiyi gösteren çalışmalar, genellikle antioksidan maddeler yönünden zengin gıdalarla akciğer kanseri riskinin azalması ile ilgilidir (33). Örneğin; vitamin A ve beta karotenin akciğer kanseri riskinin azalması ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar vardır (7).

## **Akciğer Kanseri Etiyolojisindeki Risk Faktörleri**

**1. Sigara:** Etiyolojide en önemli faktör sigaradır. Akciğer kanserlerinin yaklaşık %85-%90'ından sorumludur. Sigaranın, akciğer kanseri riskini, sigara içmeyenlere oranla 20 kat arttırdığı düşünülmektedir (34). On yıl, günde bir paketten fazla sigara içenlerde ölüm sıklığı, içmeyenlere göre belirgin olarak artmaktadır. Risk, kullanılan sigara sayısı ve kullanım süresine göre farklılık göstermektedir. Sigara bırakıldıktan sonra akciğer kanseri riski, 15 yılda içmeyen kişilere yakın düzeyde bir riske inmektedir (16). Fakat sigarayı bıraktıktan sonra 40 yıldan daha uzun bir süre geçmiş olsa bile, risk hiç kullanmayanlara göre daha fazladır (35).

Sigarada yaklaşık 40.000 tane kimyasal madde tanımlanmış, bunların 60'tan fazlası karsinogen olarak tespit edilmiştir (36). En güçlü karsinogenler, polinükleer aromatik hidrokarbonlar (PAH), N-nitrozaminler, aromatik aminler ve heterosiklik aminlerdir (37). Bu bileşenler, sigara başına 5-200 ng gibi çok küçük miktarlarda bulunurlar. Aldehitler, benzen ve bütadien gibi organik bileşikler çok yaygındır ve her bir sigarada 10-1000 µg kadar bulunur. İnsanda akciğer kanseri açısından en önemli karsinogenler, benzo[a]piren gibi PAH ve sigara dumanındaki tütüne özgü nitrozaminlerden biri olan 4-metilnitrozamin-1-3-pridil-1-bütanondur (NNK) (2).

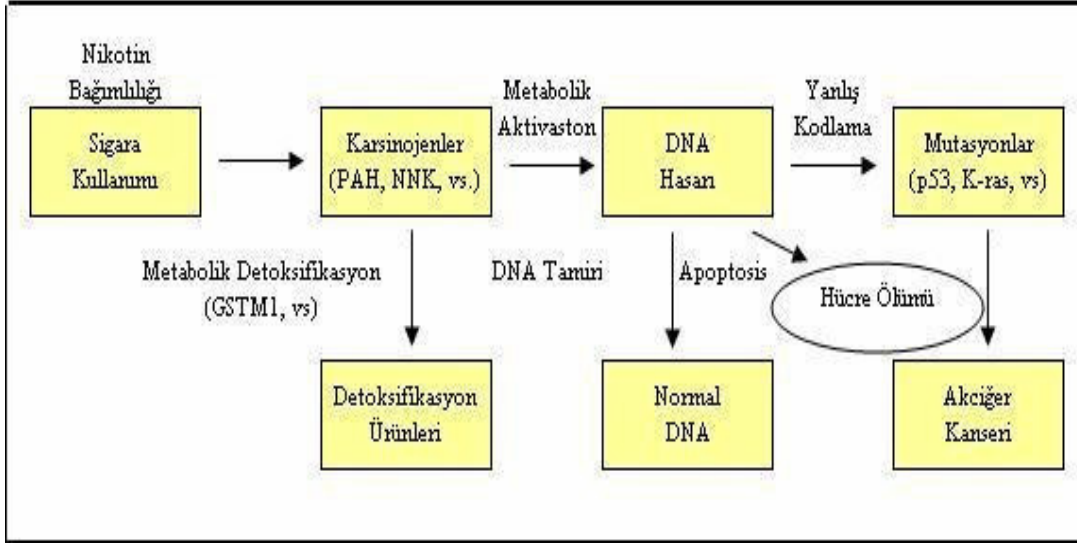
Nikotin, sigaranın bırakılmasını engelleyen bir maddedir ve vücutta NNK benzeri karsinojenlere dönüşebilir (38). Her bir sigaradaki karsinojen miktarı az gibi görünse de bu dozların birikimi akciğer kanserine neden olabilir (şekil 3).



**Şekil 3. Sigara ve akciğer kanseri riski (39)**

Akciğer kanseri, bir dizi moleküler ve morfolojik olaydan sonra meydana gelir. NNK bileşiği akciğerde toksisite gösteren, tümör oluşumuna neden olan bir bileşiktir. Sigara dumanında oluşan reaktif oksijen türleri oksidatif hasarı indükleyerek, DNA hasarına neden olmaktadır (40,41). Hasarlı DNA'ya sahip hücreler, apoptozis ile bertaraf edilir. Eğer kalıcı mutasyon, onkogenlerin veya tümör baskılayıcı genlerin kritik bölgelerinde meydana gelirse, tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonuna veya onkogenlerin aktivasyonuna neden olabilir. Bunun gibi birçok olay, hasarlı hücrelerde normal büyüme kontrolünün kaybedilmesiyle akciğer kanserinin oluşmasına neden olur. Şekil 4'te sigara ve akciğer kanserinin gelişimi arasındaki ilişki gösterilmektedir (2).

Çevresel sigara dumanına maruziyet de akciğer kanserinin sebepleri arasında kabul edilmektedir (2). Pasif sigara içicileri, çevresel dumanı dolaylı olarak inhale ederler. Kendisi sigara içmeyip eşi sigara içen kadınlar üzerinde yapılan iki çalışmada, bu kadınların akciğer kanseri olma riskinin %30 daha fazla olduğu gösterilmiştir (42,43). ABD'de akciğer kanserinden kaynaklanan ölümlerin önemli bir kısmını pasif içiciler oluşturmaktadır (15). Pasif sigara içiciliği ile ilgili çalışmalar, sigara kullanımı ve akciğer kanseri arasında doz-cevap ilişkisi açısından da önemli bilgiler sağlamaktadır (44).



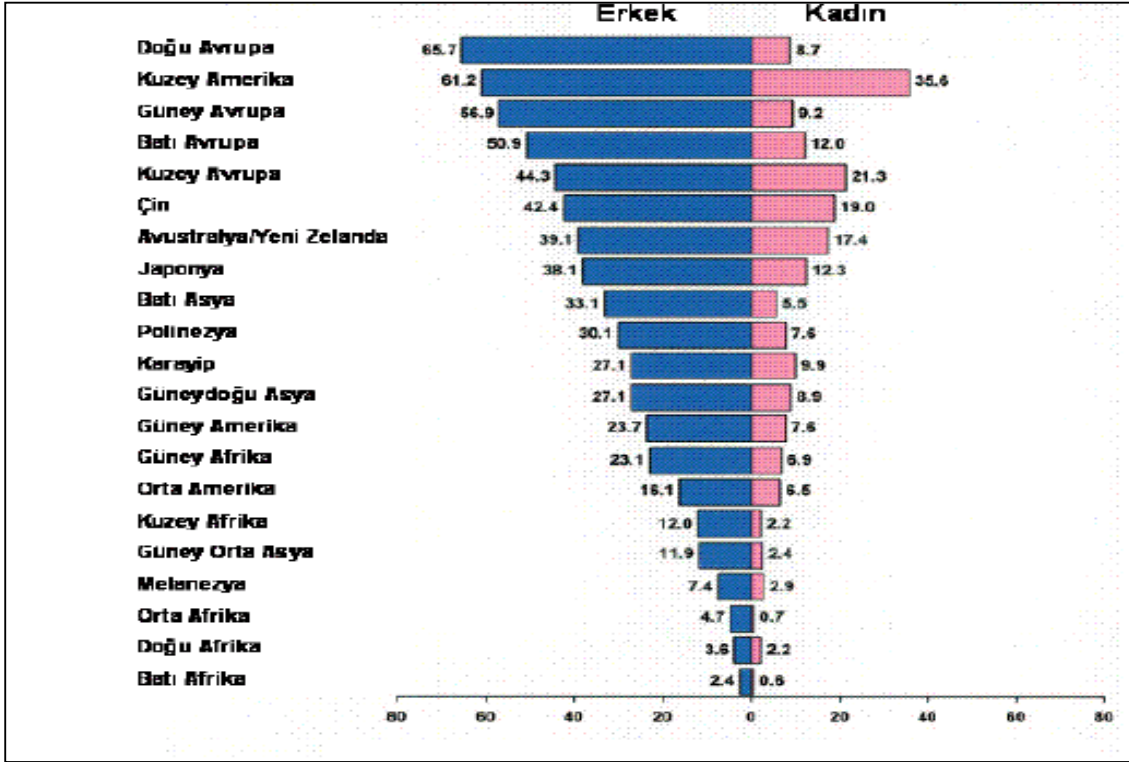
**Şekil 4. Sigara ve akciğer kanserinin gelişimi arasındaki ilişki (40)**

**2. Mesleki ve çevresel maruziyetler:** Türkiye’de akciğer kanseri oluşumunda rol oynayan bir diğer faktör de asbest ile temastır. Havayla taşınan küçük partiküllere bölünen bir mineral bileşiği olan asbest, havayla taşınan liflerle karşılaşan kişilerde, özellikle de sigara içenlerde, akciğer kanseri riskini arttırdığı bilinen bir karsinojendir. Sigara içen kişilerde asbest ile temas, kanser riskini 90 kat arttırmaktadır. Akciğer kanserlerinin %3-4 kadarının asbeste maruz kalınmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

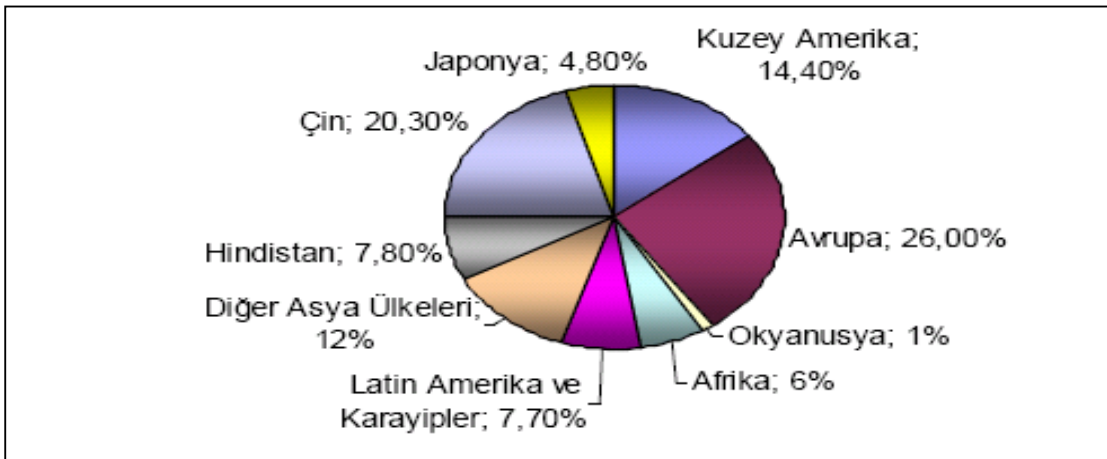
Radyasyona maruz kalanlarda da akciğer kanseri riski artmaktadır. Radon gazı, doğada değişik bölgelerde yüksek oranlarda bulunabilmektedir (16). Özellikle madencilerde görülen bu mesleksel maruziyete, ev içi havasından da maruz kalmak mümkündür fakat; madenlerdeki radon konsantrasyonu ev içindeki konsantrasyondan 50-100 kat daha fazladır (18). ABD’de evlerin %15’inde özellikle bodrum katlarında, güvenilir sınıırın üzerinde radon saptanmıştır ve her yıl 15.000 ile 20.000 civarında akciğer kanseri ölümünün, radon gazına bağlı olduğu tahmin edilmektedir (8). Ayrıca, arsenik (45), krom (46) ve nikel (47) gibi çeşitli metallere temasın da akciğer kanserine neden olduğu düşünülmektedir.

**3. Yaş, Cinsiyet ve Etnik farklar:** Hastaların çoğu 50-70 yaş arasındadır. Erkeklerde daha sık görülmektedir ancak son yıllarda insidans, kadınlarda erkeklere göre daha hızlı artış göstermektedir (48). Tüm dünyada erkekler arasında en yüksek insidans oranı, Kuzey Amerika ve Avrupa’da görülmektedir. Bunun dışında daha az

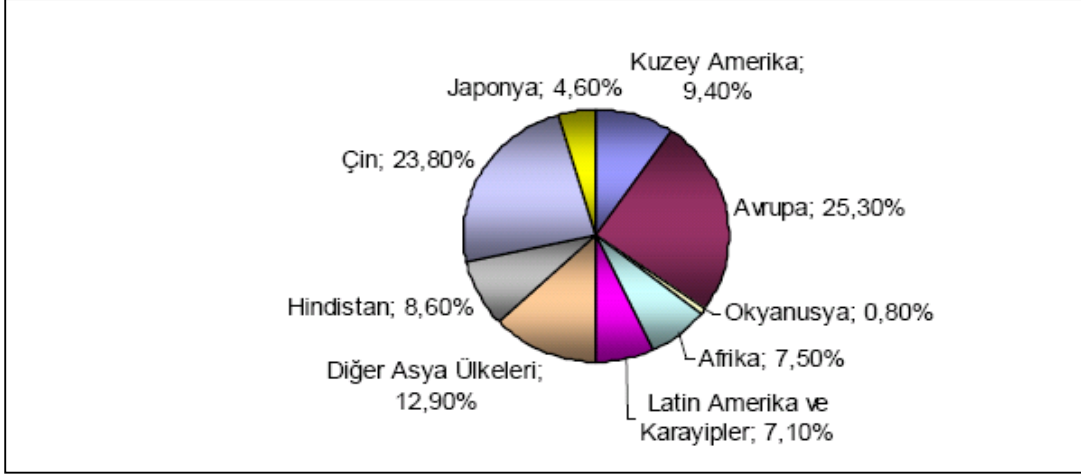
olmakla birlikte, Avustralya, Yeni Zelanda ve Doğu Asya'da da yüksek oranlar saptanmıştır. Ayrıca beyazlara oranla zencilerde daha sık görülmektedir (şekil 5-8).



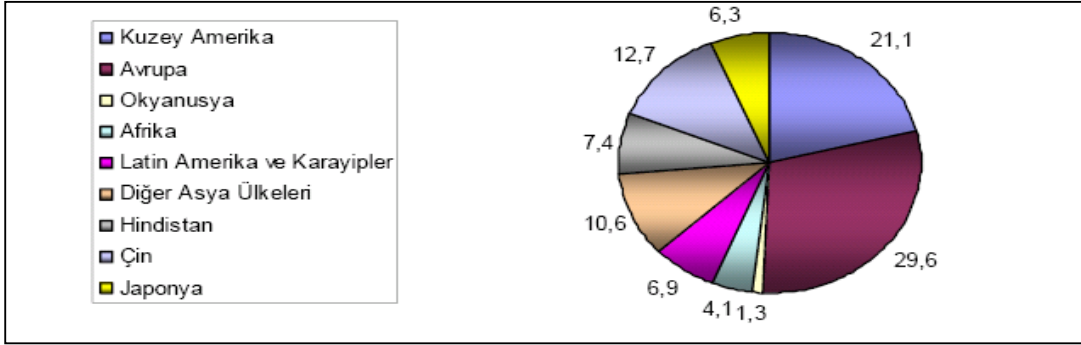
Şekil 5. Akciğer kanserinde cinsiyete göre 2002 insidansı. Veriler, her bir cins için 100.000 alınmıştır. Yaş standardize edilmiştir (1).



Şekil 6. Akciğer kanserinin dünyadaki 2002 yılı insidansı (1).



**Şekil 7. Akciğer kanserinin dünyadaki 2002 yılı mortalitesi (1).**



**Şekil 8. Akciğer kanserinin dünyadaki 2002 yılı prevalansı (1).**

**4. Diyet:** Bazı çalışmalarda taze sebze ve meyve tüketiminin akciğer kanseri riskini azalttığı gösterilmiştir (49). Vitamin A ve beta karotenden başka, C ve E gibi antioksidan vitaminlerin de serbest radikalleri yok ederek DNA'yı oksidatif hasardan koruduğu saptanmıştır.(50).

**5. Alkol:** Alkol tüketimi ile ağız boşluğu, farinks, larinks, karaciğer, kolon ve meme kanseri arasında ilişki kurulmuş, fakat akciğer kanseri için alkolün etkisi kesin olarak belirlenememiştir. Alkol tüketimi ve akciğer kanseri arasında ilişki olduğu varsayılmakla birlikte, çalışmalardan elde edilen veriler yetersiz kalmaktadır (51).

**6. Sosyo-ekonomik durum:** Akciğer kanserini de içeren pek çok hastalığın riski, düşük sosyal statüdeki bireylerde sigara ve pasif içicilikten bağımsız olarak 2-3 kat daha fazla olduğu bilinmektedir (52).



**7. Akciğer hastalıkları:** Daha önceden geçirilmiş astım, tüberküloz, kronik bronşit, amfizem ve obstrüktif akciğer hastalıklarının, akciğer kanseri riskini arttırdığını gösteren çalışmalar vardır (53). Kronik obstrüktif akciğer hastalığında, tekrarlayan akciğer inflamasyonu ve akciğerdeki skar dokularında (örneğin tüberküloza bağlı) kanser gelişimi artmaktadır. Field etki denilen durumda özellikle baş-boyun kanseri olan kişilerde akciğer kanseri daha sık görülmektedir. Bu durum, kanserojen faktörün tüm epitel yüzeyine etki yapmasına bağlıdır (16).

**8. Genetik yatkınlık:** Tüm sigara içicilerin %10-20'sinde akciğer kanseri gelişimi genetik yatkınlığa işaret etmektedir. Akciğer kanserli hastaların hem sigara içen hem de içmeyen akrabalarında akciğer kanseri riski 2.4 kat artmıştır. Artmış ailesel riskin yaş, cinsiyet, mesleki maruziyet ve sigara içiciliğinden bağımsız olduğu ileri sürülmüştür (54).

## **AKCİĞER KANSERİ TÜRLERİ**

Bronkojenik karsinomlar, küçük hücreli dışı akciğer karsinomu ve küçük hücreli akciğer karsinomu olmak üzere iki gruba ayrılırlar (55). Akciğer kanserinin histolojik türleri tablo 1'de gösterilmiştir.

**Tablo 1. Akciğer kanserinin histolojik sınıflandırılması**

<b>1. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Karsinomu (KHDAK)</b> a) Skuamöz hücreli karsinoma b) Adenokarsinoma c) Büyük hücreli karsinoma
<b>2. Küçük Hücreli Akciğer Karsinomu (KHAK)</b>
<b>3. Kombine Tipler</b>

Skuamöz hücreli kanserler, tüm akciğer kanserlerinin yaklaşık %30'unu oluşturur. Eskiden bu hücre tipindeki tümörlerin akciğer santralinde, adenokanserlerin periferde oluşma eğilimi olduğu düşünülürken, yeni çalışmalarda

her iki tip tümörün de benzer lokalizasyonlar gösterdiği yayınlanmıştır. Diğer tiplere göre skuamöz hücreli kanserler, lokal kalma eğilimi gösterirler. Tedavilerden sonra da lokal tekrarlamalar daha fazladır. Skuamöz hücreli kanser, erkeklerde daha sık görülür.

Adenokanserler ve büyük hücreli kanserler, tüm akciğer kanserlerinin yaklaşık %60'ını oluştururlar. Sigara içmeyenlerde ve kadınlarda en sık görülen tip adenokanserdir. Ancak hastaların çoğunda sigara içme hikayesi bulunur (56).

## **EVRELEME VE TEDAVİ**

Akciğer kanserinde evrelendirme, tedavi açısından gereklidir. KHDAK'nde temel tedavi yöntemi cerrahidir. Gerekirse cerrahi öncesi ve sonrası kemoterapi ve radyoterapi uygulanabilir.

KHAK'nde ise, radyoterapi ve kemoterapi uygulanır. KHAK'de cerrahi nadir düşünülür (7).

## **AKCİĞER KANSERİNİN MOLEKÜLER BİYOLOJİSİ**

Karsinogenezin temelinde, öldürücü olmayan genetik hasar yatar (55). Bu genetik hasar veya mutasyonlar; kimyasal maddeler, radyasyon gibi çevresel ajanların ya da virüslerin etkisiyle ortaya çıkabilir. Genetik hasarın asıl hedefi olan genler; büyümeyi uyaran protoonkogenler, büyümeyi inhibe eden kanser baskılayıcı genler ve hasara uğrayan DNA onarımını düzenleyen genlerdir. Karsinogenezis, fenotipik ve genetik düzeylerde çok basamaklı bir olaydır.

Klinik açıdan incelendiğinde, akciğer kanseri gelişme sürecinde 10-20 genetik hasarın oluşması gerektiği bilinmektedir (57). Akciğer karsinogenezinde önemli genetik olaylar; onkogenlerin mutasyonel aktivasyonu, tümör baskılayıcı genlerin aktivasyon kaybı, hücre döngüsü regülasyonunda görev alan genlerde ortaya çıkan değişiklikler, DNA onarımında görev alan genlerde ortaya çıkan değişiklikler ve büyüme faktörleri ile reseptörlerine ilişkin değişikliklerdir (58).

DNA hasarının oluşumu, kimyasal karsinogenezin ilk aşamasıdır. Genetik hasarın temelinde, mutasyonlar ve delesyonlar yatar. Mutasyonlar, kalıtım molekülünde oluşan ve kuşaktan kuşağa aktarılan kalıcı değişikliklerdir. Mutasyonlar büyüklüğüne göre (nokta ve gen), nedenine göre (kendiliğinden ya da uyarılmış), etkilenen doku tipine göre (vücut veya eşey) ve genetik şifrenin anlamlılığı gibi birçok

özelliğe göre sınıflandırılabilir. DNA'daki nokta mutasyonlar, DNA'nın tek bir baz çiftindeki değişiklik olarak tanımlanabilir. Bu değişiklik, baz eklenip-eksilmesi şeklinde olabileceği gibi, baz değişikliği ile de olabilir. Baz değişikliği, bir baz çifti yerine başka bir baz çiftinin geçmesiyle oluşan mutasyonlardır. Bunlar, bir bazın yerine aynı kimyasal gruptan başka bir bazın geçmesi (teansisyonlar) veya bir bazın yerine farklı kimyasal gruptan başka bir bazın geçmesi (transversiyonlar) şeklinde olabilir (59).

Bir organizmanın taşıdığı tüm genler, bireyin genotipini, ortaya çıkardığı fiziksel görünüm ve işlevi ise fenotipini oluşturur. Genlerin nükleotid dizilimindeki herhangi bir değişiklik, kodladığı tüm proteinin kopyalarını etkilediği için mutasyonlar bir organizmanın tüm hücrelerinin zarar görmesine neden olabilir. Bir genin, kontrol ya da yapısal bölgesindeki mutasyon, proteinin işlev kazanmasına, kaybetmesine ya da yeni bir özellik kazanmasına neden olur (60).

Toplumda %1'den daha yüksek oranda bulunan gen seçenekleri, polimorfizm olarak tanımlanmaktadır. Genetik mutasyonlar, bir çeşit genetik polimorfizmdir. Polimorfizmler de mutasyonlar gibi bazı DNA bölgelerinde eksilme, artma ve rekombinasyon şeklinde görülse de genomda en çok tek nükleotid polimorfizmi olarak görülürler (61).

Genetik polimorfizm çalışmaları, hastalık riski olan kişilerin ve ilaç tedavisi için yeni hedeflerin belirlenmesine fırsat verir. Kimyasalları ya da karsinogenleri metabolize eden enzim polimorfizmleri, kalıtsal ya da çevresel olarak hastalık oluşumunda doğrudan etki gösterirken, DNA onarım genlerindeki polimorfizmler dolaylı etki gösterir (62). Eğer polimorfizm, enzimi kodlayan bölgede oluşmuş ise vücuttaki enzim seviyesi popülasyon içerisinde farklılıklar oluşturur. Ortaya çıkan farklılık ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunu da etkiler. Enzimlerin bu polimorfik durumları, çeşitli hastalıklara, özellikle kansere yatkınlık sağlar (61). Akciğer kanserinde genetik değişiklikler ve biyolojik özellikleri tablo 2'de verilmiştir.

**Tablo 2. Akciğer kanserindeki genetik değişiklikler ve biyolojik özellikleri (59)**

<b>Genetik Değişiklikler</b>	<b>KHAK</b>	<b>KHDAK</b>
Ras mutasyonları	<1	%15-20
Myc amplifikasyonları	%15-30	%5-10
Bcl-2 ekspresyonu	%75-95	%10-35
Olası otokrin halka	GRP/GRP reseptörü SCF/KIT	HGF/MET NDF/ERBB
P53 mutasyonu	%75-100	%50
P53'ün anormal ekspresyonu	%40-70	%40-60
Protein ekspresyonu olmayan	%90	%15-30
RB	%1	%10-40
P16 mutasyonu	%0-10	%30-70
P16 ekspresyonunun olmaması	%100	%90
Telomeraz aktivitesi	%100	%80-85

### **NAD(P)H: KİNON OKSİDOREDÜKTAZ (NQO1) GENİ**

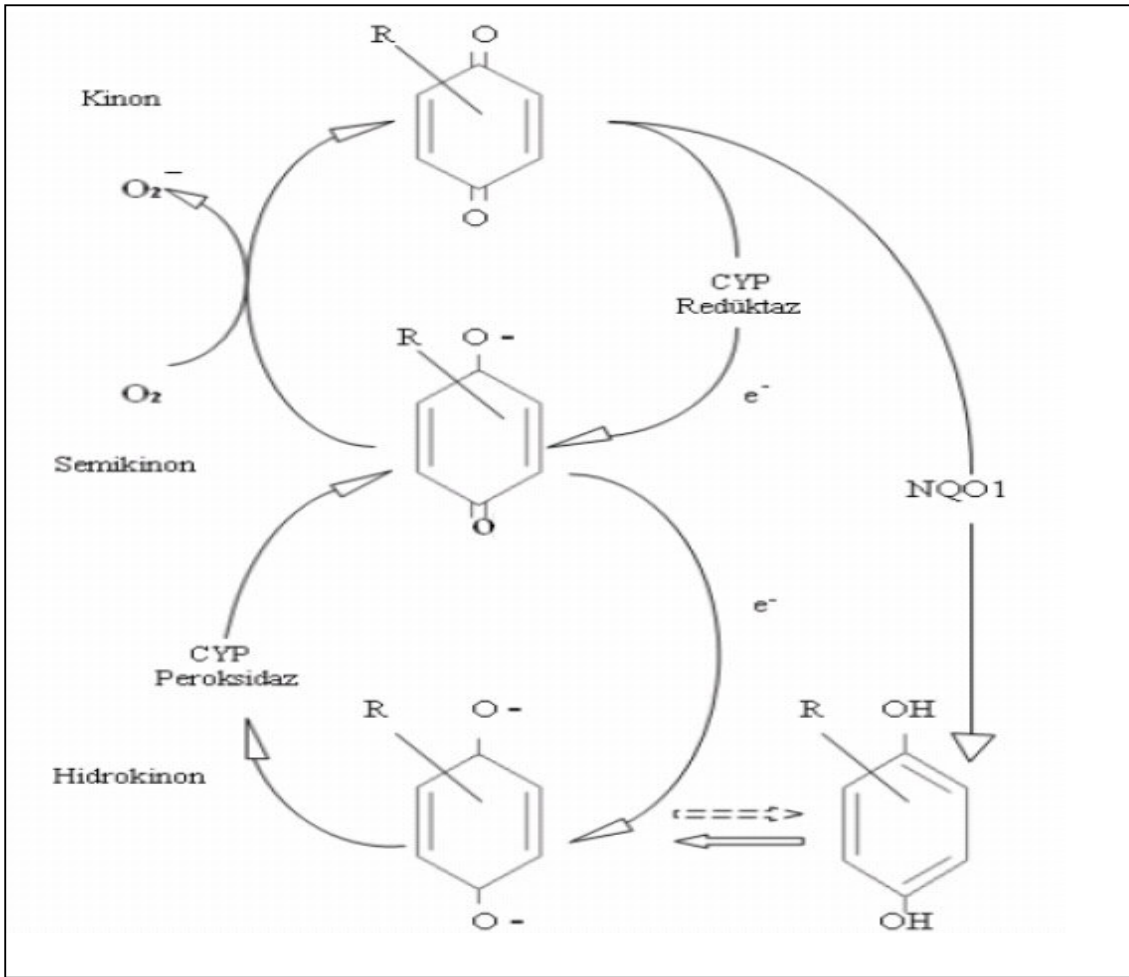
Son yıllarda yapılan araştırmalarda, akciğer kanseri oluşumunda etkili olan tablo 2'deki genetik değişikliklerden başka, NQO1 genindeki değişikliklerin de akciğer kanseri oluşumunda etkili olduğu gözlemlenmiştir.

Kinonlar, oldukça reaktif bileşikler olup, egzoz gazı, sigara dumanı ve şehir havasında bol miktarda bulunduğu gibi, yediğimiz pek çok besinin içinde de doğal olarak bulunur (63).

Kinonların tek elektron indirgeme reaksiyonları, sitokrom P450 enzimi tarafından gerçekleştirilir. Reaksiyon sonucunda semikinonlar oluşur (64). Semikinonlar, moleküler oksijen varlığında redoks reaksiyonları ile reaktif oksijen çeşitlerini meydana getirirler. Bunun sonucunda oksidatif stres ve DNA hasarı oluşur (65). NQO1'in en fazla bilinen fonksiyonu, kinonların indirgenmesi reaksiyonudur.

Enzim tek basamakta 2 elektron indirgenmesini sağlayarak reaktif ve toksik semikinon ara metabolitinin oluşumunu önler (66). NQO1 tarafından gerçekleştirilen iki elektron indirgenmesi reaksiyonu ile hücrel tek elektron indirgenme reaksiyonu yarış halindedir (67).

NQO1, kromozom 16q22.1'de lokalize, 6 ekson ve 5 introndan oluşan, yaklaşık 20 kb uzunluğunda bir gendir (64). NQO1, substratına bağlı olarak kinonları biyoaktif veya detoksifiye eden, 2 elektronlu bir redüktazdır (68). NQO1 enziminin detoksifikasyon reaksiyonları şekil 9'da gösterilmiştir (69).



**Şekil 9. NQO1 enziminin detoksifikasyon şeması**

NQO1 ayrıca, nitroaromatik maddeler ve heterosiklik aminler gibi çevresel karsinojenleri de biyoaktif edebilir (70). Ayrıca antioksidan bir enzim olarak görev yapar. Ubikinonların ve vitamin E'nin antioksidan formlarının oluşumunu sağlar (71).

Bu enzim, yüksek oranda antioksidan koruma gerektiren dokularda fazla miktarda bulunur (72).

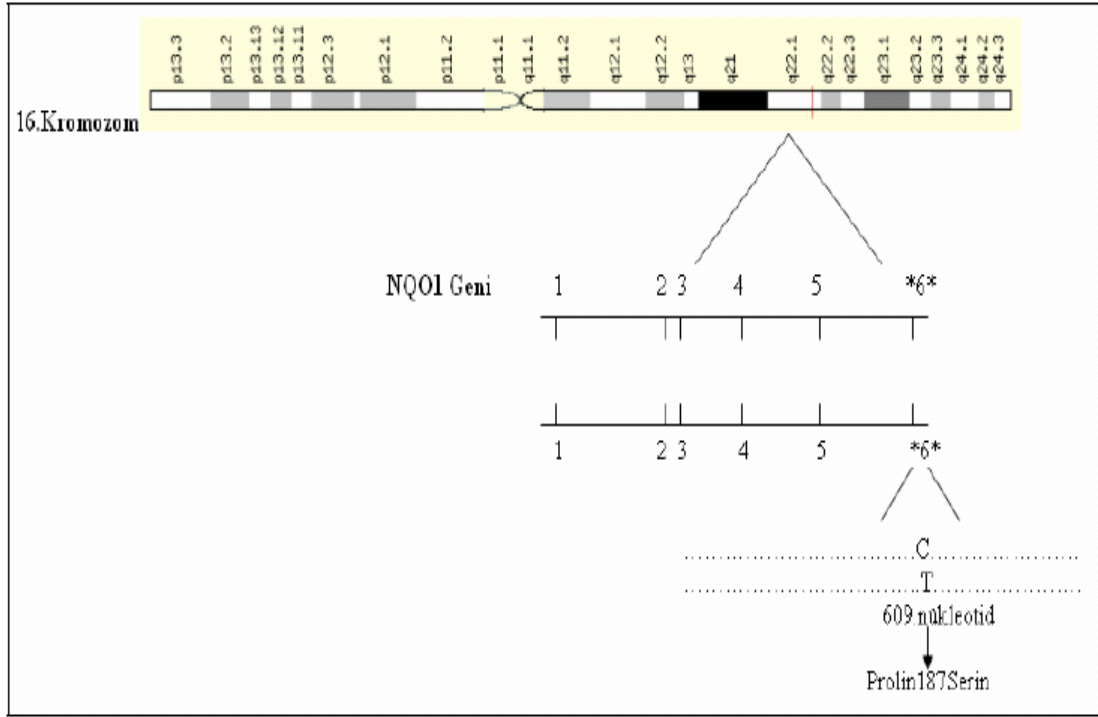
NQO1, P53 proteininin stabilizasyonu için de gereklidir. P53 proteininin hücresel seviyesi, modifikasyonlar ve interaksiyonlar yoluyla düzenlenir. Ancak NQO1'in P53'ü nasıl kararlı hale getirdiği henüz bilinmemektedir (73). Polimorfik olarak inaktif olan bireylerin tümör gelişimine karşı neden daha hassas oldukları, NQO1'in P53 üzerindeki etkisi yönüyle de açıklanabilir (74).

NQO1'deki genetik polimorfizm, ekson 6'da 609. pozisyonda C yerine T nokta mutasyonu ile, proteinde prolin yerine serin oluşumudur (13). 609. pozisyonda meydana gelen homozigot C→T mutasyonu, NQO1 aktivitesinin kaybına sebep olur (şekil 10). İn-vitro çalışmalarda varyant NQO1'in normal tipten daha düşük (%4'ü kadar) bir aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (75). Normal tip ile karşılaştırıldığında homozigot varyant kinon redüktaz aktivitesinin sadece %2-4'üne sahipken, heterozigot varyantta enzim aktivite derecesinde 3 kat azalma vardır. Homozigot varyant genotipi, beyaz popülasyonda %2 gibi nadir, Asyalılarda %20 gibi sıktır. Bu varyasyonlar, kemopreversiyon ve kemoterapide önemlidir.

NQO1 polimorfizminin etkisi, sigaraya bağlı kanserlerde daha belirgin olmalıdır fakat NQO1 pro187ser polimorfizminin sigaraya bağlı kanser riskine etkisinin incelendiği epidemiyolojik çalışmalarda çelişkili sonuçlar elde edilmiştir (76).

NQO1, sigara dumanındaki karsinojenleri hem metabolik olarak aktive edebilir hem de detoksifiye edebilir. Örneğin, sigara dumanındaki en önemli karsinojenik polinükleer aromatik hidrokarbonlardan biri olan benzo[a]prenin DNA ile etkileşimi, NQO1 tarafından önlenir. Buna karşın yine sigara dumanındaki mutajenik ve karsinojenik heterosiklik aminlerden iki tanesi olan,

- 2-amino-2-metilimidazol [4,5-f] quinolin
- 3-amino-1-metil-5H-pridol [4,3-b] indol, NQO1 tarafından aktive edilirler (77).



**Şekil 10. NQO1 geninin ekson 6'da belirlenen polimorfizminin şematik gösterimi (78).**

## **GEREÇ VE YÖNTEMLER**

### **GEREÇLER**

Çalışmada, Mayıs 2007 ile Haziran 2008 tarihleri arasında Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı'na başvuran, radyoterapi veya kemoterapi görmemiş 75 hastadan, EDTA'lı tüplere alınan periferik kanlar kullanıldı. 65 kişiden oluşan, sağlıklı kontrol grubundan da EDTA'lı tüplere alınan periferik kanlar kullanıldı. Çalışmada, NAD(P)H: kinon oksidoredüktaz geninde görülen polimorfizm, restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi (RFLP) yöntemiyle incelendi. Bunun için hasta ve kontrol grubunun kanlarından, DNA izolasyonu yapıldı. Sonra polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemiyle polimorfizmi içeren bölgeler çoğaltıldı.

Çalışma, Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi.

### **KİMYASAL MADDELER VE MALZEMELER**

Agaroz (Sigma)

Borik Asit (Sigma)

Etanol %99.8 (Carlo Erba)

DNA Marker Seti, 50 bç (Fermentas)

dNTP (deoksi Nükleotid Tri Fosfat; dATP, dCTP, dGTP, dTTP ) (MBI)

Etidyum Bromür (Sigma)

Etilendiamintetraasetikasit (EDTA) (Sigma)

Magnezyumklorür (Sigma)

Primerler (Fermentas)



Proteinaz K (BioBasic)  
Sodyum Dodesil Sülfat (SDS) (Sigma)  
Taq DNA Polimeraz Seti (BioBasic)  
Trisma Base (Sigma)  
Hinf 1 Restriksiyon Enzimi (TaKaRa)  
DNA izolasyon kiti (Ultra Clean DNA Blood Spin Kit)

### **KULLANILAN CİHAZLAR**

Agaroz Elektroforez Tankı (Bio-Metra)  
Derin Dondurucu (AEG)  
Buzdolabı (Bosch)  
Dijital Fotoğraf Makinesi (Nicon)  
Güç Kaynağı (Bio-Metra)  
Manyetik Karıştırıcı (Nüve)  
Otoklav (Nüve)  
Otomatik Mikro Pipetler (Socorex)  
pH ölçüm cihazı (Schott)  
Santrifüj (Hettich)  
Spektrofotometre (Biotech)  
Terazi (Scaltec)  
ThermalCycler (Techne)  
Vorteks (Nüve)  
Thermo Shaker (Boeco)  
UV Transillüminatör (Vilber Lourmat)

### **TAMPON VE ÇÖZELTİLER**

#### **Kontrol Grubunun DNA İzolasyonunda Kullanılan Çözeltiler**

##### **Hücre Parçalama Çözeltisi**

155 mM NH<sub>4</sub>Cl  
10 mM KHCO<sub>3</sub>  
0.1 mM EDTA

### **Çekirdek Parçalama Çözeltisi (pH: 8.2)**

10 mM Tris-HCl

400 mM NaCl

2 mM EDTA

**SDS:** %10 gr/ml stok olarak hazırlandı.

**Proteinaz K:** 20 mg/ml stok olarak hazırlandı.

### **TE Çözeltisi**

10 Mm Tris-Cl pH:7,4

0,1 mM EDTA

### **10X TEB**

60,5 gr Tris

3.72 gr Na<sub>2</sub> EDTA . 2H<sub>2</sub>O

30.85 gr Borik Asit

### **EtBr**

0.05 gr EtBr

10 ml dH<sub>2</sub>O

### **Hasta DNA'larının İzolasyonunda Kullanılan Solüsyonlar**

Hasta kanlarından DNA izolasyonu yapmak için tablo 3'te gösterilen solüsyonları içeren DNA izolasyon kiti kullanıldı.

**Tablo 3. Hasta DNA'larının İzolasyonunda Kullanılan Solüsyonlar**

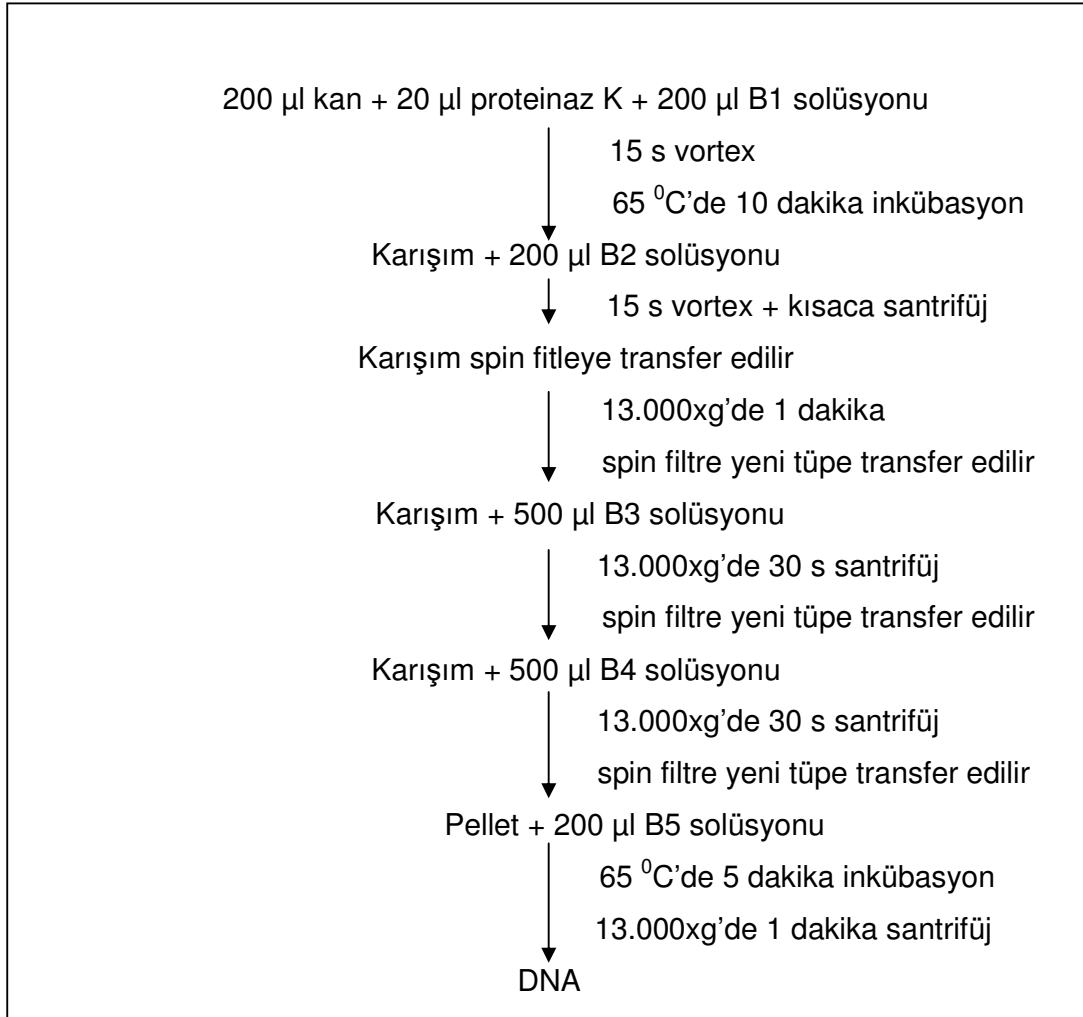
<b>Bileşim</b>	<b>Miktar</b>	<b>İçerik</b>
<b>Proteinaz K</b>	<b>31.25 mg</b>	<b>Proteinaz K</b>
<b>B1 solüsyonu</b>	<b>55 ml</b>	<b>Guanidin HCl/tween solüsyonu</b>
<b>B2 solüsyonu</b>	<b>55 ml</b>	<b>%100 etanol</b>
<b>B3 solüsyonu</b>	<b>137.5 ml</b>	<b>Etanol/guanidin HCl solüsyonu</b>
<b>B4 solüsyonu</b>	<b>160 ml</b>	<b>Etanol, tris, NaCl</b>
<b>B5 solüsyonu</b>	<b>55 ml</b>	<b>10 mM tris-HCl</b>

## YÖNTEMLER

### Hasta Kanlarından DNA İzolasyonu

Akciğer kanserli hastalardan, EDTA'lı tüplere 2 ml kan alındı ve bu kanlardan tablo 4'te gösterilen yöntemle, izolasyon kiti kullanılarak DNA'lar izole edildi. Elde edilen DNA'lar, -20 °C'de saklandı.

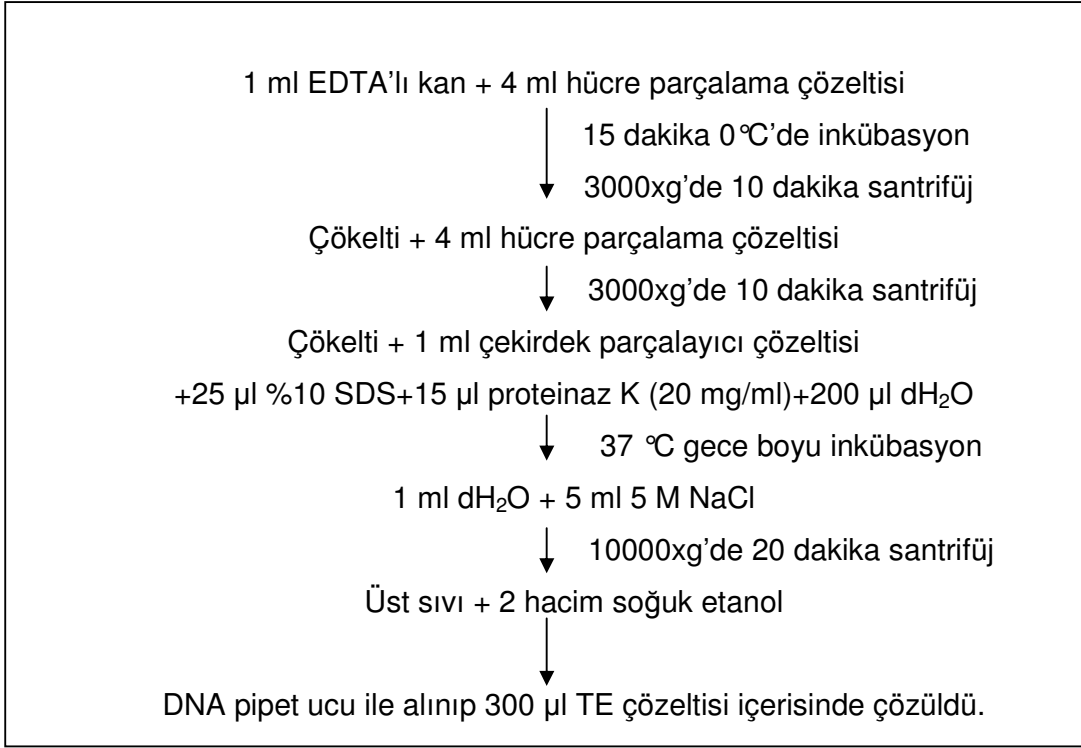
**Tablo 4. Hasta Kanlarından DNA İzolasyon Yöntemi**



## Kontrol Grubunun Kanlarından DNA İzolasyonu

Kontrol grubundan, EDTA'lı tüplere 2 ml kan alındı ve bu kanlardan tablo 5'te gösterilen tuz çöktürme yöntemiyle DNA izolasyonu yapıldı. Elde edilen DNA'lar, -20 °C'de saklandı.

**Tablo 5. Kontrol grubunun kanlarından DNA izolasyon yöntemi**



PZR'de kullanılacak DNA miktarı aşağıdaki formüle göre belirlendi:

$$\text{DNA } (\mu\text{g/ml}) = 260 \text{ nm'deki optik yoğunluk (OD)} \times \text{sulandırma oranı} \times \text{katsayı}$$

Burada kullanılan katsayı, DNA için 50'dir. DNA'nın saflığı ise, 260 nm ve 280 nm'deki optik yoğunluk değerlerinin oranı alınarak belirlendi. DNA'ların kalitesini belirleyebilmek için, DNA'lar %0,8'lik agaroz jelde yürütülüp görüntülendi.

## Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Öncelikle, PZR karışımında kullanılacak  $MgCl_2$  miktarının belirlenmesi için, titrasyon yapıldı. Bunun için, 2 hasta seçildi ve 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 mM olmak üzere dört farklı  $MgCl_2$  miktarıyla PZR karışımı hazırlandı. Elde edilen ürünler %2'lik agaroz jelde yürütüldü ve 2.5 mM  $MgCl_2$  uygun görüldü.

## NQO1 Geninin PZR İle Çoğaltılması

NQO1 geninin 609. pozisyonunda görülen C>T polimorfizmini incelemek amacıyla 212 bç'lik bir bölge uygun primerler kullanılarak çoğaltıldı (tablo 6). Reaksiyon karışımı ve PZR koşulları aşağıdaki gibi uygulandı (tablo 7 ve tablo 8).

**Tablo 6. Kullanılan primerler**

F: 5'- TCC TCA GAG TGG CAT TCT GC -3'
R: 5'- TCT CCT CAT CCT GTA CCT CT -3'

**Tablo 7. PZR Karışımı**

Reaksiyon Karışımı (25 $\mu$ l'lik hacim için)
1x PZR Buffer
2.5 mM $MgCl_2$
0.2 mM dNTP
1.25 U Taq polimeraz
0.5 nmol F primer
0.5 nmol R primer
100 ng DNA
..... dH <sub>2</sub> O

**Tablo 8. PZR Koşulları**

<b>BÖLÜMLER</b>	<b>SICAKLIK</b>	<b>ZAMAN</b>	<b>DÖNGÜ</b>
Başlangıç	95 °C	5 dak	1 döngü
Denatürasyon	95 °C	30 s	35 döngü
Yapışma	59 °C	30 s	
Uzama	72 °C	45 s	
Sonlanma	72 °C	5 dak	1 döngü

### **Elektroforez İşlemleri**

Agaroz jeller, yürütülecek materyale bağlı olarak farklı konsantrasyonlarda hazırlandı. DNA için %0.8'lik, PZR sonuçlarının incelenebilmesi için %2'lik, enzim kesiminin incelenmesi için %3'lük agaroz jellerle çalışıldı. Jeller hazırlanırken 30 ml 0.5X TEB tamponu kullanıldı. Hazırlanan jelle %10 olacak şekilde etidyum bromür eklendikten sonra 13 dişli taraklar yerleştirilmiş jel tabağına döküldü. Jeller, içinde 0.5X TEB bulunan elektroforez tankına yerleştirildi. PZR için hazırlanan jelin her bir kuyusuna 10 µl örnek yüklendi ve 110 V'ta 30 dakika yürütüldükten sonra UV ışık altında görüntülendi. Aynı şekilde enzim kesimi sonuçları da kesim için hazırlanan jelin her bir kuyusuna 13 µl örnek yüklenerek 110 V'ta 30 dakika yürütüldükten sonra UV ışık altında incelenerek değerlendirildi.

### **Enzim Kesimi İşlemleri**

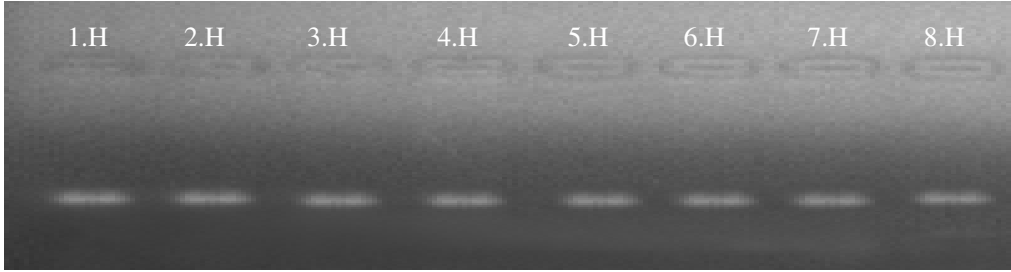
NQO1 geninin 609. pozisyonunda görülen C>T polimorfizmini incelemek amacıyla, Hinf 1 restriksiyon enzimi kullanılarak, 37 °C'de üç saat bekletilerek enzim kesimi yapıldı. Enzim kesimi için uygulanan reaksiyon koşulları tablo 9'daki gibidir.

**Tablo 9. NQO1 Enzim Kesimi İçin Reaksiyon Koşulları**

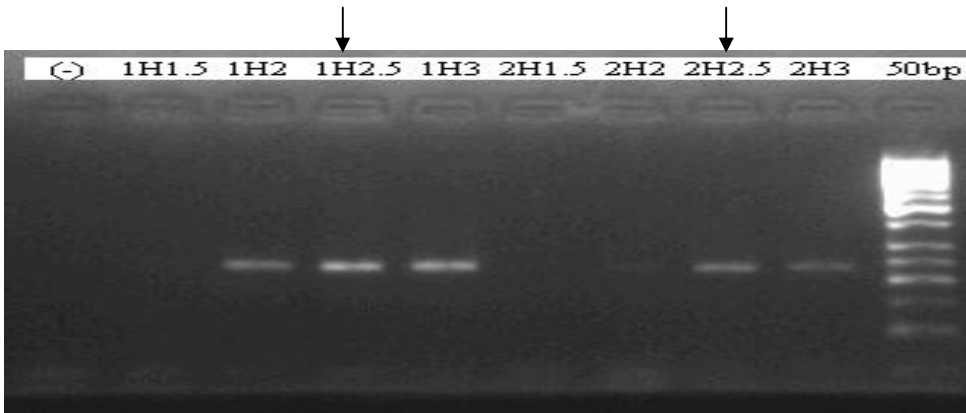
<b>REAKSİYON KARIŞIMI</b>	<b>1 TÜP</b>
PZR Ürünü	10 µl
Tampon (10X H Buffer)	1.5 µl
Enzim ( Hinf 1)	0.75 µl
dH <sub>2</sub> O	0.75µl
Toplam	<hr/> 13 µl

## BULGULAR

İzolasyondan sonra %0.8'lik agaroz jelde yürütölüp UV altında görüntölünen DNA'lar resim 1'de gösterilmiştir. PZR karışımı içinde kullanılmak üzere yapılan MgCl<sub>2</sub> titrasyonunun UV ışık altındaki görüntüsü ise resim 2'deki gibidir.



Resim 1. DNA'ların UV ışık altındaki görünümü



Resim 2. MgCl<sub>2</sub> titrasyonunun UV ışık altındaki görünümü



## Hasta ve Kontrol Gruplarının Özellikleri

Çalışmada, Mayıs 2007 ile Haziran 2008 tarihleri arasında Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı'na başvuran, akciğer kanserli 75 hastadan (yaş ortalaması 62.69±9.36) ve 65 kişiden oluşan, sağlıklı kontrol grubundan (yaş ortalaması 52.72±16.26) EDTA'lı tüplere alınan periferik kanlar kullanıldı. Tablo 10'da hasta ve kontrol gruplarının özellikleri gösterilmiştir.

**Tablo 10. Hasta ve kontrol gruplarının özellikleri**

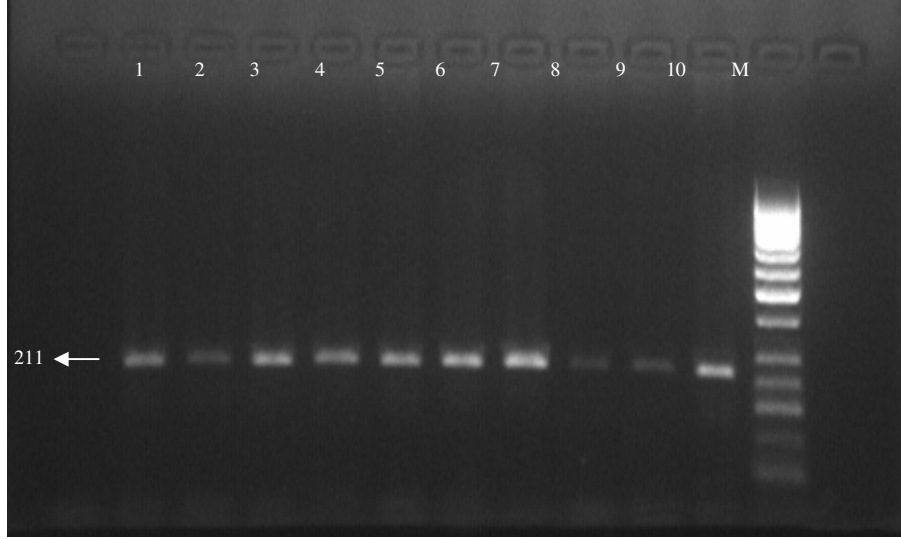
	HASTA	KONTROL
<b>CİNSİYET</b>		
Kadın	3 (%4.0)	4 (%6.2)
Erkek	72 (%96.0)	61 (%93.8)
<b>SİGARA</b>	<b>+</b>	<b>+</b>
<b>HİSTOPATOLOJİ</b>		
Adenokarsinom	9 (%12.0)	
Skuamöz hücreli karsinom	19 (%25.3)	
Küçük hücreli karsinom	14 (%18.7)	
Küçük hücreli dışı karsinom	27 (%36.0)	
Bilinmeyen	6 (%8.0)	

Hastaların sigara içme durumları incelendi. Elde edilen veriler doğrultusunda ortalama 38.45±12.14 yıl, günde ortalama 1.63±0.64 paket sigara içenlerde akciğer kanserinin oluştuğu görüldü.

## PZR Sonuçları

Hasta ve kontrol gruplarının periferik kanlarından izole edilen DNA'lar kullanılarak PZR yapıldı. Sonuçlar UV ışık altında incelenerek jel dökümantasyon sistemi ile değerlendirildi. 50 bç'lik marker kullanıldı.

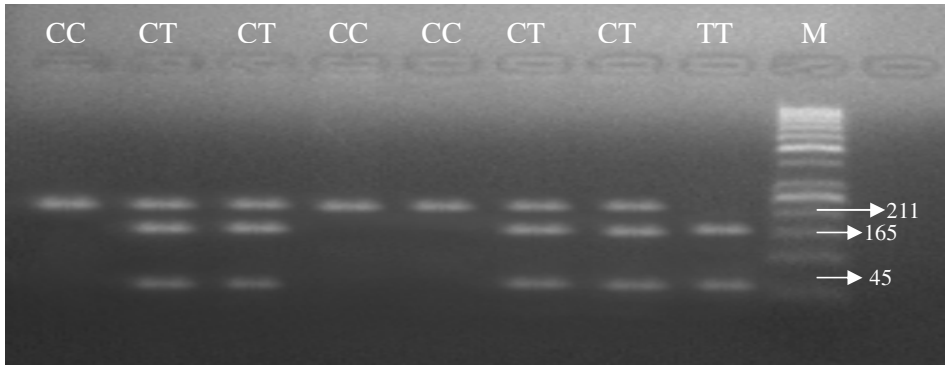
NQO1 geninin 609. baz çiftinde görülen C→T polimorfizmini incelemek amacıyla 212 bç'lik bölge, uygun primerler kullanılarak PZR yöntemiyle çoğaltıldı (resim 3).



**Resim 3. NQO1 genine ait PZR görüntüsü**

#### **Enzim Kesim Sonuçları**

NQO1 geninin 609. baz çiftinde görülen C>T baz değişimi, bir enzim kesim bölgesi oluşturur. Normal tipte kesim görülmez ve 211 bp'lik bölgede tek fragment oluşur (CC). Homozigot varyant tipte iki bölgede kesim gerçekleşir, 165 ve 45 bp'lik iki fragment gözlenir (TT). Heterozigot varyant tipte ise her iki allel de görülür ve 211, 165, 45 bp'lik bölgelerde üç fragment gözlenir (CT). Resim 4'te enzim kesim sonuçları gösterilmiştir.



**Resim 4. Hinf1 enzimi kesim sonucu**

Hasta ve kontrol gruplarının enzim kesim işlemlerinden sonra genotiplerin dağılımı incelendi (tablo 11).

**Tablo 11. NQO1 genotiplerinin hasta ve kontrol gruplarındaki dağılımı**

<b>GENOTİP</b>	<b>HASTA</b>	<b>KONTROL</b>	<b>P değeri</b>
CC	50 (%66.7)	39 (%60.0)	0.433
CT	24 (%32.0)	23 (%35.4)	
TT	1 (%1.3)	3 (%4.6)	

Hasta gruplarının genotipleri ile akciğer kanserinin türü arasında bir ilişkinin olup olmadığının belirlenmesi için NQO1 genotipleri ile histopatolojik türlerin frekans ve yüzdeleri incelendi (tablo 12).

**Tablo 12. NQO1 genotiplerinin histopatolojik türlerde dağılımı**

<b>HİSTOPATOLOJİ</b>	<b>CC</b>	<b>CT</b>	<b>TT</b>
Adenokarsinom	7 (%14.0)	2 (%8.3)	
Skuamöz hücreli karsinom	13 (%26.0)	6 (%25.0)	
Küçük hücreli karsinom	7 (%14.0)	7 (%29.2)	
Küçük hücreli dışı karsinom	19 (%38.0)	7 (%29.2)	1 (%100)
Bilinmeyen	4 (%8)	2 (%8.3)	

## TARTIŞMA

Akciğer kanseri, günümüzde bazı ülkelerde kanser ölümlerinin en sık nedeni haline gelmiştir (1). Dünyada erkeklerde prostat kanserinin ardından en sık görülen kanser türü akciğer kanseridir. Kadınlarda ise meme kanserinden sonra en çok, akciğer kanseri görülmektedir (17).

Akciğer kanserinin en önemli nedeni sigaradır (34). Sigarada 60'tan fazla karsinojen madde tespit edilmiştir (36). Çevresel sigara dumanına maruziyet de akciğer kanserinin sebepleri arasında gösterilmektedir (2).

Mesleki ve çevresel maruziyetler, çevresel karsinojenler ve akciğer hastalıklarının da kanser oluşumu ile ilişkisinin olduğunu gösteren çalışmalar vardır. Fakat karsinojen maddelerin aktivasyonunda veya detoksifikasyonunda görev alan genlerin kanser oluşumuyla ilişkisi henüz tam olarak kanıtlanamamıştır (79).

Genetik yatkınlık da akciğer kanserinin sebepleri arasındadır (54). Ailesinde akciğer kanseri olanlarda riskin 2.4 kat arttığını gösteren çalışmalar vardır (29).

NQO1'de genetik polimorfizm, ekson 6'da 609. pozisyonda C yerine T nokta mutasyonu ile prolin yerine serin oluşumudur. Yapılan bir araştırmaya göre, 609'da görülen C>T mutasyonu, NQO1 aktivitesinin kaybına sebep olur (76).

NQO1 enziminin çevresel karsinojenlerin aktivasyonunda ve detoksifikasyonunda rol oynadığı düşünülmektedir. Tayvan'da yapılan bir çalışmada sigaraya bağlı akciğer kanserinde NQO1'in aktive edici etkisinin olduğu ve NQO1 polimorfizminin akciğer kanseri gelişiminde önemli bir genetik risk faktörü olduğu gösterilmiştir (80).

NQO1'in P53'ün degradasyonunun inhibisyonunda düzenleyici rolü olduğunu gösteren çalışmalar da vardır. Bu bulgular, NQO1'in tümör oluşumunu engelleyecek yönde etkisi olduğunu desteklemektedir (74).

Akciğer kanseri riskinde NQO1 polimorfizminin etkisini araştıran 21 vaka kontrol çalışması incelenmiş, beyaz populasyonda varyant genotiplerle akciğer kanseri riski arasında bağlantı görülmemiştir. Asyalılarda bütün varyant genotipler için bir ilişki gösterilememiş fakat Asya populasyonunda yapılan çalışmalar arasında güçlü heterojenlik görülmüştür. Beyaz ırktakinin aksine varyant allel taşıyan Asyalılarda akciğer kanseri riskinin azaldığı görülmüştür.

Çalışmamızda, varyant genotiplerle akciğer kanseri riski arasında ilişki bulunamamıştır.

Beyaz ırkta sigara içen ve varyant allel taşıyanlarda hafif risk artışı görülmüş, sigara içmeyen ve varyant allel taşıyanlarda risk artışı görülmemiştir.

Akciğer kanseri histolojisine bakıldığında beyaz ırkta adenokarsinom ve küçük hücreli karsinomda NQO1 polimorfizminin etkisi görülmemiştir. T allel taşıyıcılarında ise muhtemelen skuamöz hücreli karsinom riski yüksektir. Asyalılarda NQO1 varyant genotipinin koruyucu etkisinin sadece adenokarsinom için görüldüğü, skuamöz hücreli karsinom için görülmediği önerilmiştir (76).

Çalışmamızda, NQO1 polimorfizmi ile akciğer kanserinin histopatolojik türleri arasında da bir ilişki bulunamamıştır. Bu gözlem, değişik toplumlarda elde edilen verilerle uyumludur (65, 81). Diğer taraftan, NQO1 polimorfizmi ile akciğer kanseri riskini araştıran bazı çalışmalar arasında çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Bazı çalışmalarda normal tip ile risk artışı arasında ilişki saptanırken (74, 82, 83), bazılarında ise polimorfik allel ile ilişki gözlenmiştir (71, 84). Bu çelişkilerin, enzimin hem aktivasyon hem de detoksifikasyonda yer almasının yanı sıra, genetik ve çevresel faktörlerden de kaynaklandığı düşünülmektedir (84).

## SONUÇLAR

Çalışmamızda yaş ortalaması  $62.69 \pm 9.36$  olan 75 akciğer kanserli hasta ve yaş ortalaması  $52.72 \pm 16.26$  olan 65 sağlıklı bireyden alınan periferik kanlar kullanıldı.

Hasta grubu, 72 erkek ve 3 kadından; kontrol grubu da 61 erkek ve 4 kadından oluştu. Ki-kare testi sonucunda hasta ve kontrol grupları arasında cinsiyete göre anlamlı bir sonuç bulunamadı ( $p=0.704$ ). Hasta ve kontrol gruplarındaki kadın sayısının az olmasının, cinsiyete göre anlamlı sonuç alınamamasında etkili olduğu düşünüldü.

NQO1 genotip dağılımı da ki-kare testiyle incelendi. CC, CT, TT genotiplerinin hasta grubundaki dağılımı sırasıyla 66.7, 32.0, 1.3; kontrol grubundaki dağılımı ise sırasıyla 60.0, 35.4 ve 4.6 bulundu. CC, CT veya TT genotiplerinin dağılımında hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark görülmedi ( $p=0.433$ ).

Bu çalışma, NQO1 geninde 609. pozisyonda meydana gelen C>T polimorfizminin akciğer kanseri riskiyle ilişkisinin belirlenmesi için yapıldı. Çalışmamızın sonucunda bu gende meydana gelen polimorfizm ile akciğer kanseri riski arasında bir ilişki bulunamadı.

## ÖZET

### AKCİĞER KANSERLİ HASTALARDA NQO1 GEN POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI

**KAMİLE ÖZKAN**

Karsinogen metabolizmasında görev alan genlerde görülen varyasyonlar, akciğer kanserine yatkınlık açısından önemlidir. NAD(P)H: Kinon oksidoredüktaz (NQO1), substratına bağlı olarak aktivasyon ya da detoksifikasyon enzimi olarak rol oynar. Genin 609. pozisyonunda görülen C>T polimorfizmi enzimatik aktivitenin azalmasına neden olur. Ayrıca NQO1, sigara dumanındaki karsinogenik maddeleri aktive edebilir. Yapılan epidemiyolojik çalışmalar, sigaranın akciğer kanserinin en önemli nedeni olduğunu göstermektedir.

Bazı çalışmalarda, NQO1 genetik polimorfizmi ile akciğer kanseri arasında bir ilişkinin olabileceği saptanmıştır. Bu nedenle NQO1'in akciğer kanserine olan yatkınlığın belirlenmesi için aday bir gen olabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada, NQO1'deki genetik polimorfizm ile akciğer kanserine yatkınlık arasındaki ilişki araştırıldı. 75 akciğer kanserli hasta ile 65 sağlıklı bireyde NQO1 allellerinin dağılımı belirlendi. NQO1 genindeki polimorfizm, polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile incelendi. Elde edilen PZR ürünlerinin restriksiyon enzimi ile kesimi yapıldı. CC, CT ve TT genotiplerinin dağılımları sırasıyla; kontrol grubunda %60.0, %35.4, %4.6, akciğer kanserli hasta grubunda %66.7, %32.0, %1.3 bulundu. Kontrol ve hasta grupları arasında sayısal değerler açısından belirgin bir fark olmadığı görüldü (p=0.433).

Bu çalışmanın sonucunda, NQO1 genindeki polimorfizm ile akciğer kanseri arasında bir ilişki bulunmadığı belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Akciğer Kanseri, NAD(P)H, NQO1, Polimorfizm

## SUMMARY

### INVESTIGATION OF THE NQO1 GENE POLYMORPHISM IN THE PATIENTS WITH LUNG CANCER

**KAMİLE ÖZKAN**

Variations in the carcinogen metabolism genes play an important role in predisposition to lung cancer. NAD(P)H: quinone oxidoreductase (NQO1), may either a detoxification or activation enzyme, depending on substrate. The C>T polymorphism in the gene of 609 position the results in the decrease of the enzymatic activity. NQO1 also, activate the carcinogens present in tobacco. In epidemiology studies smoking is the strongest known risk factor for lung cancer.

In some population-based case-cohort studies, NQO1 gene polymorphisms have been associated with development of lung cancer. So NQO1 may be a candidate gene for development of lung cancer.

In this study we examined the relationship between NQO1 polymorphisms and lung cancer. We identified the genotype distribution for 75 lung cancer patients and 65 healthy individuals. Genotyping of NQO1 polymorphism was performed by a PCR amplification procedure. The amplified PCR products were digested with Hinf1 restriction enzyme. The distribution of CC, CT and TT were %60.0, %35.4 and %4.6 for healthy group and %66.7, %32.0, %1.3 for patients group, respectively. There was no difference in genotype distribution between healthy and patients groups ( $p=0.433$ ).

In this study no evidence was found to support the role of the polymorphism in NQO1 and lung cancer.

**Key Words:** Lung Cancer, NAD(P)H, NQO1, Polymorphism.



## KAYNAKLAR

1. Parkin, D.M. , Bray, F. , Ferlay, J. , Pisani, P. , Global Cancer Statistics, 2002. *Cancer J Clin* 2005; 55:74-108.
2. Hecht, S.S. Tobacco smoke carcinogens and lung cancer. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91 (14): 1194-210.
3. Yurdakul AS, Çalışır HC, Demirağ F, Taci N, Öğretensoy M. Akciğer Kanserinin Histolojik Tiplerinin Dağılımı (2216 olgunun analizi). *Toraks Dergisi* 2002; 3(1): 59-65.
4. Bunn P.A. Jr. Molecular biology and early diagnosis in lung cancer. *Lung Cancer* 2002; Oct 38(1):5-8
5. Barbone F. ,Bovenzi M. ,Cavallieri F. , Stanta G. Cigarette smoking and histologic type of lung cancer in men. *Chest* 1997; 112:1474-9.
6. Nordquist L.T. , Simon G.R. , Cantor A. , Alberts W. M., Bepler G. Improved survival in never smokers vs current smokers with primary adenocarcinoma of the lung. *Chest* 2004;126:347-51.
7. Topuz E. , Aydiner A. Akciğer Kanseri. Karadeniz AN (Editörler).*Klinik Onkoloji, İstanbul:Tunç Matbaası; 2000.s.82-89.*
8. Osann KE, Ernster VL, Mustacchi P. Epidemiology of lung cancer. In: Murray JF, Nadel JA, Mason RJ, Bousey HA (Eds.). *Textbook of Respiratory Medicine*. 3<sup>th</sup> ed. Philadelphia: W.B. Saunders Co.; 2000. p. 1395-1407.
9. Emri AS. Akciğer kanseri ve soliter pulmoner nodül. Barış İ (Ed.). *Solunum Hastalıkları Temel Yaklaşım'da*. 2. Baskı. Ankara: Kent Matbaası; 1995. s.307-28.
10. Spivack SD, Hurteau GJ, Fasco MJ, Kaminsky LS. Phase I and II carcinogen metabolism gene expression in human lung tissue and tumors. *Clin Cancer Res* 2003; Dec I; 9(16 Pt I): 6002-11.
11. Strassburg A, Strasburg CP, Manns MP, Tukey RH. Differential gene expression of NAD(P)H: quinone oxidoreductase and NRH:quinone oxidoreductase in human hepatocellular and biliary tissue.*Mol Pharmacol* 2002; Feb; 61(2):320-5.
12. Kolesar JM, Pritchard SC, Kerr KM, Kim K, Nicolson MC, McLeod H. Evaluation of NQO1 gene expression and variant allele in human NSCLC tumors and matched normal lung tissue. *Int J Oncol*. 2002; Nov 21 (5): 1119-24.

13. Traver RD, Horikoshi T, Danenberg KD, Stadlbauer TH, Danenberg PV, Ross D, Gibson NW. NAD(P)H:quinone oxidoreductase gene expression in human colon carcinoma cells: characterization of a mutation which modulates DT-diaphorase activity and mitomycin sensitivity. *Cancer Res.* 1992; Feb 15;52 (4):797-802.
14. Postmus PE. Epidemiology of Lung Cancer. In: Fishman AP, Elias JA,
15. Fishman JA, Grippi MA, Kaiser LR, Saenior RM (Eds.). *Fishman's pulmonary diseases and disorders*. 3<sup>th</sup> edition. New York: Mc Graw Hill; 1998: p. 1707-17.
16. US Environmental Protection Agency (EPA): Respiratory health effect of passive smoking: Lung cancer and other disorders. 1992; Epa Publication No:600/006F. Washington,DC:US Government Printing Office.
17. Aydiner A, Topuz E. Akciğer Kanseri Tanı-Tedavi-Takip İstanbul Konsensusu 2006. İstanbul:Nobel Tıp Kitabevleri, 2007:3
18. Adapted from Greenlee RT, et al. *CA Cancer J Clin.* 2000;50:16.
19. Alberg AJ, Samet JM. Epidemiology of lung cancer. *Chest.* 2003;123 Suppl 1:21-49.
20. Ahmedin Ja, Tivari RC, Murray T. *Cancer Statistics, CA Cancer J. Clin* 2004; 54:8-29.
21. Ries LAG, Miller BA, Hankey BF. et al. *Cancer Statistics Review, 1973-1978.* Bethesda, MD:US Government Printing Office 1991.
22. Landis SH, Murray T, Bolden S, Wingo PA. *Cancer statistics. CA Cancer J Clin.* 1999 Jan-Feb;49(1):8-31.
23. *Kanser bildirimlerinin değerlendirilmesi 1993-1994.* T.C. Sağlık Bakanlığı Kanser Daire Başkanlığı. Yayın no:582,Ankara 1997
24. Öztürk O. Akciğer kanserli vakalarda faz I ve faz II enzimlerinden sitokrom P 450 1A1 gen polimorfizminin ve glutatyon S-transferaz enziminin düzeyi ve gen polimorfizminin saptanması. 2000.
25. Gilliland FD, Samet JM. Lung Cancer. *Cancer Surv.* 1994; 19-20: 175-95
26. Jemal A, Thomas Murray T et al. *Cancer statistics, 2002 CA Cancer J Clin* 2002,52:23.
27. Akbulut H, Akbulut KG. *Karsinogenez. Tıbbi onkoloji.* 1997:23-38.
28. Turkish Thoracic Society, Lung and Pleural Malignancies Study Group. Pattern of lung cancer in Turkey 1994-1998. *Respiration* 2002; 69:207-10.

29. Wei Q, Spitz MR. The role of DNA repair capacity in susceptibility to lung cancer: a review. *Cancer Metastasis Rev.* 1997; 16 (3-4):295-307.
30. Amos CI, Xu W, Spitz MR. Is there a genetic basis for lung cancer susceptibility? *Recent Results Cancer Res.* 1999;151:3-12.
31. Loft S, Svoboda P, Kasahi H, Tjønneland A, Vogel U, Møller P, Overvad K, Raaschou-Nielsen O. Prospective study of 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine excretion and the risk of lung cancer. *Carcinogenesis* 2006; 27(6): 1245-1250.
32. Kotnis A, Sarin R, Mulherkar R. Genotype, phenotype and cancer. Role of low penetrance genes and environment in tumour susceptibility. *J. Biosci.* 2005;30(1):93-102.
33. Bouchardy D, Benhamou S, Jourenkova N, Dayer P, Hirvonen A. Metabolic genetic polymorphisms and susceptibility to lung cancer. *Lung Cancer* 2001;32: 109-112.
34. Peto R, Doll R, Buckley JD, Sporn MB. Can dietary beta-carotene materially reduce human cancer rates? *Nature.* 1981 Mar 19;290(5803):201-8.
35. Wald NJ, Nanchahal K, Thompson SG et al. Does breathing other people's smoke cause lung cancer? *BMJ* 1986;293:1217-1222.
36. US Department of Health and Human Services (US DHHS). The health benefits of smoking cessation a report of the surgeon general. US DHHS Publication No:908416. Washington, DC:US Government Printing Office. 1990.
37. Hoffmann D, Hoffmann I, El Bayoumy K. The less harmful cigarette: a controversial issue. A tribute to Ernst L. Wynder. *Chem Res Toxicol* 2001;14:767-90.
38. *Journal of Toxicology and Environmental Health.* Volume:68, Number:19, October 08, 2005.
39. Hecht SS, Hochalter JB, Villalta PW, Murphy SE. 2'-Hydroxylation of nicotine by cytochrome P450 2A6 and human liver microsomes: formation of a lung carcinogen precursor. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000; Nov 797(23):12493-7.
40. The Adam Health Illustrated Encyclopedia-NLM. Lung Cancer smoking hazards. 1997-2008, Adam.
41. Minna JD, Roth JA, Gazdar AF. Focus on lung cancer. *Cancer Cell* 2002; 1:49-52

42. Asami S, Hirano T, Yamaguchi R, Tomioka Y, Itoh H, Kasai H. Increase of a Type of Oxidative DNA Damage, 8-Hydroxyguanine and Its Repair Activity in Human Leukocytes by Cigarette Smoking. *Cancer Research* 1996; 56: 2546-2549.
43. Janerich DT, Thompson WD, Varela LR, Greenwald P, Chorost S, Tucci C et al. Lung Cancer and exposure to tobacco smoke in the household. *N Eng J Med* 1990;323:632-6.
44. Anthony J, Alberg D, Rex C, Jonathan M. Epidemiology of lung cancer. In: Mason J, Murray JF, Boaddus VC, Nadel JA (Eds.). *Murray and Nadel's Textbook of respiratory medicine Philadelphia:Elsevier Saunders; 2005:p.1328-54*
45. US Department of Health and Human Services (US DHHS). The health consequences of involuntary smoking: a report of the surgeon general. US DHHS Publication No:(CDC) 87-8398 Washington,DD:US Government Printing Office.1986.
46. Pinto SS, Henderson V, Enterline PE. Mortality experience of arsenic-exposed workers. *Arch Environ Health.* 1978;Nov-Dec;33:325-31.
47. Alderson MR, Rattan NS, Bidstrup L. Health of workmen in the chromate-producing industry in Britain. *Br J Ind Med.*1981;May;38:117-24.
48. Petersen E, Hogetveit AC, Andersen A. Cancer of respiratory organs among workers at a nickel refinery in Norway. *Int J Cancer.*1973 Jul 15;12:32-41.
49. Minna JD, Pass H, Glatstein E et al. Cancer of lung. In:devita VTY, Hellmann S, Rosenberg SA, eds. *Cancer: principles&practice of oncology, Philadelphia: Lippincott, 1989;591-705.*
50. Steinmetz KA, Potter JD, Falsom AR, et al. Vegetables, fruit and lung cancer in the Iowa woman's health study. *Cancer Res* 1993,53:536.
51. Foksinski M, Gackowski DI, Rozalski R, Siomek A, Guz J, Szpilla A. Effects of basal level of antioxidants on oxidative DNA damage in humans *Eur J Nutr* 2007.
52. Boffetta P, Hashibe M. Alcohol and cancer. *Lancet Oncol* 2006;7:149-56.
53. Adkolfer F. Lung cancer due to passive smoking-a review. *Int Arch Occup Environ Health* 2001; 74(4):231-41.
54. Alyson J. Littman, Mark D. Thornquist, Emily White, Lisa A. Jackson, Gary E. Goodman, Thomas L. Vaughan. Prior lung disease and risk of lung cancer in a large prospective study. *Cancer Causes and Control* 2004; 819: 819-827.

55. Yang P, Schwartz AG, McAllister AE, Swanson GM, Aston CE. Lung cancer risk in families of nonsmoking probands: heterogeneity by age at diagnosis. *Genet Epidemiol* 1999;17(4):253-73.
56. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. 2000: Temel patoloji. Philadelphia Saunders.
57. Aydiner A, Topuz E. Akciğer Kanseri Tanı-Tedavi-Takip İstanbul Konsensusu 2006. İstanbul:Nobel Tıp Kitabevleri, 2007:4
58. Fong KM, Minna JD. Molecular biology of lung cancer: clinical implications. *Clin Chest Med* 2002;23(1):83-101.
59. Köktürk N, Öztürk C, Kırıçoğlu CE. Akciğer kanseri moleküler biyolojisi. *Solunum Dergisi*, 2003;5:127-38.
60. Sarasin A. An overview of the mechanisms of mutagenesis and carcinogenesis. *Mutant Res/Rew*, 2003;15:99-106.
61. Hartl D, Andrew G. Principles of population genetics. Sinauer Associates, Sunderland, 1997;56-75.
62. Weber W W. Pharmogenetics, Oxford University Press, London, 1997;3-18.
63. Vineis S. Relationship between polymorphism of xenobiotic metabolising enzymes and susceptibility to cancer. *Toxicology*, 2002; 24:457-462.
64. Iskander K, Jaiswal AK. Quinone oxidoreductases in protection against myelogenous hyperlasia and benzene toxicity. *Chemico-Biological Interactions*, 2005;153: 147-157.
65. Jaiswal AK. Regulation of genes encoding NAD(P)H:quinone oxidoreductases. *Free Radic Biol Med*. 2000;Aug;29(3-4):254-62.
66. Xu LL, Wain JC, Miller DP, Thurston SW, Su L, Lynch TJ, Christiani DC. The NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 gene polymorphism and lung cancer:differential susceptibility based on smoking behavior. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2001;Apr;10(4):303-9.
67. Cenas N, Anusevicius Z, Nivinskas H, Miseviciene L, Sarlauskas J. Structure-activity relationships in two-electron reduction of quinones. *Methods Enzymol*. 2004; 382:258-77.
68. Lind C, Hochstein P, Ernster L. DT-diaphorase as a quinone reductase:a cellular control device against semiquinone and superoxide radical formation. *Arch Biochem Biophys*. 1982;Jun;216(1):178-85.

69. Sørensen M, Autrup H, Tjønneland A, Overvad K, Nielsen OR. Genetic polymorphisms in CYP1B1, GSTA1, NQO1 and NAT2 and the risk of lung cancer. *Cancer Letters*. 2005;221:185-190.
70. Chen S, Wu K, Know R. Structure-Function Studies of DT-Diaphorase (NQO1) and NRH: Quinone Oxidoreductase (NQO2). *Free Radical Biology & Medicine*. 2000;29(3/4): 276-284.
71. De Flora S, Bennicelli C, D'Agostini F, Izzotti A, Camoirano A. Cytosolic activation of aromatic and heterocyclic amines: inhibition by dicoumarol and enhancement in viral hepatitis B. *Environ. Health Perspect*. 1994;6:69-74.
72. Sarbia M, Bitzer M, Siegel D, Ross D, Shulz WA, Zotz RB, Kiel S, Geddert H, Kandemir Y, Walter A, Willers R, Gabbert HE Association between NAD(P)H: quinone oxidoreductase 1 (NQO1) inactivation C609T polymorphism and adenocarcinoma of the upper gastrointestinal tract *Int J Cancer*. 2003; Nov 10;107(3):381-6.
73. Siegel D, Ross D. Immunodetection of NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 (NQO1) in human tissues. *Free Radic Biol Med*. 2000; Aug;29(3-4):246-53.
74. Evine AJ. P53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell*. 1997; Feb 7;88(3):323-31.
75. Park SJ, Zhao H, Spitz MR, Grossman HB, Wu X. An association between NQO1 genetic polymorphism and risk of bladder cancer. *Mutat Res*. 2003; Apr 20;536(1-2):131-7.
76. Traver RD, Siegel D, Beall HD, Phillips RM, Gibson NW, Franklin WA, Ross D. Characterization of a polymorphism in NAD(P)H:quinone oxidoreductase (DT-diaphorase). *Br. J. Cancer*. 1997; 75:69-75.
77. Chao C, Zhang ZF, Berthiller J, Boffetta P, Hashibe M. NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 (NQO1) pro187ser polymorphism and risk of lung, bladder and colorectal cancers: a meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2006;15(5):979-987.
78. Lin P, Wang HJ, Lee HS, Lee H, Wang SL, Hsueh YM, Tsai KJ, Chen CY. NAD(P)H:quinone oxidoreductase polymorphism and lung cancer in Taiwan. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 1999; 58:187-197.

79. Kulak DD. NAD(P)H:Kinon Oksidoredüktaz 1 Gen Polimorfizmi İle Akut Lösemi Arasındaki İlişkinin İncelenmesi (tez). Ankara:Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü; 2006.
80. Zhou W, Thurston SW, Liu G, Xu LL, Miller DP, Wain JC, Lynch TJ, Su L, Christiani DC. The interaction between microsomal epoxide hydrolase polymorphisms and cumulative cigarette smoking in different histological subtypes of lung cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2001; May,10(5):461-6.
81. Rosvold EA, McGlynn KA, Lustbader ED, Buetow KH. Identification of an NAD(P)H:quinone oxidoreductase polymorphism and its association with lung cancer and smoking. *Pharmacogenetics*, 1995;5:199-206.
82. Yin L, Pu Y, Liu TY, Tung YH, Chen KW, Lin P. Genetic polymorphisms of NAD(P)H:quinone oxidoreductase, CYP1A1 and microsomal epoxide hydrolase and lung cancer risk in Nanjing, China. *Lung Cancer.* 2001;Aug-Sep;33(2-3):133-41.
83. Stern MC, Umbach DM, Lunn RM, Taylor JA. DNA repair gene XRCC3 codon 241 polymorphism, its interaction with smoking and XRCC1 polymorphisms and bladder cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2002; Sep;11(9):939-43.
84. Johne A, Roots I, Brockmoller J. A single nucleotide polymorphism in the human H-ras proto-oncogene determines the risk of urinary bladder cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2003; Jan;12(1):68-70.
85. Lewis SJ, Cherry NM, Niven RM, Barber PV, Povey AC. Polymorphisms in the NAD(P)H:quinone oxidoreductase gene and small cell lung cancer risk in a UK population. *Lung Cancer.* 2001; Nov;34(2):177-83.

## RESİMLEMELER LİSTESİ

### Şekiller:

### Sayfa

Şekil 1: Erkeklerde Kanser görülme sıklığı ve tahmini ölümler (17).....	4
Şekil 2: Kadınlarda Kanser görülme sıklığı ve tahmini ölümler (17).....	4
Şekil 3: Sigara ve Akciğer Kanseri Riski (39).....	7
Şekil 4: Sigara ve Akciğer Kanserinin Gelişimi Arasındaki İlişki (40).....	8
Şekil 5: Akciğer Kanserinde Cinsiyete Göre 2002 Yılı İnsidansı (1).....	9
Şekil 6: Akciğer Kanserinin Dünyadaki 2002 Yılı İnsidansı (1).....	9
Şekil 7: Akciğer Kanserinin Dünyadaki 2002 Yılı Mortalitesi (1).....	10
Şekil 8: Akciğer Kanserinin Dünyadaki 2002 Yılı Prevelansı (1).....	10
Şekil 9: NQO1 Enziminin Detoksifikasyon Şeması (69).....	15
Şekil 10: NQO1 Geninin Ekson 6'da Belirlenen Polimorfizminin Şeması (78)...	17

### Tablolar:

Tablo 1: Akciğer Kanserinin Histolojik Sınıflandırılması.....	11
Tablo 2: Akciğer Kanserindeki Genetik Değişiklikler ve Biyolojik Özellikleri (59).....	14
Tablo 3: Hasta DNA'larının İzolasyonunda Kullanılan Solüsyonlar.....	20
Tablo 4: Hasta Kanlarından DNA İzolasyon Yöntemi.....	21
Tablo 5: Kontrol Grubu Kanlarından DNA İzolasyon Yöntemi.....	22
Tablo 6: Kullanılan Primerler.....	23
Tablo 7: PZR Karışımı.....	23
Tablo 8: PZR Koşulları.....	24
Tablo 9: NQO1 Enzim Kesimi İçin Reaksiyon Koşulları.....	25
Tablo 10: Hasta ve Kontrol Gruplarının Özellikleri.....	27
Tablo 11: NQO1 Genotiplerinin Hasta ve Kontrol Gruplarındaki Dağılımı.....	29
Tablo 12: NQO1 Genotiplerinin Histopatolojik Türlerde Dağılımı.....	29

### Resimler:

Resim 1: DNA'ların UV Işık Altındaki Görünümü.....	26
Resim 2: MgCl <sub>2</sub> Titrasyonunun UV Işık Altındaki Görünümü.....	26



Resim 3: NQO1 Genine Ait PZR Görüntüsü .....	28
Resim 4: Hinf1 Enzimi Kesim Sonucu.....	28

## ÖZGEÇMİŞ

**Kamile Özkan**

**Doğum tarihi:** 15.05.1975

### **EĞİTİM:**

**1981-1986** Ankara, Halim Şaşmaz İlkokulu

**1986-1989** Ankara, Esenevler Lisesi

**1989- 1992** Ankara, İnönü Lisesi

**1993-2001** Edirne, Trakya Üniversitesi Fen –Edebiyat Fakültesi Fizik Bölümü

**1995-1997** Edirne, Trakya Üniversitesi Eğitim Fakültesi Pedagojik Formasyon Eğitimi  
(Tezsiz Yüksek Lisansı)

**2006-2008** Edirne, Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Yüksek  
Lisansı



T.C.  
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI  
YEREL ETİK KURUL BAŞKANLIĞI  
ETİK KURUL KARARLARI

Oturum Sayısı:16

Karar Tarihi:09.08.2007

15-Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu 09.08.2007 tarihinde; "Akciğer kanserli hastalarda NQ01 gen polimorfizminin araştırılması" adlı TÜTFEK 2007/123 protokol no.lu Yüksek Lisans Öğrencisi Kamile ÖZKAN'ın tez çalışmasını incelemek üzere toplandı. Prof. Dr. Betül Biner ORHANER, Doç. Dr. Dilek MEMİŞ, Doç. Dr. Betül Uğur ALTUN ve Av. Mustafa POLAT izni olmaları nedeniyle katılmadılar ve çalışmanın incelenmesine geçildi.

Yapılan inceleme sonunda çalışmanın Fakültemiz Biyofizik Anabilim Dalı'nda yapılacağı Yrd. Doç. Dr. Tamam SİPAHI'nin yürüttüğü olduğu araştırma protokolünün amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemler dikkate alınarak incelenmesi sonucunda; Helsinki Deklerasyonu Kararlarına, Hasta Hakları Yönetmeliğine ve etik kurallara uygun olarak hazırlandığına ve araştırma bütçesinin Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (TÜBAP) tarafından desteklenmesi koşuluyla yapılmasının UYGUN olduğuna mevcudun oybirliği ile karar verildi.

Ünvanı/Adı/Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Dikmen DÖKMECİ Başkan	Farmakoloji	T.Ü.T.F. Farmakoloji A.D.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yrd. Doç. Dr. Ümit N. BAŞARAN Başkan Yardımcısı	Çocuk Cerrahisi	T.Ü.T.F. Çocuk Cerrahisi A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Betül Biner ORHANER Üye	Çocuk Sağ. Ve Hst.	T.Ü.T.F. Çocuk Sağlığı ve Hst. A.D.	K	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	Katılmadı
Doç. Dr. Dilek MEMİŞ Üye	Anesteziyoloji	T.Ü.T.F. Anesteziyoloji A.D.	K	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	Katılmadı
Doç. Dr. Betül Uğur ALTUN Üye	Endokrinoloji	T.Ü.T.F. İç Hst. A.D.	K	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	Katılmadı
Doç. Dr. Gürcan ALTUN Üye	Adli Tıp	T.Ü.T.F. Adli Tıp A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yrd. Doç. Dr. Hakan ERBAŞ Üye	Biyokimya	T.Ü.T.F. Biyokimya A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yrd. Doç. Dr. Ufuk USTA Üye	Patoloji	T.Ü.T.F. Patoloji A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Ecz. Emine SAKMAN Üye	Eczacı	T.Ü.T.F. Başhekimliği	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Avukat Mustafa POLAT Üye	Ceza Hukuku	T.Ü. Rektörlüğü	E	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	Katılmadı

\* Araştırma ile ilişki

\*\* Toplantıda Bulunma

Doç. Dr. Levent ÖZTÜRK  
Dekan V.

Posta Adresi:

T.Ü. Tıp Fakültesi Dekanlığı

Gülkapoğlu Yerleşkesi

22030 EDİRNE

Tel: (0284) 235 76 53 – 235 73 73

Faks: (0284) 235 76 52

E-posta: dekanlik@trakya.edu.tr

Elektronik Ağ: http://tipfak.trakya.edu.tr