

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

**GASTROİNTESTİNAL SİSTEM KANSERLERİNDE
METİLENTETRAHİDROFOLAT REDÜKTAZ GENİ 677 C→T,
1298 A → C VE METİYONİN SENTETAZ GENİ 2756 A → G
POLİMORFİZMLERİNİN İNCELENMESİ**

**Tezi Hazırlayan
Nazife TAŞÇIOĞLU**

**Tezi Yöneten
Prof.Dr.Yusuf ÖZKUL**

**Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Eylül 2005
KAYSERİ**

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

**METİLENTETRAHİDROFOLAT REDÜKTAZ GENİ 677 C→T,
1298 A → C VE METİYONİN SENTETAZ GENİ 2756 A → G
POLİMORFİZMLERİNİN İNCELENMESİ**

**Tezi Hazırlayan
Nazife TAŞÇIOĞLU**

**Tezi Yöneten
Prof.Dr.Yusuf ÖZKUL**

**Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından SBY 04-17 nolu
proje ile desteklenmiştir.**

**Eylül 2005
KAYSERİ**

Prof.Dr.Yusuf ÖZKUL danışmanlığında Nazife TAŞÇIOĞLU tarafından hazırlanan "Gastrointestinal Sistem Kanserlerinde Metilentetrahidrofolat Redüktaz Geni 677 C→T, 1298 A → C ve Metiyonin Sentetaz Geni 2756 A → G Polimorfizmlerinin İncelenmesi" konulu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

21.09.2005

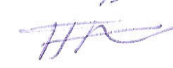
JÜRİ :

İmza

Üye : Prof.Dr.Yusuf ÖZKUL



Üye : Prof.Dr.Hamiyet DÖNMEZ ALTUNTAŞ



Üye : Yrd.Doç.Dr.Çetin SAATÇİ



ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun 08.11.05 tarih ve 342 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

08/11/05

Enstitü Müdürü
Prof. Dr. Meral TAŞÇIOĞLU



TEŞEKKÜR

Bu tezin hazırlanmasında benden hiçbir konuda desteğini esirgemeyen ve çalışmalarımı yönlendiren çok kıymetli hocam sayın Prof.Dr.Yusuf ÖZKUL'a teşekkürü bir borç bilirim.

Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'na ilk geldiğim günden beri yardım ve desteklerini benden esirgemeyen hocalarım sayın Prof.Dr.Munis DÜNDAR ve sayın Yrd.Doç.Dr.Çetin SAATÇI'ye teşekkürü bir borç bilirim.

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'ndaki sayın hocalarım Prof.Dr.Hamiyet DÖNMEZ ALTUNTAŞ, Prof.Dr. Halil DEMİRTAŞ ve Doç.Dr.Nurhan CÜCER'e teşekkürü bir borç bilirim

Ayrıca çalışmalarımda yardımını benden esirgemeyen öncelikle sevgili arkadaşım Serpil TAHERİ'ye, Arş.Gör.Okay ÇAĞLAYAN, Zehra TAMER ve tüm bölüm arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

Yüksek lisansa başladığım günden beri maddi ve manevi destekleri ile her zaman yanımda olan hayat arkadaşım Mehmet Emin TAŞÇIOĞLU'na, moral kaynağım canım kızım Şevval Ahsen TAŞÇIOĞLU'na,her zaman destek olan canım aileme teşekkür ederim.

**GASTROİNTESTİNAL SİSTEM KANSERLERİNDE MTHFR 677C→T, 1298
A→C ve MTR 2756A→G POLİMORFİZMLERİNİN İNCELENMESİ
ÖZET**

Metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) ve metiyonin sentetaz (MTR) genleri folat metabolizmasının anahtar rolü oynayan genlerindedir. MTHFR geninde 677C→T ve 1298A→C, MTR' de ise 2756 A→G polimorfizmleri en yaygın görülen polimorfizmlerdir. Çalışmamızda gastrointestinal sistem kanserli 64 hastanın (41 kolon ve 23 mide karsinomlu vaka) ve 40 sağlıklı kontrolün periferik kan örnekleri alınarak DNA izolasyonu yapıldı. MTHFR geninde 677C→T ve 1298A→C, MTR' de 2756A→G polimorfizmleri PCR ve RFLP analizi yapılarak belirlendi. 64 GİS kanserli hastada MTHFR 677CC, 677CT, 677TT genotipleri sırasıyla 26(%41), 31(%48), 7(%11); kontrol grubunda ise 15(%37,5), 23(%57,5), 2(%5) olarak tespit edildi. MTHFR 1298A→C polimorfizmi 64 GİS kanserli hasta arasında 34(%53)'ü 1298AC ve 29(%45,5)'u 1298AA; 40 sağlıklı kontrol arasında 20(%50)'si 1298AC ve 20(%50)'si 1298AA bulundu. Sadece bir hasta 1298A→C polimorfizmi açısından 1288CC (homozigot mutant) bulundu ancak bu sonuç istatistiksel bir değer ifade etmemektedir. MTR 2756 A→G polimorfizmi 64 GİS kanserli hastada 8(%5)' i 2756GG, 23(%45)'i 2756AG, 33(%50)'ü 2756AA olarak; 40 sağlıklı kontrolde ise 4(%10)'ü 2756GG, 16(%40)' sı 2756AG, 20(%50)' si 2756AA tespit edildi.

Bu bulgular GİS kanserlerinde MTHFR 677C→T ve MTR 2756A→G polimorfizmlerinin çok önemli olduğunu işaret etmektedir. Fakat bu genlerin polimorfizimlerinin folat düzeyleriyle ilişkilerinin incelendiği daha geniş hasta grubundaki çalışmaların bizim görüşümüzü destekler nitelikte olacağı kanısındayız.

Anahtar kelimeler: MTHFR, MTR, folat

**THE INVESTIGATION OF MTHFR 677 C→T, 1298 A→C AND MTR 2756 A→G
POLYMORPHISMS IN GASTROINTESTINAL CANCER**

ABSTRACT

Both methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and methionine synthases (MTR) are genes play key role in folate metabolism. The most common polymorphisms are MTHFR 677C→T, 1298A→C substitutions and 2756A→G polymorphism of MTR.

In Our study, peripheral blood samples we obtained from 64 GIS cancer's cases and 40 controls, DNA was extracted from these samples. MTHFR 677C→T, 1298A→C and MTR 2756A→G variant alleles were determined by PCR-RFLP assay. Frequencies of MTHFR 677CC, 677CT and 677TT genotypes were 26(%41), 31(%48) and 7(%11) in the GIS cancer's cases and 15(%37,5), 23(%57,5) and 2(%5) in the controls. Frequencies of MTHFR 1298AA and 1298AC genotypes were 29(%45,5), 34(%53) in the GIS cancer's cases and 20(%50), 20(%50) in the controls, respectively. For MTHFR 1298, we found homozygous mutant only one case of GIS cancer's but this finding haven't any statistical value. Frequencies of MTR 2756AA, 2756AG, 2756GG genotypes were 33(%50), 23(%45) and 8(%5) in the GIS cancer's cases and 20(%50), 16(%40) and 4(%10) in the controls, respectively.

In our study MTHFR 677C→T and MTR 2756A→G polymorphisms are very important sign for GIS carcinomas at the result. But the possible association of this gene polymorphisms with the folate levels, merits further study in larger populations and we think that this further studies will support our idea.

Key words: MTHFR, MTR, folate

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
İÇ KAPAK	I
KABUL VE ONAY SAYFASI	II
TEŞEKKÜR	III
ÖZET	IV
ABSTRACT	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ	IX
KISALTMALAR	X
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1.GASTROİNTESTİNAL SİSTEM TÜMÖRLERİ	2
2.1.1. Orofarengal Tümörler	2
2.1.2. Tükürük bezi Tümörleri.....	3
2.1.3. Özofagus Tümörleri.....	3
2.1.4. Gastrik Karsinoma.....	4
2.1.5. Duodenal(On İki Parmak Bağırsağı) Tümörleri	7
2.1.6. İnce Bağırsak Tümörleri.....	7
2.1.7. Kolon ve Rektum Tümörleri.....	8
2.1.7.1. Kolon KanserininTarihçesi.....	11
2.1.7.1.1. Major Genler.....	12
2.1.7.1.2. Minör Genler.....	12
2.1.7.2. Gen-Çevre Etkileşimi	12
2.2. KANSERİN GENETİK YAPISI.....	13
2.2.1. Genetik Polimorfizim Kavramı	14
2.2.1. Tıbbi Genetikte Polimorfizimlerin Kullanımı	15

	<u>Sayfa No</u>
2.3. FOLAT METABOLİZMASI.....	16
2.4. MTHFR	17
2.4.1. MTHFR Polimorfizimleri.....	17
2.4.2. MTHFR Eksikliği.....	19
2.4.3. MTHFR Popülasyon Sıklıkları.....	20
2.5. MTR	20
2.5.1. MTR Polimorfizimi	21
2.5.2. MTR Eksikliği.....	22
2.5.3. MTR Popülasyon Sıklıkları.....	22
2.5.4. Genotip Kombinasyonları.....	22
2.6. HOMOSİSTEİN.....	23
2.7. DNA METİLASYONU	24
2.7.1. DNA Metilasyonu ve Kanser	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM	27
3.1.GEREÇLER	27
3.1.1. Demirbaş Malzemeler	27
3.1.2. Sarf Malzemeler	28
3.2. YÖNTEMLER	29
3.2.1. Kan Örneklerinin Toplanması	29
3.2.2. Kandan DNA İzolasyonu.....	29
3.2.3. Moleküler Çalışma Basamakları	30
3.2.3.1. PCR	30
3.2.3.1.1. MTHFR 677 C→T PCR Programı	31
3.2.3.1.2. MTHFR 1298 A→ C PCR Programı.....	31
3.2.3.1.3. MTR 2756 A →G PCR Programı.....	31
3.2.3.2. PCR Ürünlerinin Elektforezi.....	32
3.2.3.2.1. Agaroz Jel Hazırlanması	32
3.2.3.3. PCR Ürününün Agaroz Jele Yüklenmesi	32
3.2.3.4. MTHFR 677C→T Polimorfizim Analizi	33
3.2.3.5. MTHFR 1298A→ C Polimorfizim Analizi.....	33
3.2.3.6. MTR 2756 A→G Polimorfizim Analizi.....	34

VIII

	<u>Sayfa No</u>
4. BULGULAR	35
4.1. PCR BULGULARI	35
4.2. RFLP ANALİZİ BULGULARI	35
4.2.1. MTHFR 677C→T Polimorfizim Analizi Bulguları	35
4.2.2. MTHFR 1298A→ C Polimorfizim Analizi Bulguları.....	36
4.2.3. MTR 2756 →G Polimorfizim Analizi Bulguları.....	37
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	40
6. KAYNAKLAR	46
ÖZGEÇMİŞ	

TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

<u>no</u>	<u>Sayfa</u>
Tablo 2.1. Çevresel faktörlerle kolorektal kanser ilişkisi.....	10
Tablo 3.1. MTHFR C677T, A1298C ve MTR A2756G polimorfizmleri için kullanılan primer dizileri.....	29
Tablo 4.1. MTHFR 677C→T, polimorfizminin mide ve kolon kanserli hastalarda ve kontrol gruplarında karşılaştırılması.....	35
Tablo 4.2. MTHFR 1298A→C polimorfizminin mide ve kolon kanserli hastalarda ve kontrol gruplarında karşılaştırılması.....	35
Tablo 4.3. MTR 2756 A→G polimorfizminin mide ve kolon kanserli hastalarda ve kontrol gruplarında karşılaştırılması.....	35
Şekil 2.1. İnsan folik asit metabolik yolunda MTHFR ve MTR' nin rolü.....	16
Şekil 4.1. MTHFR 677C→T polimorfizminin %2'lik agoroz jel görüntüsü.....	32
Şekil 4.2. MTHFR 1298A→C polimorfizminin %2'lik agoroz jel görüntüsü.....	33
Şekil 4.3. MTR 2756A→G polimorfizminin %2'lik agoroz jel görüntüsü.....	34

KISALTMALAR

APC	:	Adenomatous poliposis coli
FAP	:	Ailesel adenomatous poliposis coli
HNPCC	:	Ailesel non-poliposis kolorektal kanser
USA	:	Amerika Birleşik Devletleri
BRCA	:	Breast Cancer
THF	:	Dihidrofolik asit
CDH	:	E-coldherin
EDTA	:	Etilendiamintetraasetik asit
GİS	:	Gastrointestinal sistem
HP	:	Helikobakter Pylori
UK	:	İngiltere
DCC	:	Kolon kanseri delesyonu
MTHFR	:	Metilentetrahidrofolat redüktaz
Me Cbl	:	Metil kobolamin
MTR	:	Metiyonin sentaz geni
NAT	:	N-asetil tiansferaz
PCR	:	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RB	:	Retina Blastoma
CDKNZ	:	Siklin dependont kinaz
SAH	:	S-adeozilhomosistein
SAM	:	S-adenozilmetiyonin
CBS	:	Sistayonin B-sentaz
MMR	:	Uygunsuzluk tamir genleri

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kolon kanseri çeşitli genetik ve çevresel faktörleri içeren kompleks bir hastalıktır. Kırmızı etin fazla tüketimi, düşük meyve, sebze ve lif tüketimi ve yüksek alkol tüketimiyle ilişkilendirilen folat ve metiyoninin düşük alınması kolon kanserinin artışıyla ilişkilendirilmiştir. DNA metilasyonu ve DNA sentezi gibi birçok biyokimyasal yolda folat önemlidir. Folat eksikliğinde DNA'da bazların yanlış eşleşmesi, DNA hipometilasyonu ve insan kolon epitelyal hücrelerinde DNA tamirinin inhibisyonu gözlenebilir. DNA metilasyonundaki farklanmalar onkogenlerin ve tümör supressör genlerin anormal ekspresyonuyla sonuçlanabilir. Folat metabolizmasını da birçok gen etkiler. Bu genlerdeki DNA polimorfizimleri oldukça dikkat çekicidir. Bunlardan metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR C677T, A1298C) , metiyonin sentaz (MTR A2759G) metiyonin sentaz redüktaz (MTRR A66G), sistatyonin B-sentaz (CBS ekzon 8) ve timidilat sentaz (TS) en bilinenleridir. Polimorfizmlerin hepsi genotip sıklıkları, etnik ve coğrafik dağılımlar göstermektedir.

Bu çalışmada, gastrointestinal sistemde en sık gözlenen mide ve kolon kanserli hastalarda MTHFR C677T, MTHFR A1298C ve MTR A2756G gen polimorfizmlerinin Türk toplumunda sıklığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.GASTROİNTESTİNAL SİSTEM TÜMÖRLERİ

Gastrointestinal Sistem (GİS) tümörler sıkça gözlenen tümörler arasındadır. GİS etyolojisinde genetik etkilerin önemli olduğu, bunun yanında çevresel etkilerin de sürecin bir parçası olduğu bilinmektedir(1).

2.1.1.Orofarengeal Tümörler

Oral kanserlerin çoğu yassı hücreli malignansilerdir. Sıklıkları coğrafik bölgelere göre değişkenlik gösterir. Hindistan ve bölgelerinde çok yaygındır. Bu bölgede tüm kanserlerin %40'ını içerir. İngiltere de ise %1'den daha azdır. Yaşlılarda ve erkeklerde 2 kat fazla görülür(2). Fındık yaprağı ve tütün çiğnenen bölgelerde yüksek oranda belirlenmiştir (1).

Orofarinks bölgesinde oluşan malignansiler, lökoplakiden dolayı kalıtsal dermatolojik bir komplikasyon olabilir. Özellikle otozomal dominant durumlarda pakronensia kongenita ve X-e bağlı resesif durumlarda diskeratozis konjenitaya sebep olur(3). Submukozal fibrosis ve liken planus da premalignant lezyonlar olabilir. Çöliak hastalığı farangeal malignansi oluşumuna predispozisyon yaratır.

Fankoni anemisi görülen hastalarda sık görülen solid tümörler arasında orofarangeal kanserler dikkati çekmektedir(4).

2.1.2. Tükürük Bezi Tümörleri

Bu tümörler 100.000 kişide 1 sıklıkta tespit edilmiştir. Daha ziyade İspanyol, Eskimo, Kontom Çini ve Hindistan popülasyonunda sık görülür, fakat oluşumunda güçlü bir genetik temelden bahsedilemez(5). Karma tükürük tümörlerinin ailesel olguları sıkça bildirilmiştir. Fakat oluşumunun kalıtsal kaynaklı mı yoksa çevresel faktörler kaynaklı mı olup olmadığı henüz tespit edilememiştir(1).

Tümörlerin çoğunluğu (yaklaşık %80'i) parotis bezinde bulunur, bunu submandibuler bez ve damağın minör tükürük bezleri izler. Tüm tükürük bezi tümörlerin %80-85'ini benign mikst tümör (pleomorfik adenom) oluşturur. Parotisteki neoplazmların %75'i pleomorfik adenomdur(2).

Tükürük bezi adenomalarında yüksek oranda 7, 8, 9, 15, 18, 19, 21, 22 ve Y kromozomlarında yapısal ve sayısal hatalar gözlenir. 8q12, 3 ve 12 kromozomlarının katıldığı translokasyonlar tükürük bezi tümörlerinde gözlenmektedir(6, 7).

2.1.3. Özofagus Tümörleri

Klinik olarak yutma güçlüğü, kilo kaybı ve iştahsızlık ve bazen de ağrı veya hematemez ile kendini gösteren saldırgan bir tümördür. Genellikle yassı hücreli karsinomdur. %56 orta 1/3'de, %32 alt 1/2, %12 alt özofagusta gelişir %60 polipoid tarzdadır. Daha az olarak aberran mide mukozası, submukozal bezler veya Barret özofagusunun metaplastik silindirik epitelinden kaynaklanan adenokarsinom görülür(2).

Özofajit, epidermolizis bullaso, akalazyia ve çinko eksikliği bir yatkınlık oluşturur. Sigara içimi ve alkol tüketimi de sıklığını büyük oranda artırır (2) .

Özofagusta görülen yassı hücre karsinomlarının sıklığı coğrafik bölgelere göre değişim gösterir örneğin; İran, Çin ve Güney Afrika'nın Transkei bölgesinde yüksek sıklıkta, görüldüğü buna karşılık Avrupa ve Güney Amerika'da beyazlarda düşük sıklıkta olduğu tespit edilmiştir. Orofarangeal tümörler özofagus kanserinin yüksek gözlendiği bölgelerde daha da yaygındır (1).

Bu bulgular çevresel etkenlerin, karsinogenezis üzerinde major genetik faktörlerden daha etkili olduğuna işaret etmektedir bununla birlikte GİS kanser türlerinin gelişiminde etnik kökenin de önemli olduğu Mongol veya Türk toplumların da GİS kanserlerinde daha büyük risk altında olduğu kanısına varılmıştır. İngiltere'de özofageal kanserin

insidansı 100.000 de 6'dır ve erkeklerde daha yaygındır. Gözlenen özofagus kanserlerinin neredeyse tamamı (%98) yassı hücreli karsinomlardır(1).

Fankoni anemisinde özofagus kanserinin artmış riski vardır(4) APC gen lokusundaki heterozigotluk kaybı Barret özofagusundaki adenokarsinomunun klonal habercilerinde bildirilmiştir.9p21'in allelik kaybı ve CDKN2/p16'nın mutasyonu erken neoplastik lezyonlarda belirlenmiştir(8,9). Şaşırtıcı bir bulgu da Barret özofaguslu hastalarda kolonik kanserin artmış insidansının bulunmasıdır(10).

P53 tümör supresör gen anormallikleri ve retinoblastoma lokus allel kayıpları özofageal tümörlerin bir kısmında tanımlanmıştır. Ayrıca mikrosatellit düzensizlikleri (11-13) ve 9.kromozomun p kolundaki CDKN2 genindeki mutasyonlar rapor edilmiştir(14).

2.1.4. Gastrik Karsinoma

Midenin benign tümörleri yaygın değildir. Popülasyonun %1'den daha azında polipoid adenomalar olabilir ve intestinal metaplaziyle ilişkilendirilebilir, karsinomaya eğilimlidirler. Ailesel adenomatous polipozis koli, Cowden sendromunda ve Peutz Jeghers Sendromunda gastrik polipler oluşur. Mideyle sınırlandırılan gastrik poliposis bir ailenin 3 kuşağında belirlenmiştir (15).

Hiperplastik gastrik polipler gastrik poliplerle karşılaştırıldığında 5 kez daha yaygındır ve daha düşük malignansi riskine sahiptir. Pernisiöz anemi, ailesel adenomatous poliposis koli (16) Peutz-Jeghers sendromlarında (17,18) artmış sıklıkta bulunmuştur. Karsinoidler, lenfomalar, sarkomlar ve leiomyosarkomalar da midede ortaya çıkabilir. Bir ailede bir baba ve iki kız çocuğunda B hücreli gastrik lenfoma tanınmıştır (19).

Gastrik kanserin insidansı coğrafik dağılım gösterir, Japonya'da her 100.000 erkekte 88'i, İngiltere ve Amerika'da ise her 100.000'de 11 gastrik kanser gözlenmektedir. Gastrik kanseri histolojik olarak intestinal tip ve diffüz tip olmak üzere ikiye ayrılır. Gastrik Kanser erkeklerde kadınlara göre yaklaşık iki kat sıklıkta gözlenir. Genetik yatkınlığı düşündürülecek şekilde A kan grubundakilerde daha sık görülür(2). Etkilenen hastaların birinci derece akrabalarında iki ile üç kat arasında daha fazla gastrik kanser riski vardır, özellikle 50 yaş altındaki tanı konulan hastalarda Gastrik kanserin intestinal histolojik tipinde kronik gastritler, atrofi ve metaplazi öncesinde bulunur (20). Fakat diffüz histolojik tip tanımlanan haberci değişimlere sahip değildir(21). Literatürdeki hastaların eşlerinde gastrik kanserin artmış riski görülmemiştir (22). Çalışmaların

çoğunda gastrik kanser(özellikle diffüz tip) ve A grubu kan arasında ilişki gösterilmiştir. Pernisiöz anemide de gastrik kanser beklenenden daha yüksektir (23). Literatürdeki hastalara ilişkin gastrik kanser riski, diffüz tipin intestinal tipten daha ziyade yayıldığı bildirildiği görülmektedir (24). Gastrik karsinomanın diffüz tipi hemen hemen erkek ve kadınlarda eşit, daha genç yaştaki hastalara diffüz ve coğrafik göçte küçük değişimler, intestinal tipten ilişkili gösterilmiştir. Kronik atrofik gastrit, gastrik adenokarsinomalar ve pernisiöz anemili index hastalarıyla kıyaslandığında artmış sıklıkta bulunmuştur. Özellikle diffüz karsinomalı index hastalarının akrabalarında konrollerden daha sık olabileceği gösterilmiştir, bu diğer gastrik kanser tiplerinde görülmemektedir (25).

Kronik *helikobakter pilori (HP)* infeksiyonu, intestinal – tip kronik gastritler ve kanser şüphesi arasında bir ilişki olabileceği iddia edilmektedir. Mide kanserli hastalarda artan *HP* infeksiyonu rapor edilmektedir (26). Kronik gastritler kalıtsal bir komponente sahip olabilir, fakat bunun doğası ve *helikobakter* infeksiyonundaki ilişkisi açıkça bildirilmemiştir. *Menetrier* hastalığı da muhtemelen gastrik kanserin artmış bir riskiyle de ilişkilendirilmiştir çünkü atrofik gastrit etyolojik olarak bu hastalıkta gelişebilir (25).

Otozomal dominant kalıtım modeline uyan, gastrik kanserin daha yüksek oranda bulunduğu aile olguları rapor edilmiştir(27). Gastrik karsinoma kalıtsal nonpoliposis kolorektal kanserin bir komponentini meydana getirir (28,29).

Mide kanserinin artmış bir insidansı medullary veya tübüler histolojik tipli meme kanserli bayanların yakın akrabalarında işaret edilmektedir ayrıca bu ailelerin Li-Fraumeni sendromuna sahip olması muhtemeldir(30). Diğer taraftan gastrik karsinomada p53 gen mutasyonu bazı ailelerde tanımlanmıştır (31).

Midenin adenokarsinoması ailesel adenomatous poliposis koli'de bildirilmiştir (32). Ayrıca Ataxia telangiektasia ve immün eksikliği olan hastalarda daha sık olduğu rapor edilmiştir. Ig A eksikliği intestinal metaplasia ve gastrik kanserin artmış riskiyle ilişkilendirilmiştir. (33). Ig A eksikliği kalıtımı açık değildir ve multifaktöriyel olabilir(34). Gastrik kanser germline BRCA2 mutasyonu taşıyıcılarında artmış oranda bulunur (35). Gastrik karsinoma (özellikle intestinal tipte) HNPCC de bulunan kanserlerin spektrumlarının da bir parçasıdır ve böyle ailelerde replikasyon hatalarının karakteristik durumunu sergiler. HNPCC'deki gastrik karsinoma tanısında ortalama yaşın 56 olduğu bildirilmiştir (36). E-cadherin (CDH 1) genindeki germline

mutasyonlar öncelikle ailesel gastrik kanserli 3 Maori soyunda tanımlanmıştır, fakat bundan sonra Maori popülasyonunda bildirilmemiştir (37-39).

Ailesel gastrik kanser hastalarının sadece küçük bir kısmında CDH 1 mutasyonu ve heterojen lokusa sahip olduğu yayınlanmıştır. Germline CDH1 mutasyonlarının yayılan tip gastrik kanser ve diğer kanserlere hassasiyetle ilişkilendirilmesi muhtemeldir (1).

Gastrik adenokarsinomalarda kromozom 8 ve 9'un yapısal ve sayısal anormallikleri bulunmuştur. 1, 3, 7, 19 ve Y kromozomlarında da daha az anomaliler belirlenmiştir. p53 tümör süpressör gen mutasyonları anöploid gastrik kanser hücrelerinde sıklıkla fakat diploid olanlarda nadiren belirlenmiştir (40). P53 mutasyonları gastrik kanser gelişim sürecinde daha çok son aşamalarda devreye girmektedir (13). Mikrosatellit instabilitesi ailesel gastrik kanser hastalarının büyük bir kısmında gösterilmiştir (41, 42). Fakat ailesel gastrik kanser kümelerinin hepsinin germline bMLH mutasyonlarından dolayı olabileceği düşünülmemelidir(1).

Gastrik kanser konusunda etkili olan genetik değişiklikler arasında; onkogenlerin etkisi, mutasyonla ortaya çıkan tümör süpressör gen inaktivasyonu, tümör süpressör geni taşıyan kromozomlarda heterozigotluk kaybı (loss of heterozygosity; LOH) ve kısmen basit tekrarlayan sekanslarda DNA replikasyon hataları yer alabilir. Örneğin; c-ki-ras, c-erb-2, K-sam, Hst/int-2, c-met ve c-myc onkogenlerinde mutasyonlar ve/veya amplifikasyon over ekspresyonlar, p53, APC, DCC ve RB1 tümör süpressör genlerinin inaktivasyonu, hücre siklusu regülatör genleri (CDH;E-cadherin), uygunsuzluk tamir genleri (mismatch repair genes;MMR) ve kromozom 1q, 5q, 7q, 12q, 13q, 17p, 18q ve Y' yi içine alan bir veya daha fazla LOH'un rol oynadığına inanılmaktadır(43-45).

APC geni mutasyonları, kolorektal tümörgenezise benzer şekilde mide adenoma gelişmesinin erken safhasında meydana gelir(46,47). Genetik instabilite, neoplastik transformasyon GK ilerlemesinde güçlü bir etkiye sahiptir(48). Bu şekildeki genetik instabilite GK da iki formda sınıflandırılabilir. Bunlar; hipermutabilite ile meydana gelen mikrosatellit instabilitesi ve kromozomal instabilitedir (49,50).

2.1.5. Duodenal (On iki parmak bağırsağı) Tümörleri

Ailesel adenomatous poliposis koli hastalarının yaklaşık üçte biri duodenumdaki adenomaların riskiyle ilişkili olabileceği bilinmektedir (51). Ayrıca FAP'da karsinoma riskinin, özellikle periampuller bölge, %12'nin üzerinde olabileceği tahmin edilmektedir. İleal karsinoma daha az yaygındır. Böyle komplikasyonlar için düzenli üst gastrointestinal endoskopik inceleme tavsiye edilir (52).

2.1.6. İnce Bağırsak Tümörleri

İnce bağırsağın benign tümörleri yaygın değildir, en sık olanlar leiomyomave lipoma'dır. Malign ince bağırsak tümörleri de nadirdir. Tüm intestinal malignitelerin yaklaşık %1'i olarak hesaplanmıştır ve insidansı 100.000'de 0,5'dir. Görülme sıklıklarına göre adenokarsinomalar, karsinoidler, lenfomalar ve leiomyosarkomalar azalan oranda sıralanmaktadır(1).

Ailesel adenomatous poliposis koli bulunan hastaların %8'inde gastrik, %31'inde duodenal ve %53'ünde jejunal adenomalar rapor edilmiştir(53).

Kolektomi yapılan ailevi adenomatous poliposis koli hastalarında üst gastrointestinal sistem tümörü en yaygın ölüm sebebidir(54).

HNPCC'li ailelerde ince bağırsak adenokarsinomu bildirilmiştir. HNPCC'deki kanserlerin karakteristik replikasyon hataları gösterilebilir (55).

Crohn hastalığı genellikle kronik hastalarda ince bağırsak karsinomasının artmış riskiyle ilişkilendirilmiştir (56). Etkilenmiş bireylerin birinci derece akrabalarında yaklaşık %8 artmış risk vardır (57). Resesif kalıtım, azalmış penetranslı dominant kalıtım ve multifaktöriyel kalıtım kalıpları bildirilmiştir. Son çalışmalarda inflamasyon bağırsak hastalığına ilişkili olabilecek birkaç lokus saptanmıştır. Bu lokuslardan özellikle biri 16. kromozomun sentromer bölgesine yakın, diğer lokus ise 12. kromozomdadır. Genetik modelin kompleks olması muhtemeldir(58,59).

Koeliac hastalığı yetişkinlerde ince bağırsak lenfomasının ve karsinomasının artmış riskiyle de ilişkilendirilmiştir. İnce bağırsak lenfomaları immün yetersizlik durumlarının bir komplikasyonu gibi de gelişebilir (1).

2.1.7. Kolon ve Rektum Tümörleri

Kalın bağırsakda gözlenen malign hastalıklar en yaygın ölüm sebeplerindedir. İngiltere’de 100.000 de 32 sıklıkla gözlenir. Afrika ve Asya bölgelerinde daha az bir insidanstadır. Kalın bağırsak kanserlerinin neredeyse tamamı adenokarsinomalarıdır (%98). Kolon adenomalarının malignansi geliştirme potansiyeline sahip olduğu düşünülür ve hastalarının %75 inde her ikisi birliktedir (60). Adenomalar birincil karsinomadan daha fazla kolonda mevcuttur, bir veya daha fazla adenoma kolon karsinoma hastalarının yaklaşık üçte birinde mevcuttur. Karsinomaların çoğunluğunun adenomalardan gelişmesi muhtemeldir. Genel popülasyondaki solit kolonik poliplerin insidansı yaşla ilişkilidir, 60’lı yaşlarda %34’e varır ve 75 yaşın üzerinde %75’tir(61).

Kolon kanserinde önceden bulunan faktörlerden biri de muhtemelen kronik inflamasyondur. Örneğin; ülseratif kolitler ve Crohn hastalığı kolon karsinomasının artmış riskiyle ilişkilendirilmiştir(1).

Genetik faktörler kanserin patogeneğinde önemlidir ve kapsamlı aile hikayesi kolorektal kanserli tüm hastaların değerlendirilmesinin bir parçası olabilir. Riskin hesaplanmasında önemli olan konulardan biri de erken yaşta etkilenmiş akrabasının bulunmasıdır. Artmış kolon kanseri riskine sahip bireylerin tanımlanması önemlidir, çünkü taramalar yüksek riske sahip bireylere önerilebilir. Tarama ile kolorektal kanserden etkilenmeye bağlı morbidite ve mortalite oranları düşürülebilir(1).

Dominant kalıtım gösteren kolorektal kanser olgularının yaklaşık %5’i tahmin edilmektedir. Kolonik poliplerle ilişkilendirilen genetik durumlar artmış kolorektal kanser riski taşır. Bunlar ailesel adenomatous poliposis koli, juvenile poliposis, Turcot’s sendromu ve Peutz-Jeghers sendromlarıdır. Ailesel giant hiperplastik poliposis bulunması nadir bir ailesel sendromdur ve kolorektal kanser yatkınlığıyla tanımlanır (62). Ailesel adenomatous poliposis bahsedilen hastalıkların en yaygın görülenidir, fakat tüm kolon kanser hastalarının %1’inden daha azı için hesaplanmıştır. Kolon kanserinin daha geniş oranı kalıtsal non-poliposis kolorektal kanserdir (HNPCC), kolorektal kanserde otozomal dominant kalıtım beklenir, gerçekte Lynch sendrom olarak bilinir, bağırsak kanserleri yüksek sıklıkta erken bir yaşta vuku bulur (sporadik vakalardan ortalama 20 yıl daha erken).

DNA'nın uygunsuzluk tamir genlerinden birindeki mutasyonların hem "Lynch sendrom tip I" (kalıtsal alan-özel kolon kanser) hem de "Lynch sendrom tip II" (ailesel kanser sendrom)'de HNPCC'ye sebep olduğu bulunmuştur. Hastanın yapısal DNA'sıyla kıyaslandığında tümör DNA'sında multiple allelik değişimler ve genomik düzensizlik gösterilebilir(1).

Bağırsak kanserinin erken başlaması için gerekli şartlar bu hastalıklar arasında şu anda çok açık değildir. HNPCC diğer malignansilere bir meyile sebep olur (uterus, over, pankreas, mide ve üriner bölge). Muir-Torre sendrom kolon kanserine dominant kalıtıma meyillidir. Sebase adenomalar ve karakteristik deri lezyonlarıyla da ilişkilidir(1).

BRCA 1 ve BRCA 2 germline mutasyonlu bireylerde kolon kanserinin hafif artmış relatif riski vardır (63, 64).

Kolon kanseri hastalarının yaklaşık %10'unun bir etkilenmiş birinci derecede akrabaları vardır ve en az iki etkilenmiş birinci derece akrabaya sahiptir. Fakat HNPCC için "Amsterdam Kriterlerini" tamamen dolduran ailelerin sıklığı tüm hastalar içinde %5'ten daha azdır, en son tahminler %2'ye yakındır(65, 66).

Kolon kanserinin moleküler genetik çalışmaları çok basamaklı bir patogeneze için güçlü deliller sağlar. En az 5 genin sırasıyla dahil edilebileceği görülür. Başlangıçta kromozom 5q21 deki hem APC (FAPC genel) hem de MCC (Mutated Colon Cancer) geni mutasyonlarıdır ve sonra kromozom 18q ve 17 p'de ayrı ayrı sırasıyla K-ras onkogen, DCC (deleted colon cancer) geni ve p53 tümör süpressör gen mutasyonlarıdır. Bu mutasyonlara gen metilasyonu da dahil edilebilir. Kritik faktörün; onların özellikle sıralanmasından ziyade mutasyonların yığılması olduğu görülmektedir (67).

Mikrosatellit instabilite erken başlayan ailesel kolorektal kanserde çok yaygındır, özellikle proksimal tümörde, fakat HNPCC ailelerinde daha çok yaygındır (68).

Artmış riskteki kolon kanseri hastaların taranması erken ölüm ve kaçınılabilir mortaliteden korur. FAPC için riskteki bireylerin taranması, sınıflandırılması ve belirlenmesi için genetik testlerin faydası daha iyi anlaşılmıştır(1).

2000 yılında dünya çapında tahmini 943.000 yeni kolorektal kanser hastasına tanı konulmuş ve 492.000 hasta ölmüştür (69). Bu olguların 2/3'ü gelişmiş ülkelerde olmuştur. Erkekler arasında en yaygın üçüncü kanser, kadınlar arasında en yaygın ikinci

kanserdir (70). İnsidanstaki uluslar arası değişim önemlidir. Kolondaki kolorektal kanserlerin oranı %60'tan %70'e yükselmiştir (69).

Kolorektal tümör olayların %10'dan daha azı HNPCC ve FAPC'den dolayıdır. (71) Bu sendromlar hariç tutulduğunda kanser ve adenomaların hepsinde ailesel yatkınlık vardır. Çevresel faktörlerin ne kadar etkin olduğunun tam bir hesabı yoktur. Bu bilgi kolon kanserinde genetik faktörlerin potansiyel önemine, bunların yanında çevresel faktörlerin de etkisine işaret etmektedir(72-76).

1960'larda Amerika Birleşik Devletlerindeki Japon göçmenlerde yapılan çalışmalarda, kolorektal kanser etiyojisinde çevresel faktörlerinden beslenmenin önemini açıklanamaktadır (77). Bu hastalık için risk faktörleri tablo 2.1'de gösterilmiştir.

Tablo 2.1. Çevresel Faktörlerle Kolorektal Kanser İlişkisi(69)

Artan Risk	Azalan Risk
Fazla kilo	Fiziksel aktivite
Tütün içimi	Hormon yenileme terapisi
Alkol	Aspirin ve diğer steroidal olmayan antifyamatuar ilaçlar
	Sebzeler

Kolorektal kanserde dietin önemi her geçen gün artmaktadır(69). Gözlenen epidemiyolojik kanıtlar yüksek sebze alımının azalan riskle ilişkili olduğunu göstermiştir (69,75,76). Buna rağmen son yıllardaki çalışmalar bu ilişkinin kompleks olduğunu göstermiştir. Sebzeler, özellikle yeşil lifli sebzeler, major folat kaynağıdır. Serum folat, eritrosit folat, veya total folat alımının vaka-kontrol ve prospektif çalışmalarının çoğunda kolon kanser ve adenomalarıyla ters ilişkileri tespit edilmiştir (76, 78-92). Folat alımı ve rektal kanser arasında birbirini tutan ilişki yoktur (81,86,88-90, 93). Bazı çalışmalar alkol alımının, folat metabolizmasını ters yönde etkilediğini göstermiştir ve alkol ile kolorektal neoplazi arasında pozitif bir ilişki tesbit edilmiştir (94,95). Düşük metilli diyetler, yüksek alkol alımı ve düşük folat ve metiyonin (a vitamin B6 ve B12) alımı kolon kanserinin artmış riskiyle ilişkilendirilmiştir (81, 85, 86, 96).

p53, insan kanserlerinde en çok mutasyona uğrayan genlerden biridir. Normal p53 geni, apoptozis (programlanmış hücre ölümü) indüklemesinden yada replikasyon boyunca DNA onarımı kolaylaştırılmasında rol oynar (97).

p53 geninde oluşan mutasyonlar, kanser olgularında en sık rastlanan mutasyonların başında gelir. Örneğin kolon kanserlerindeki tümörlerin %75-80 de p53 geni ve bitişik lokuslar için heterozigotluk kaybı görülmektedir. Normal olarak p53 proteini hücre siklusunu düzenlenmesinde görevlidir. Diğer tümör supressör genlerinde benzer roller üstlendiği sanılmaktadır ve bu nedenle bu genlerin yokluğunda kontrolsüz hücre çoğalması gerçekleşir (98).

K-ras mutasyonları kolonda premalign adenomatöz poliplerde yaygın olarak meydana gelir. Başlangıç olay olmamasına rağmen Ras geni mutasyonlarının kolon karsinogenezisinin oluşumunda rol oynadığı bilinmektedir (99).

2.1.7.1 Kolon Kanserinin Tarihçesi

Birinci derecede akrabalar arasındaki kanser tarihçesi kanserin bir çok tipinde artmış riskle ilişkilendirilmiştir. Epidemiyolojik çalışmalar bir veya daha fazla birinci derece akrabasında kolorektal kanser bulunan bireylerde kolorektal kanser riskinin yaklaşık iki kat artmış olduğu kabul eder (100). Son zamanlarda Ponder (101), Pharaoh ve ark.(102) İngiltere'deki meme kanseri üzerine yaptıkları araştırmalarda çok sayıda düşük penetranslı genin çevresel faktörlerle kombinasyonunda meme kanseri riski artışında rol oynayabileceğini ileri sürdüler. Sadece birkaç ailede yüksek penetranslı, BRCA1 ve BRCA2 genlerinde mutasyonlar tesbit etmekle birlikte, diğer birçok ailede fazla miktarda düşük penetranslı genlerde polimorfizimler belirlediler. Bu bulgular bir poligenik modeli düşük-penetranslı genlerin bir araya gelmesi ile artan meme kanseri riskinde çok yönlü davranışındaki etkileşim modelini göstermektedir (103). Benzer bir model kolon kanserine de sağlanabilir. Paralel olarak, ailelerdeki kolon kanserinin toplamı sebepli ve sebepsiz faktörlerden olabilir. Sebebi bilinen açıklamalar :

1) Yüksek penetranslı genlerin ayrımı, örneğin Ailesel Adenomatous Poliposis Koli (FAP) da APC genindeki kalıtılan mutasyonlar veya kalıtsal non poliposis kolon kanserinde(HNPCC) uygunsuzluk DNA tamir genindeki (hMsh2, h MLH1) mutasyonlar

2) Daha yaygın düşük penetranslı genlerin toplamı, örneğin N-asetiltransferaz (NAT 1 ve NAT 2) ve MTHFR polimorfizimleri

3) Çevresel risk faktörlerinin toplamı

4) Çevresel faktörler ve genler arasındaki etkileşimler ve gen-gen etkileşimleri içerir.

Sebebi bilinmeyen açıklamalar ise şans, aile hikayesinin yanlış sınıflandırılması ve kolorektal kanser hastalarının akrabalarının artmış taramasını içerir (103).

2.1.7.1.1 Major Genler

Ailesel kolon kanseri sendromları 1800'lerin sonlarında bir ailede tanımlanmıştır(104). HNPCC olarak isimlendirilen ve bu sendromları açıklayan birkaç genin, örn hNSH2 ve hMLH1, kimliği saptanmıştır. Lynch ve Lynch (105). 1970'lerde bu sendromun ilave karakterizasyonunu yapmıştır. FAP'da, APC gen mutasyonları önemli rol oynar. Yüksek penetranslı genlerde gözlenen mutasyonlar genel popülasyondaki kolon kanseri hastalarının en fazla %15'inde görülebilir.

HNPCC'de DNA tamir genlerindeki mutasyonlar bireylerde daha genç yaşta gözlenir ve birinci derece akrabaları arasında daha erken başlama yaşına sahiptir (103, 106).

2.1.7.1.2.Minör Genler

Düşük penetranslı genlerin kolon kanserli ailelerde toplanması da muhtemeldir. Metabolik genlerdeki polimorfizmleri içeren aday genler, örneğin NAT1 ve NAT2, glutatyon – S – transferaz M1 (GSTM1) ve MTHFR'dır. NAT1 ve NAT2'deki polimorfizm bulunan bireyler pişmiş kırmızı etteki bulunan karsinojenlere karşı direnci bulunmaktadır. MTHFR, folat metabolizmasına dahil edilen bir enzimi kodlayan gen, polimorfizmleri kolon kanseri riskiyle ilişkilendirilmiştir (107). Kolon kanserli bir veya daha fazla hastalı ailelerde ilave polimorfizimler toplanması muhtemeldir. Slayt ve ark.(108) kolon kanserli bir aile hikayesi olan ve olmayan bireylerde birkaç riskli genotipte (NAT2, MTHFR ve GSTM1) sıklığını araştırdılar. NAT2 ve MTHFR genotiplerinin sıklığı iki grupta benzerdi, fakat bir aile hikayesi olan bireylerde GSTM1 geçersiz (riskte) genotipinin daha yüksek sıklığı vardı(103).

2.1.7.2. Gen – Çevre Etkileşimi

Kolon kanserinin artmış ailesel olgularında beklenen açıklamayı çevresel ve genetik faktörler paylaşır, fakat sadece birkaç çalışmada direkt olarak bu hipotez değerlendirilir(109, 110). Le Marchand ve ark. geniş bir popülasyon temelinde kolorektal kanserin vaka-kontrol çalışmalarında birkaç yaşam tarzı faktörüyle aile

hikayesi arasındaki etkileşimi incelediler. Bir aile hikayesi olan ve en üst seviyede alkol ve sığır eti alan erkeklerde kolon kanserinin artmış riski olduğunu gözlemlediler(110).

2.2.KANSERİN GENETİK YAPISI

Kanser terimi tek bir hastalık adı olmayıp temel nedeni, kontrolsüz büyüme olan malign tümörlerin tümüne verilen addır. Hücre çoğalması sonucu bir kitle haline gelen tümör (neoplazma) kendini saran komşu hücelere de saldırır ve sonraki evrelerinde tüm vücudu sarar (metastaz) (98).

Kanserde temel sorun hücre çoğalmasındaki kontrolün kaybolmasıdır ve çoğalma yada büyüme, gen kontrolü altında olduğuna göre genetik faktörlerde tüm kanser hücrelerinde etkilidir, şeklinde bir genelleme yapılabilir. Bununla beraber bazı kanser hücrelerinde primer faktör olarak herhangi bir anormal gen sorumlu tutulurken diğer bazılarında çevresel faktörler sorumlu tutulmakta ve dolayısıyla kontrolsüz hücre çoğalması sekonder faktör durumunu almaktadır. Fakat hangi faktör etkili olursa olsun tüm kanser türlerinin somatik hücrelerdeki mutasyon ya da mutasyonlar sonucu oluştuğu ve mutasyonların bir seri genin ekspresyonunu etkilediği artık bilinen bir gerçektir (98).

Kanserin başlangıcında farklı türlerde genlerin varlığı bilinmektedir. Bu grupta yer alan genler:

- ✓ Kontak inhibisyonun oluşumunda yer alan hücre komponentlerini
- ✓ Mitotik siklus regülatörlerini
- ✓ Programlanmış hücre ölüm komponentlerini
- ✓ Mutasyonların tanımlanması ve tamirinden sorumlu olan proteinleri kodlayan genlerdir (111).

Kanserin oluşumundan sorumlu farklı tipte mutasyonlar vardır. Bu mutasyonlar:

- ✓ Bir proto-onkogenin, bir allelinin fonksiyon kazandıran mutasyonla aktivasyonu;
- ✓ Bir tümör süpressör gene ait, bir allelinin dominant negatif mutasyonu ya da her iki allelin fonksiyon kaybı;
- ✓ Genlerin yanlış eksprese olmasına yada yeni bir fonksiyonel özellik kazandıran kimerik genlerin oluşumuna neden olan kromozomal translokasyonlardır.

- ✓ Olay bir kez başladığında; sitogenik yapının korunmasından ve DNA'da oluşabilecek hasarı tamirden sorumlu hücrel mekanizmaları kodlayan genlerin mutasyonu yada epigenetik sessizliği şeklinde ilave genetik hasarların biriken etkisiyle kanser yaygınlaşır (111).

Kanserde yer alan genler, iki temel alt gruba ayrılmaktadır: Onkogenler ve tümör süpressör genler. Onkogenler, çoğunlukla proto-onkogen adını verdiğimiz normal hücrel genlerin mutant (aktif olan) allelleri olmakla birlikte telomerazları kodlayan veya apoptozisi bloke eden genler de olabilirler. Onkogenler genellikle fonksiyon – kazandıran mutasyon özelliğine sahip olup, proliferasyonu stimüle etme, tümörün kanlanması artırma ve apoptozu engelleme gibi mekanizmalarla malign transformasyonu gerçekleştirmektedir. Tümör süpressör genler ise adlarından da anlaşılacağı gibi hücre büyümesini regüle ederek tümör gelişimini engelleyen genlerdir. Tümör süpressör genler tarafından kodlanan proteinlerin fonksiyon kaybı, kontrolsüz hücre bölünmesine, anormal hücre büyümesine ve defektif apoptozise neden olmaktadır (111).

Onkogen tümör süpressör genlerin dışındaki diğer bazı genlerde, karsinogenez metabolizmadaki rollerinden dolayı, kişilerin kansere olan predispozisyonundan sorumludurlar (98).

2.2.1. Genetik Polimorfizm Kavramı

Dünyadaki bir çok bireyin kromozomlarında aynı yerde bulunan DNA dizileri birbirine benzerlik gösterir. Popülasyonda iki farklı birey arasında DNA'nın yaklaşık 1000 baz çifti uzunluğundaki herhangi bir kısmı ortalama sadece bir baz çifti değişimi içerir. Bir genin belli bir lokusta yer alan alternatif kopyalarından her birine allel adı verilir. Alleller, yaygın olduğu zaman genel popülasyonda kromozomlarda %1 den daha fazla bulunur; bunlar da genetik polimorfizm olarak bilinirler. Aksine, zıt olarak alleller %1 den daha az sıklıkta ise, nadir değişimler (rare variants) olarak isimlendirilir. İntronlarda ve genler arasında lokalize olmuş DNA dizilerinde değişim gösteren bazı alleller vardır. Bunlar, herhangi bir genin fonksiyonu için önemsizdir ve sadece direkt DNA analizleri ile belirlenir. Genlerin kodlanan dizi değişimleri farklı protein çeşitliliğine, bu durum da farklı fenotiplerin ortaya çıkmasına sebep olur. Genetik hastalığa neden olan zararlı mutasyonların birçoğu nadir değişimlerdir. Ağır genetik hastalığa neden olan mutant

alleller genetik çeşitliliğin bir sonucudur. Birçok proteinin, farklı popülasyonlarda nispeten yaygın ve ayrılabilen şekillerde olduğu tespit edilmiştir.

Bu tip polimorfizimler, DNA dizilerindeki farklılıkların bir sonucu olmasına rağmen, DNA dizilerinin incelenmesinden ziyade, alleller tarafından kodlanan proteinlerdeki çeşitlilik incelenerek de, bazı polimorfik lokuslar çalışılabilir.

DNA analizlerinden çok, değişik proteinler üzerindeki çalışmalar, daha fazla bilgi verici olmaktadır. DNA dizilerinin değişimlerinden daha çok polimorfik allellerin ürünü olan bu proteinler, farklı fenotiplerden sorumludur. Bu nedenle, çevre ile birey arasındaki ilişkiyi, genetik çeşitliliğin nasıl etkilediğini bize açıklayan bu değişik proteinlerdir. Regülatör bölgede polimorfik alleller, genlerin transkripsiyonel regülasyonunu etkileyerek fenotiplerin belirlenmesinde önemli rol oynayabilir.

Herhangi bir bireyin, tüm lokusların yaklaşık %20 sinde allellerin yapısal olarak farklı polipeptidler için heterozigot olabildiği gösterilmiş; farklı etnik gruplardan bireyler mukayese edildiği zaman proteinlerin büyük bir kısmının tesbit edilebilen polimorfizmi gösterdiği saptanmıştır. Böylece kendi enzimlerinin yapılışını ve diğer gen ürünlerini içeren insan türleri içinde, önemli derecede biyokimyasal bireysellik (chemical individuality) vardır. Birçok biyokimyasal yoldaki ürün etkileşim halindedir(111).

2.2.2. Tıbbi Genetikte Polimorfizimlerin Kullanımı

Polimorfizimler, tüm insan genetik araştırmalarında anahtar niteliğindeki elementlerdir. Polimorfizimler genin farklı kalıtsal formlarını veya genomun farklı bölgelerini ayırt edebilmek için kullanılmaktadır. Genetik belirleyiciler tıbbi genetikte kullanım için pratiklik sunar. Bağlantı analiz yolu ile kromozomların belirli bölgelerindeki genlerinin haritalanması, genetik hastalıkta doğum öncesi tanı, genetik hastalıklarda heterozigot taşıyıcıların belirlenmesi, kronik kalp hastalığı, kanser ve diyabet gibi yaygın yetişkin hastalıklara yatkın kişilerin yüksek ve düşük risklerin değerlendirilmesi adli tıpta ve babalık testinde kullanım ve organ transplantasyonu için doku tiplenmesi tıbbi genetik kapsamı içindedir(111).

2.3.FOLAT METABOLİZMASI

Folat eksikliği nöral tüp defekti , kardio vasküler hastalıklar ve anemi ile bağlantılıdır.

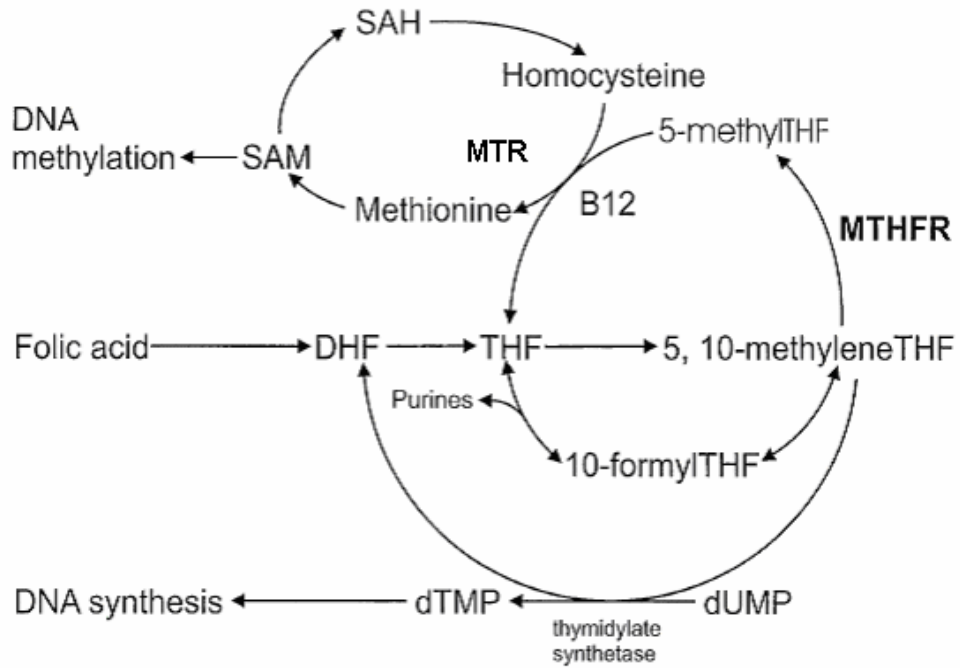
Folat eksikliğin kanser gelişimine dahil edilmesi sadece son zamanlardadır. Folatın kanserden koruyabilmesinin mekanizması çok açık değildir, fakat bu etki DNA sentezi ve DNA metilasyonunda folatın rolüyle ilgili olabilir. Epidemiyolojik çalışmalar mütemadiyen folat düzeyi ve kolorektal karsinomların sıklığı arasında ters bağlantı gösterir. Hayvan çalışmalarının sonuçları folat ilavesinin kanser riskini artırması veya azaltmasının dozaj ve zamanlamaya bağlı olabileceğini ileri sürmektedir. Folatın etkisi alkol, methionine ve MTHFR polimorfizmleriyle hafifletilmiş gibi görünmektedir (112).

Folat düzeyi bu genlerin polimorfizmleriyle potansiyel olarak alt üst edilebilir. Folat eksikliğinin malignansı etkilemesinde 2 mekanizma bulunması muhtemeldir (113).

1)Bir karbon transferi düşünüldüğünde, folat S-adenosil metiyonin (SAM)'ın sentezi için önemlidir. SAM DNA metilasyonunda önemli bir bileşiktir. DNA metilasyonu gen ekspresyonunda (112), DNA stabilizasyonunda ve mutagenesizde epigenetik bir belirleyicidir. Folat eksikliği DNA hipometilasyonuna ve böylece proteonkogenlerin aktivasyonuna sebep olabilir (113-115) ve / veya

2)Folat normal DNA sentezinde ve tamirinde önemlidir. Bu sebeple folat eksikliği DNA habercilerinde bir dengesizliğe (112), DNA sentezi esnasında urasilin yanlış birleşmesini teşvik ederek, DNA tamir felaketi, DNA kırıklığı ve kromozom hasarına yol açar. DNA kırıkları, kolorektal kanserler dahil neredeyse tüm insan kanserlerinde karakteristiktir (116).

Folat, MTHFR dahil birkaç enzimin katalizlediği metabolik transformasyonlarda gereklidir(Şekil 2.1.) (117).



Şekil 2.1. İnsan folik asit metabolik yolunda MTHFR ve MTR 'nin rolü

2.4. MTHFR

5,10-MTHFR folat metabolizmasında merkezi bir rol oynar. Folatın birincil forma sirkülasyonunda tersinmez olarak 5-10, metilentetrahidrofolatı, 5- MTHF'a çevirir (113). 5- metil THF de nova metiyonin sentezi için metil grup sağlar ve indirekt olarak DNA metilasyonuna katılır. DNA sentezi için deoksiüridülataın timidilata dönüşmesinde 5,10-metil-THF gereklidir (112, 116).

Gen 5,10 MTHFR'yi şifreler.(113) Gayette ve ark. (1994) floresans in stü hibridizasyon yöntemiyle' MTHFR geninin 1p36.3 de lokalizasyonunu belirlediler. Gen 150 kD'luk, 656 amino asitten oluşan homodimerik bir proteini şifreler. İnsanda MTHFR geni 11 exondan oluşur (118).

2.4.1. MTHFR Polimorfizimleri

MTHFR eksikliği (yetersizliği) olan hastalarla yapılan ilk çalışmalarında, bazı hastalarda spesifik enzim aktivitesinin termolabil olduğu belirlenmiştir. Kang ve ark. termolabil MTHFR'lı bireyler ve kalp hastalığı olan kişiler arasında yaptıkları araştırmalarında termolobil MTHFR'nin artmış insidansı olduğunu öne sürdüler. MTHFR geni klonlandıktan sonra, alanin →valin değişimiyle MTHFR'nin spesifik aktivitesinde %50-%60 azalmasıyla sonuçlanan 677 C→ T polimorfizmi gösterilebildi.

Bu allelik varyant için homozigot bireyler %15'in üzerindedir. 677C→T mutasyonu ayrıca 5-metil THF'in düzeyinin azalmasına ve DNA sentezi ve timidilat için 5-10 metil THF'in düzeyinin artmasıyla sonuçlanır (119).

Folat ve homosistein seviyelerinde 677 C→ T polimorfiziminin etkilerinin folat alımıyla değiştirebileceği bilinmektedir (119).

MTHFR ve DNA metilasyonu incelendiğinde bir çalışmada (677'deki) TT varyantlı bireylerin DNA'sı ile (1298) CC varyantlı bireylerin DNA'sı ile kıyaslandığında önemli derecede yüksek metil grup kapasitesine sahip oldukları bulunmuştur, fakat bu çalışma geniş çalışmalarla desteklenmemiştir(119).

677 C → T polimorfizimi kolon kanseri ve lösemi için koruyucu olabileceği bildirilmiştir. İlk çalışmalar T allelinin lenfatik lösemi için koruyucu olabileceği fakat myeloid lösemi için olmadığını ileri sürmektedir(119).

Genel popülasyonda MTHFR'nin termolabilitesi keşfedildikten sonra 677 C→T değişimiyle ilişkilendirilmiştir ve bu polimorfizm ile çeşitli hastalık tipleri arasındaki korelasyon araştırılmıştır(119).

Çalışılan hastalık tiplerine; Nöral tüp defekti, Alzheimer's hastalığı, kolon kanseri, lösemi, kardiovasküler hastalıklar, şeker hastalığı, Down sendromu, gebelik komplikasyonlarında dahil edilmiştir(119).

Kalp hastalığında 677 C→ T'nin etkisini gösteren erken çalışmaları yorumlamak zordur. Çünkü bu polimorfizm yükselmiş homosistein düzeyleriyle her zaman ilişkili değildi. Son çalışmalarda polimorfizm sadece düşük folat alan hastalardaki yükselmiş homosistein seviyesiyle ilişkili olduğu açıklanmıştır. Böylece bu polimorfizimin etkisinin bireyin beslenme düzeyine bağlanması mümkündür(119).

MTHFR'nin en yaygın ikinci polimorfizmi nükleotid 1298'deki A→ C substitüsyonununun içerir (112). Bu substitüsyon MTHFR proteininde C terminal kontrol bölgesinde glutamatın alanine değişimidir. MTHFR aktivitesinde yaklaşık %35 azalmayla ilişkilendirilmiştir fakat termolabil değildir ve plazma folatıyla bağlantısı gözlenmemiştir (112, 120). Ayrıca son bir çalışmada, bu polimorfizm için homozigot olan bireylerde diyetdeki total homosistein düzeyleri normal gösterilmiştir(119).

MTHFR 677 TT genotipindeki bireylerin yanı sıra 1298 CC genotipli bireylerde de akut lenfatik lösemnin riskinde azalma gözlemlenmiştir. İlaveten çift heterozigotlar (677 CT/1298 AC) normal bireylerle (TT) kıyaslandığında gelişen ALL riskinde önemsiz bir azalma gösterilmiştir(117).

Buna zıt olarak, Song ve ark, yaptığı vaka kontrollü bir çalışmada 1298 CC genotip 1298 AA genotipiyle kıyaslandığında özofagus yassı hücre karsinomasının yükselen riskiyle bağlantılı bulunmuştur. Bu ilişki şu şekilde açıklanabilir; MTHFR metil vericisi yapısı ve de nova nükleotid sentez aracılığıyla folat metabolizmasında merkezi bir rol oynamaktadır Bu metabolik yolun DNA sentez, tamir ve DNA metilasyonunun normal kalmasında kritik rol oynadığına inanılır. Düşük folat alımı durumunda hem bozulan DNA metilasyonu hemde DNA sentez/tamiri varyant MTHFR genotipe sahip olanlarda karsinogenezisin birincil mekanizması olabilir (117).

Polimorfik MTHFR lokusu endometrial, kanser, servikal intraepitelyal neoplasi (5-26) ve meme ve /veya overyum kanseriyle de ilişkilidir. Folat ve kobalamin metabolizmasındaki tüm genler birbirleriyle ilişkili olduğundan, Folat veya kobalamin yolundaki bir gendeki polimorfizmin varlığı ya da yokluğu kanser veya kalp hastalığı gibi yaygın multifaktöriyel hastalıklar için tek başına açıklanamaz(117).

2.4.2. MTHFR Eksikliği

MTHFR metilentetrahidrofolatın timidilat sentez için tek karbon vericisi, metiltetrahidrofolata, homosisteinin metiyonine yeniden metilasyonu için metil vericisi, redüksiyonunu katalizler. MTHFR tarafından katalizlenen bu reaksiyon tersinmez olduğundan, folatlara hem pürin hem de primidin metabolizmasında ihtiyaç hissedilir, sadece kobalamin-bağımlı metiyonin sentez reaksiyonu aracılığıyla fonksiyonel olarak azalmış folat havuzuna dönebilir(119).

Ciddi MTHFR eksikliği 85'den fazla yayınlanan vakada folat metabolizmasının en yaygın doğum hatasıdır. Major laboratuvar bulguları hiperhomosistenemia ve hipomethioninemia'dır. Çünkü timidilat sentez ve MTHFR'nin substratı metilentetrahidrofolatın eksikliği yoktur. Ciddi MTHFR eksikliği olan hastalar megaloblastik anemiye sahip değildir. Bu cbl E ve cbl G'lı hastaların ondan ayrılmasına yardım eder. Neonatal periyottan erişkinliğe herhangi bir yaşta klinikle ilgili bulgular olabilir, hastaların çoğu bebekte tanımlanmasına rağmen öncelikli bulgular nörolojiktir. Apne, gelişme geriliği ve senzures yaygın olmaktadır ve muhtemelen beyindeki

metiyoninin düşük seviyesiyle ilişkilidir. Diğer yaygın özellik thrombosisdir. Muhtemelen homosisteinin artan seviyesi aracılığıyla meydana gelir. Bazı yetişkinler tamamen semptomsuzdur ve sadece probandın teşhisinden sonra bir ailede tanımlanır. Gen kromozom 1p36.3'de klonlanmıştır ve bu zamana kadar 32 hastada 23 mutasyon bulunmuştur. Ciddi MTHFR eksikliğinde tedavi oldukça zordur ve betaine en yararlı terapi olmuştur(119).

2.4.3. MTHFR Popülasyon Sıklıkları

C677T varyantının sıklığının etnik ve coğrafi değişimi oldukça fazladır. TT oranı Amerika'daki siyah popülasyonda, sahra Afrikasının uç kısımlarında ve Güney Amerika'da %1 iken US Hispaniks, Kolombiya ve Brezilya'daki Amerindianlarda %20'nin üzerindedir. TT genotip sıklığı Avrupa'daki beyaz toplumda, Kuzey Amerika'da ve Avustralya'da %8-20'dir. Avrupa'da, kuzeyden güneye doğru varyant sıklığı artmaya meyillidir. Japonların %12'si TT homozigottur (113).

A1298C için, Kuzey Amerika çalışmalarında CC prevalansı, temelde beyaz tenli bireylerin dahil edildiği, %7-12 arasındadır. 4 Hispanik seride (n < 90), sıklık %4-5'tir. 2 Amerika Afrika serisinde CC'li bireyler %24'tür. Avrupa'daki çalışmaların çoğunda CC dağılım sıklığı %4-12 arasındadır. Çin, Japon ve Havai toplumlarında CC genotipli bireyler %1-4 arasındadır. Brezilya, Morocco, Güney Afrika, Türkiye ve İsrail Yahudilerindeki tek bir çalışmada sıklık sırasıyla %6 ,%3 ,%4 ,%6 ve %13'tür. Bazı serilerde, çok az sayıdaki bireyde 3 veya 4 varyant allele (677TT/1298AC, CT/CC, TT/CC) sahip oldukları rapor edilmiştir. Bazı serilerde çok az kişide üç veya dört varyant allel (örneğin; 677TT/1298AC, CT/CC, TT/CC) bildirilmiştir(113).

2.5. MTR GENİ

MTR geni 1.kromozomun q kolunun 42.3-44. bantındadır (121). Li ve arkadaşları insan MTR geninin 1.265 amino asitli bir proteini şifrelediğini tesbit etmişlerdir. MTR, MTRR tarafından aktif formunda korunur. MTRR ise 5. kromozomun p kolunun 15.3-15 bölgelerinde lokalize olmuştur(119).

Metiyonun Sentetaz, folat metabolizmasında önemli bir rol oynar. 5-metiltetrahidiofolattan homosisteine bir metil grubu transferini metiyonun ve tetrahidrofolata ayrılarak katalizler. (Şekil 2.1.) Metiyonin sentetaz, önemli bir amino asit ve SAM 'ın habercisi olan intraselüler metiyonun yeterli miktarda olması için

gereklidir. SAM, DNA metilasyonu dahil 1000'in üzerinde metilasyon reaksiyonlarını içeren çok önemli bir metil grup vericidir. Protoonkogenlerin promotor bölgelerinin hipometilasyonu veya tümör süpressör genlerin bu bölgelerinin hipermetilasyonu, hücrelerin transformasyon ve seçici büyümesine sebep olabilir. Büyüme düzenleme genlerinin, promotor bölgeleri ve onların transkripsiyonları inaktif olabilir, içerisindeki CpG adacıklarının de nova metilasyonu kolonik tümörlerde sıkça gözlemlenmiştir (122). Metiyonin Sentetaz ayrıca intraselüler folat havuzlarının yeterli miktarda kalması için ve homosistein konsantrasyonlarının toksik düzeye varmamasını sağlamak için de gereklidir.

Vitamin B12 veya metiyonin sentazın ciddi eksikliği hipomethioninemia, hiperhomosistenemia ve homosistinuriaya sebep olur. Ayrıca 5- metiltetrahidrofolatın yığılması ve timidilat sentezi için gerekli olan 5,10 metilentetrahidrofolat dahil intraselüler folat türevlerinin azalmasına da yol açabilir. “metil folat tutulmasının” kayıtları deoksinükleotid havuzunda dengesizliğe ve megaloblastik anemiye yol açabilir. Bu DNA’da deoksiüridilat yığılmasına yol açar ve bu anormal temelin kaldırılması DNA’dan hasar yapabilir. Bu da kolorektal kanserde yaygınca görülen kromozom kırıklıklarına sebep olabilir (122, 123).

2.5.1. MTR Polimorfizimi

Pernicious anemi, B12’nin yetersiz emiliminden kaynaklanan, özofagus, mide ve kolon kanser riskinin artmasıyla bağlantılıdır. Son zamanlarda, metiyonin sentetaz genindeki bir polimorfizim, (MTR 2756 A→G) aspartik asitin → glisine değişimiyle sonuçlanan, metiyonin sentaz eksikliği olan hastalarda ve sağlıklı kontroller arasında polimorfik olabileceği tespit edilmiştir (124).

2756 A→G polimorfizimi bu kişiler arasında ilk tespit edilen polimorfizim olmasına rağmen, bu polimorfizimin biyolojik etkisi bilinmiyor (124) 2756 bp’deki bu A→ G değişimi aspartik asitin (D919 G) glisine değişimine neden olur. D-919, kobalamin-bağımlı *E coli* metiyonin sentazda Q893’e karşı gelir. Bu çok yaygın homolog bakteriyel enzimdeki rezidüer kobalamin domaininden SAM bağlayıcı domainine yönelen uzun bir helix içindeki sondan bir evvelki pozisyondadır. Glisin rezidüleri aspartik asit ile kıyaslandığında daha güçlü helix kırıcı olarak kabul edilir, proteinlerin sekonder yapılarını etkileyebilir ve bu yüzden fonksiyonel neticesi olan, vitamin B₁₂, folat veya tHcy’nin düzeylerinin karışmasına yol açabilir (122).

2.5.2. MTR Eksikliği

Hücrede, kobalamin mitokondride Adenosil kobalamin(Ado cbl)e ve sitoplazmada Metil kobalamin(Me Cbl / cbl E)'e çevrilir. Me Cbl'nın sentezi kobalaminin hedef enzime metiyonin sentetaz, bağlanmasını takiben meydana gelir. Metiyonin sentaz gen ürünü(cbl G)ve metiyonin sentaz redüktaz gen ürünü (cbl E) hastalarında hiperhomosisternemia ve homosistinuria vardır. Çünkü metilmalonik asit (MMA) yoktur ve metiyonin seviyesi düşüktür. Klinik olarak bu hastalıkların ayrılabilmesi mümkün değildir ve sınıflandırılması genellikle somatik hücre tamamlama analizleri aracılığıyla yapılır. Megaloblastik anemi yaygındır fakat sıkça nörolojik ve hatta psikiyatrik semptomları daha göze çarpan özellikleridir. Bunlar gelişme geriliği, serebral atrofi, kasdaki değişimler, ataxia, felç ve EEG abnormaliteleri, nystagmus ve körlük. Yaşamın ilk yıllarında tipik derecede bulunmasına rağmen, bazı hastalıklar sadece yetişkinlikte mevcut bulunur, çok yönlü sklerozun ilk teşhisi 21 yaşındaki bir kadında konuldu (119).

Nörolojik değişimler tersinmez olabilmesine rağmen, Cbl G ve cbl E'nin tedavisi sistemik hidroksikobalamin ile ve genellikle hızlı hematolojik bir cevapla sonuçlanır (119).

Gen hem cblG hem de cblE klonlarından sorumludur. MTR geni, metiyonin sentetazı şifreler, kromozom 1q 43 üzerinde lokalizedir, ve cbl G hastalarında tespit edilmiştir, yaygın P1173 mutasyonu içerir (119).

2.5.3. MTR Popülasyon Sıklıkları

Japon, Çin ve Kore popülasyonlarında GG genotip sıklığı %2-3'tür. Avrupa serilerinin çoğunda bireylerin %3'ü GG genotipine sahiptir iki çalışma hariç Kuzey Amerika çalışmalarının hepsinde sıklık %1-5'tir. Bu iki serinin biri Kanada'daki beyaz çocuklar ve onların anneleri, diğeri ise Hawaii'deki beyaz insanlardır ve sıklık %10-11'dir. Afrika-Amerika popülasyonundaki tek bir çalışmadaki bireylerin %6'sı GG genotipine sahiptirler. 3 çalışmada genotip sıklıkları Hard-Weinberg yasasına uymamaktadır (113).

2.5.4. Genotip Kombinasyonları

Genotiplerin kombinasyonlarının sıklıklarının rapor edildiği çalışmaların çoğu küçüktür. İngiltere'deki 1.300'den fazla erkek üzerine yapılan geniş bir çalışmada %20'si hem MTR G hem de MTHFR T alleli taşıdıkları rapor edilmiştir (117).

2.6. HOMOSİSTEİN

Homosistein, proteinlerin yapısına katılmayan bir amino asittir. Normal olarak diyetle alınmaz. Vücuttaki tek kaynağı esansiyel bir aminoasit olan metiyonindir. Homosistein adenosil metiyonin-bağımlı transmetilasyon reaksiyonlarında metiyoninden sentezlenir. Metiyoninin yeniden metilasyonu iki farklı enzim yoluyla meydana gelir. Dokuların çoğunda bu reaksiyon metiyonin sentaz tarafından katalizlenir ve kofaktör olarak kobalamin (vitamin B₁₂)e substrat olarak metilentetrahidrofolat gerekir. Metilentetrahidrofolat, vitamin B₁₂'ye bağımlı enzim MTHFR'nin aracılığıyla yaygın folat havuzlarından gelir. Sonuçta sistatyonin B-sentez (CBS)'in katalizlediği vitamin B6 bağımlı iki sıra reaksiyonda homosistein sisteine, glutatyon'un habercisi olarak çevrilebilir.

Homosistein metabolizması bazı vitaminlerle yakından ilişkilidir ve homosistein metabolizmasındaki değişiklikler ateroskleroz, venöz tromboz, malignite ve nöral tüp defekti gibi patolojilerde önemli bir faktör olarak görülmektedir.

Hücrel homosistein metabolizması, metiyoninin kullanılabilirliği, homosisteinin metiyonine remetilasyonu ve sisteine transsülfürasyonu ile regüle edilir.

Plazma homosistein konsantrasyonları, genetik ve beslenme faktörleri tarafından regüle edilir. Plazma homosisteinindeki değişimler homosistein metabolizmasının yeniden metilasyonu yolları veya transsülfürasyondaki genetik veya çevre ilişkili hasarlardan sonuçlanabilir. Böylece, MTHFR plazma homosistein konsantrasyonunun düzenlenmesinde ve metiyonin havuzunun yeterli kalmasına da dahil edilir (125).

Hiperhomosistenemia kardiovasküler hastalıklarla ilişkilidir. Görülen risk sınıflandırılır ve yayılan risk faktörlerinden bağımsız ve tüm kroner arter hastalığı ölümlerinin %10'undan fazlası bu fenotipe atfedilir (USA'da yılda 50.000'in üzerinde) Hiperhomosistenemia ayrıca nöral tüp defektleri, inflamasyon bağırsak hastalıkları ve Alzheimer's hastalığıyla da ilişkilidir (119).

2.7.DNA METİLASYONU

Sitozin metilasyonu sitozinin 5.karbon atomuna bir metil grubu transfer edilerek yapılır ve oluşan baz 5-metil sitozin (5-mC) olarak adlandırılır. (126,127) Sitozinin metillenmesi bir enzimatik reaksiyon sonucunda oluşur. Genellikle 5-metilsitozin palindromik 5-CG-3' sekanslarında yer almaktadır. Memelilerde CpG dinükleotidlerin çoğunluğu metil grubu taşımaktadır (128).

CpG adaları 1 kb uzunluklarında olup, fonksiyonel genlerin 5'ucunda lokalizedirler. DNA metilasyonu ökaryotlarda da prokaryotlarda olduğu gibi konakçı hücre savunma mekanizması olarak yabancı DNA'ya karşı restriksiyon-modifikasyon sisteminin bir parçası olarak görev yapmaktadır (128).

Sitozinin metilasyonu metiltransferaz enzimleri aracılığıyla yapılır. DNA metil transferaz enzimleri bir metil donörü olan S-adenozil metiyoninden (SAM) metil grubu alarak sitozinin 5.karbon atomuna transfer ederler (126).

DNA metilasyonu hücre içinde meydana gelen epigenetik kalıtım ve hücre farklılaşması gibi birçok önemli görev yapmaktadır. Dokuya özgüdür. Metilasyon kalıtsaldır ayrıca iki DNA zinciri açısından spesifiktir. DNA yapısında taşıdığı 5-mC oranlarına göre hipometile, metile, hipermetile ve demetile DNA olarak gruplandırılır (129-131).

DNA metilasyonu ökoryotik hücrede; DNA tamiri, hücre farklılaşması, gen ekspresyonu, DNA replikasyonu ve transkripsiyonun başlatılması, mutagenesis, protorokogen aktivasyonu ve tümör baskılayıcı gen inaktivasyonu ile onkogenez ve apoptozis gibi bir çok önemli görevler yapmaktadır. Ökoryotlarda metilasyon derecesiyle gen ekspresyonunun derecesi arasında ters bir ilişki vardır (132,133).

2.7.1. DNA Metilasyonu ve Kanser

Normal DNA metilasyon modellerinin aksaması, insan kanser hücrelerinin yaygın işaretleri olarak tespit edilmiştir. Sağlıklı bir hücrede DNA metilasyon modelleri hücre bölünmelerinde muhafaza edilir. Metilasyon, hücre tipi için gerekli hücresel genlerin kurulması ve ekzogeneze dahil edilen sekansların ekspresyonunun bloklanmasında ekspresyona özgü izin verir(134). Kanser hücreleri CpGs adacıkları olarak isimlendirilen CpGs'lerde zengin birkaç küçük bölgenin hipermetilasyonuna eşlik eden global hipometilasyonun çift yönlü fenomenini sıkça sergiler (136). Malignant hücrelerde genelleştirilen 5-metil sitozin kaybı temelde dağınık CpGs'lerde, genlerin

yapısında ve ayrıca kendini tekrar eden sekanslarda meydana gelir. CpG adacıklarındaki değişen metilasyon birkaç tümör supressör genin, örn hMLH 1, VHL, CDH 1, p16 INK 4 α ve APC, promotor bölgelerin 5' ucunda lokalize olmuştur ve bu yakın genlerin ekspresyonunu kapatır (135). Çoğu tümör verilen bu genlerden biri için değişime kapatılmasına rağmen, promotor hipermetilasyonun yegane profilleri önemli biyolojik ve klinik sonuçla her tümör tipi için vardır (136).

Birkaç soru cevapsız kalmaktadır, bazı genlerin ve/veya özel tümörlerin global hipometilasyon veya lokal hipermetilasyonun farklı derecelerine sahip olmasına yöneltten bir hassasiyet faktörü var mıdır ? Bu soruya geçmişte farklı deneysel bakış açılarıyla yaklaşmıştır. CpG adacıklarının detaylı yapı çalışmalarında Sp1 bağlayıcı bölgelerinin metilasyona karşı koruyucu faktör olarak görev yapabileceği önerilmektedir. Fakat, Sp1 ile transfekte edilen fare CpG adacıkları metilasyon modellerinde değişim kanıtı göstermektedir. Diğer bir deyişle bazı CpG adaları metillenmeye daha meyilli olabilirler. Çünkü normal olarak metilenmiş, örn Alu sekansları ve diğer tekrar elementleri, bölgelerin arasında veya yanında bulunurlar ve oradan metilasyon dağılıbilir. Benzer bir yayılma hipotezi de son zamanlarda yaşa bağlı bir davranışta CpG adacıklarının sınırlarının etkilediği, örn beyin hücrelerinde, metilasyon gibi sunulmuştur. Fakat bugüne kadar etkilenen faktörlerden en geniş kabul DNA metilasyonun genetik temelli olduğudur. İlk olarak DNA metiltransferaz DNMT3b4'deki germline mutasyonlar 1,9 ve 16 kromozomların perisentromerik satellitlerinin hipometilasyonu ile sonuçlanır. İkinci, kromatin-remodeling factor ATRX'deki germline mutasyonlar, ATRX sendromunda (X-e bağımlı α - talassemia / mental retardasyon) meydana gelir ve olaya ribozomal DNA düzenleri, bir Y-spesifik satellit ve subtelemorik tekrarlardaki metilasyon değişiklikleri neden olur. Üçüncü de bir somatik DNMT1'in çıkarılmasıyla kanser hücre siklusunda juxtacentromerik satellitlerinin yeniden metilasyonu ile sonuçlanır. Son olarak 3 en bilinen DNA metiltransferaz (DNMT)'ları, DNMT1, DNMT3a ve DNMT3b, çıkarılmış farelerde hipometilasyonun birkaç derecesi tesbit edilmiştir (136-137).

Normal ve kanser hücrelerinin metilasyon derecelerini etkileyebilecek diğer daha yaygın ve doğal gerçekleşen faktörler var mıdır ? Metil grup metabolizmasına dahil edilen genler iyi adaylar olarak gösterilebilir ve bu süreçteki çevresel faktörlerin etkileşimine izin verir. Örneğin kolin ve metiyonin gibi metil grup donörlerinde veya folat ve

vitamin B₁₂ gibi metil grup metabolizmasının koenzimlerdeki diyetle yetersiz alınımla DNA hipometilasyonuna sebep olan intraselüler SAM düzeylerini değiştirebilirliği uzun süredir bilinmektedir. (şekil 2.1. metil-grup ağının metabolik yolu ve enzimatik komponentlerini gösterir.) DNA metilasyonu modellerindeki metil grup donörü SAM beslenmedeki metiyoninden sentezlenir ve yeterli hücrenel kaynağa bağlıdır. Fakat kullanılan metiyonin metilasyon reaksiyon ürünü S-adenozil homosisteinden de yeniden kazanılır. Bu tablodan 3 aday gen öne çıkar; Bunlar MTHFR bir metil grup vericisi olan metilentetrahidrofolatı sağlar; MS homosisteinin yeniden metilasyonu ile metiyonin meydana getirir. CBS homosisteini serine çeker (136).

Epidemiyolojik çalışmalar folat eksikliği gibi bazı çevresel risk faktörlerinin kanser türlerinde etkili olduğunu belirlemişlerdir. Folatın en büyük kaynağı olan meyve ve sebzelerin düşük tüketimi artmış özofageal yassı hücre karsinomu (117) ve kolon karsinomu ilişkisi bulunmuştur. MTHFR ve polimorfizmlerinin çevresel etmenlerle birlikte (düşük folat alınımları) kolon kanseri arasında ters bir ilişki bildirilmiştir(119). Biz de çalışmamızda türk popülasyonunda folat metabolizmasının önemli enzimlerinden MTHFR ve MS enzimlerinin yaygın polimorfizmlerini (MTHFR 677 C→T, MTHFR 1298 A→C, MTR 2756 A→G) araştırdık. Çalışmamız kolon ve mide kanseri tanısı konulan 64 hasta ve 40 kontrol periferel kan örnekleri alınmıştır. PCR ve RFLP analizi ile sonuçlar değerlendirilmiştir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.GEREÇLER

3.1.1.Demirbaş Malzemeler

- 1. PCR (PERKIN ELMER 9600)**
- 2. pH metre (Best.-Nr. 100 740)**
- 3. Vorteks (MS1 Minishaker IKA®)**
- 4. Santrifüj (Jouan)**
- 5. Hassas Terazı (Libror AEG-220)**
- 6. Derin Dondurucu (Arçelik)**
- 7. Buzdolabı (Arçelik)**
- 8. Otomatik Pipet (Abimed Langenfeld)**
- 9. Saf Su Cihazı (Millipore)**
- 10. Elektroforez(Bıozym TC)**
- 11. UV transilliminatör(Vilber Lourmat)**

3.1.2.Sarf Malzemeler

1. Amonyum Klorür (SIGMA Katalog Numarası A9434)
2. Potasyum Hidrojen Karbonat (SIGMA Katalog Numarası P-4913)
3. Ethylenediamine-Tetraacetic Asit (EDTA)
4. Sodyum Dodesil Sülfat (SDS) (MERCK Katalog Numarası 822050)
5. Amonyum Asetat (SIGMA)
6. Etanol (MERCK)
7. Tris (SIGMA Katalog Numarası T-1378)
8. Hidroklorik Asit (MERCK Katalog Numarası K24198114 732)
9. Sodyum Klorür (MERCK, Katalog Numarası 116224)
10. Proteinaz K (MERCK V163868814)
11. Fenol (MERCK Katalog Numarası K 21262000 444)
12. Kloroform(MERCK Katalog Numarası 242 K 18537631)
13. İzo-propanol (MERCK Katalog Numarası K 26165295 905)
14. Cam Malzemeler
15. Eppendorf Tüpleri
16. Distile Su
17. Tüplük
18. Borik Asit (Riedel-de Haen)
19. Etidium Bromid (SIGMA Katalog Numarası e-7637)
20. 10xPCR Tamponu (FERMENTAS)
21. dNTP (LAROVA)
22. MgCl (FERMENTAS)
23. Taq DNA Polimeaz (FERMENTAS)
24. Falkon tüpleri
25. Hinf I restriksiyon enzimi(TAKARA Katalog Numarası:1061A)
26. MboII restriksiyon enzimi(TAKARA Katalog Numarası:1145A)
27. HaeIII restriksiyon enzimi(TAKARA Katalog Numarası:1051A)

3.2. YÖNTEMLER

3.2.1. Kan Örneklerinin Toplanması

Çalışmamızda hasta ve kontrol gruplarından kan örnekleri alınmıştır. DNA izolasyonu yapmak için 0.3 ml EDTA üzerine 2ml kan olarak alındı.

3.2.2. Kandan DNA İzolasyonu

Kullanılan Solüsyonlar ve Hazırlanması

1- Red Cell Lisis solüsyonu:

155 mM Amonyum Klorür

10 mM Potasyum Hidrojen Karbonat

1mM EDTA

2- Cell Lisis solüsyonu:

25 mM EDTA

% 2 SDS

3- Protein presipitasyon solüsyonu :

10 M Amonyum Asetat

4- %70'lik etanol

70ml etanol

30ml distile su

Metod

- 1- 1 hacim kan üzerine 3 hacim soğuk Red Cell Lisis solüsyonu eklenir, altüst edilir ve 20 dakika oda ısısında bekletilir.
- 2- 2000 rpm' de 10 dakika santrifüj yapılır. Süpernatant kısmı atılır.
- 3- Dipte kalan lökosit pelleti iyice vortexlenir ve üzerine 1 hacim Cell Lisis solüsyonu eklenir. Yeniden vortexlendikten sonra 37 °C' de homojenize olana kadar bekletilir. (Örnekler homojenize olduktan sonra oda sıcaklığında 18 ay kalabilir).
- 4- Homojenize olduktan sonra üzerine 1/3 hacim protein presipitasyon solüsyonu eklenir. İyice vortexlenir. 3000 rpm' de 20 dakika santrifüj edilir.

- 5- Süpernatant kısmı temiz bir tüpdeki 1 hacim izopropanol üzerine alınır. Altüst edilir, DNA görülür. Kısa santrifüj yapılır, süpernatant kısmı atılır. Alttaki DNA pelleti % 70' lik etanol ile yıkanır. Etanol atılır ve oda sıcaklığında DNA kurutulur.
- 6- DNA örneği kuruduktan sonra üzerine distile su eklenir.

3.2.3.Moleküler Çalışma Basamakları

3.2.3.1.PCR

DNA'nın Polimeraz Zincir Reaksiyonları (PCR)'nda çoğaltılması, her bir polimorfizm için ayrı olmak üzere aşağıda verilen PCR miksleri hazırlandı. Bu mikslerde değişen sadece primer çiftleridir. Diğer parametreler değişmemektedir.

10xPCR Tamponu 5µl

dNTP(2,5mM) 3µl

MgCl (25mM) 3µl

Primer-1 (10pm) 3µl

Primer-2 (10pmol) 3µl

Taq DNA polimeraz (5U/µl) 0,5µl

DNA 5µg

Eklenir ve distile su ile total volüm 50µl' ye tamamlanır.

Tablo 3.1. MTHFR C677T, MTHFR A1298C, MTR A2756G polimorfizmleri için kullanılan primer dizileri

677CT P ₁ (sense)	5 '-TGAAGGAGAAGGTGTCTGCGGGA-3'
677CTP ₂ (antisense)	5'-AGGACGGTGCGGTGAGAGTG-3'
1298AC P ₁ (sense)	5'-GCAAGTCCCCAAGGAGG-3'
1298ACP ₂ (antisense)	5'-GGTCCCCACTTCCAGCATC-3'
2756AG P ₁ (sense)	5'-GAACTAGAAGACAGAAATTCTCTA-3'
2756AGP ₂ (antisense)	5'-CATGGAAGAATATCAAGATATTAGA-3'

3.2.3.1.1.MTHFR 677C→T PCR Programı

94°C 2dk. Denatürasyon periyodu

94°C	30sn		40 siklus
62°C	30sn		
72°C	30sn		

72°C 7dk. Ekstensiyon

3.2.3.1.2.MTHFR 1298A→C PCR Programı

92°C 2dk. Denatürasyon periyodu

92°C	1dk.		35 siklus
60°C	1 dk.		
72°C	30sn		

72°C 7dk. Ekstensiyon

3.2.3.1.3.MTR 2756 A→G PCR Programı

95°C 5dk→denatürasyon

95°C	30sn		30 siklus
82°C	30sn		
72°C	30sn		

72°C 10dk→ekstension

3.2.3.2.PCR Ürünlerinin Elektroforezi

PCR işleminin ardından hedef DNA bölgesinin amplifikasyonunun doğru gerçekleşip gerçekleşmediğinin kontrol edilmesi için PCR ürünleri jelde koşturulur.

3.2.3.2.1.Agaroz Jel Hazırlanması

Kullanılan solüsyonların hazırlanması

1-TBE Tamponu (10 X)

108 gr Tris

55 gr Borik asit

7,31 gr EDTA tartılarak 1lt'ye tamamlanır.

Kullanılacağı zaman stok 1/10 distile su ile sulandırılır.

2- Etidyum Bromür (%1'lik):

0,2 gr etidyum bromür hassas terazide dikkatlice tartılarak 20 ml' ye tamamlanır.

3- YüklemeTamponu

3gr Ficoll 400

50mg Xylene Cyanole FF

2gr Bromofenol Blue

20ml distile su

% 2' lik Agaroz Jel Hazırlanması:

2 gr Agaroz, TBE tamponu ile 100 ml' ye tamamlanır, kaynatılarak erimesi sağlanır, jel kalıbına dökmeden önce yaklaşık 65 °C'ye kadar soğutulur. İçerisine 4,5µl etidyum bromo eklenir, karıştırılır ve jel kalıbına dökülür, kuyucukların oluşmasını sağlayan tarak takılır ve donmaya bırakılır.

3.2.3.3.PCR Ürününün Agaroz Jele Yüklenmesi

Jelin ilk ve son kuyucuğuna ürünün bant boyutunu karşılaştırmak amacıyla DNA boyut markını yüklendi. PCR ürününden 0,5'lik ependorf tüpe 13µl alındı ve üzerine 2µl yükleme tamponu eklendi. Mikropipetle karıştırıldıktan sonra sırasıyla her bir PCR ürünü kuyucuğa yüklendi. % 2' lik agaroz jelde 75 V 30 dakika elektroforez yapılır.

3.2.3.4.MTHFR 677C→T Polimorfizm Analizi

Enzim Muamelesi;

MTHFR 677C→T polimorfizminde C→ T baz çiftinin değişimi bir HinfI (G↓ANTC) restriksiyon bölgesi oluşturur HinfI restriksiyon muamelesi;

2,5µl buffer

2,5 U(0,5µl) enzim (HinfI)

15µl PCR ürünü

distile su ile 25µl' ye tamalınır. 37°C' de 1 gece inkübe edildi.

Elektroforez İşlemi;

Enzimle kesilmiş PCR ürünleri %3'lük agaroz jelde koşturuldu. Yabanıl tip (677CC) 198 bp'de tek bant gösterir, heterozigotlar(677CT) 198,175 ve 23 bp fragmentlerini gösterir. Homozigot mutantlar(677TT) 175 ve 23 bp fragmentleri gösterir.

3.2.3.5.MTHFR 1298 A→C Polimorfizm Analizi

Enzim Muamelesi;

MTHFR 1298A→C polimorfizminde A→C baz çiftinin değişimi bir MboII (GAAGA(N)8/7↓) Crestriksiyon bölgesi oluşturur. MboII restriksiyon muamelesi;

2,5µl buffer

2,5 U(0,5µl) enzim (MboII)

15µl PCR ürünü

distile su ile 25µl' ye tamamlanır. 37°C' de 1 gece inkübe edildi.

Elektroforez İşlemi;

Enzimle kesilmiş PCR ürünleri %3'lük agaroz jelde koşturuldu. Yabanıl tip (1298AA) 56, 31, 30, 28 ve 18 bp'lıl 5 fragment gösterir. Heterozigotlar (1298AC) 84, 56, 31, 30, 28 ve 18 bp'lık 6 fragment gösterir. Homozigot mutantlar(1298CC) 84, 31, 30 ve 18 bp'lık 4 fragment gösterir. Majör görünür bantlar 84 ve56 bp'lık bantlardır.

3.2.3.6.MTR 2756 A→G Polimorfizm Analizi**Enzim Muamelesi;**

MS 2756A→G polimorfizminde A→G baz çiftinin değişimi bir HaeIII (GG↓CC) restriksiyon bölgesi oluşturur.HaeIII restriksiyon muamelesi;

2,5µl buffer

2,5 U(0,5µl) enzim (HaeIII)

15µl PCR ürünü

distile su ile 25µl'ye tamamlanır. 37°C' de 1 gece inkübe edildi.

Elektroforez İşlemi;

Enzimle kesilmiş PCR ürünleri %3'lük agaroz jelde koşturuldu.Yabanıl tip allel (2756AA) 189 bp'de görüntülenir. Mutant allel 159 ve 30 bp' lik bantlarda görüntülenir.

4. BULGULAR

Bu çalışmaya 23 mide ve 41 kolon karsinomlu hasta DNA rnekleri alınmıştır. 40 sağlıklı kişinin periferel kandan izole edilen DNA rnekleri de kontrol amaçlı olarak alınmıştır.

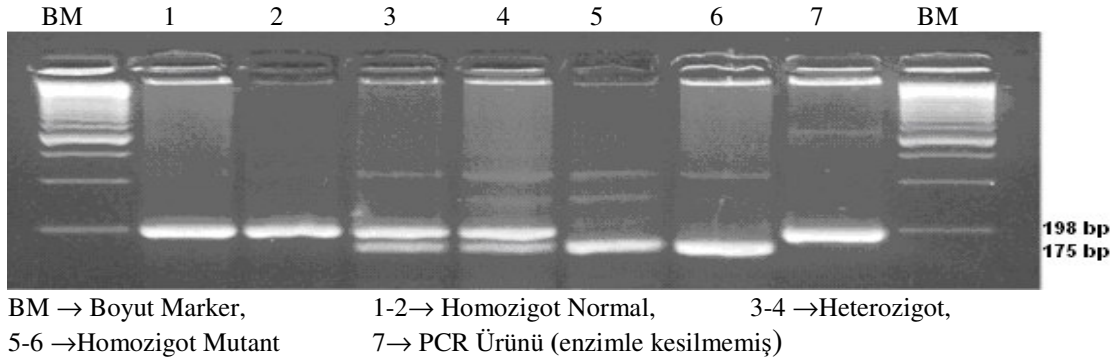
4.1. PCR BULGULARI

DNA'sı elde edilen hasta ve kontrol grupları PCR'da amplifiye edildikten sonra ürünler %2'lik agoroz jelde kosturularak değerlendirildi. Hasta ve kontrol örneklerinde MTHFR 677CT 198 bp'de MTHFR 1298AC 163 bp'de, MTR 2756AG 189 bp'de ilk PCR rnleri oluşturuldu.

4.2. RFLP Analizi

4.2.1. MTHFR 677C→T Polimorfizimi

PCR ile amplifiye edilen gen rnleri Hinf I restriksiyon endonükleaz ile muamele edildi. MTHFR 677CT polimorfizimi için %2'lik agoroz jelde koşturularak yababil tip (677CC), heterozigot (677CT) ve homozigot (677TT) olguları tespit edildi.



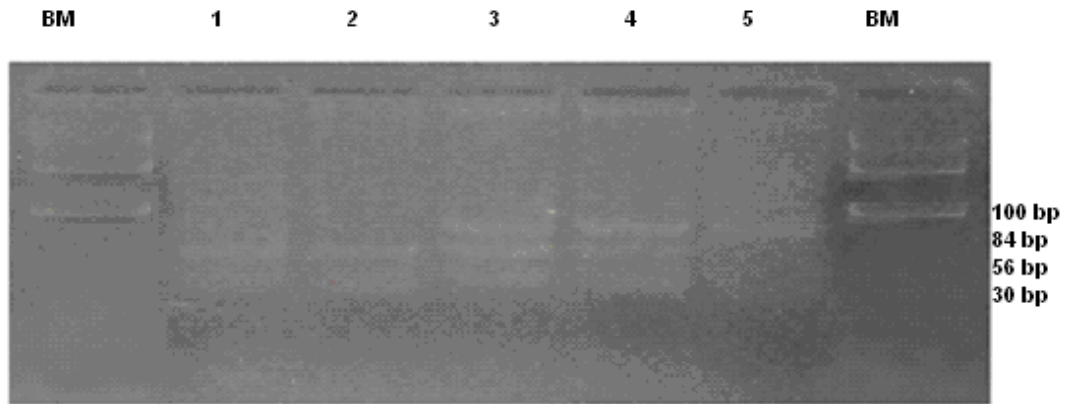
Şekil 4.1. MTHFR 677 C→T Polimorfizminin %2'lik agoroz jel görüntüsü.

MTHFR 677CC ve 677TT için allel sıklıkla 40 kontrol arasında sırasıyla % 37,5 ve % 5 mide kanserli vaka arasında ise sırasıyla % 35 ve %13 olarak tespit edildi. Heterozigot formda (CT) ise kontrol (%57,5) ve hasta (%52) gruplarında çok önemli bir fark gözlenmedi(Tablo 4.1).(Khi kare testi uygulandı $p>0.05$ bulundu.)

MTHFR 677CC ve 677CT genotipinin kolon kanseri vakalarında %44 ve %46, kontrol amaçlı vakalarda ise %37.5, %57.5 olarak tespit edildi. MTHFR 677 varyant allel için homozigot olan kolon kanserli vakalar (%10) kontrol amaçlı vakalardan (%5) iki kat fazla taşımaktadır(Tablo 4.1). (Khi kare testi uygulandı $p>0.05$ bulundu.)

4.2.2. MTHFR 1298 A→C Polimorfizimi

PCR ile çoğaltılan gen ürünleri MboII restriksiyon endonükleaz ile muamele edildi. MTHFR 1298 A→C polimorfizimi için %2'lik agoroz jelde koşturularak yabanıl tip (1298AA), heterozigot (1298 AC) ve homozigot (1298CC) varyasyonları tespit edildi



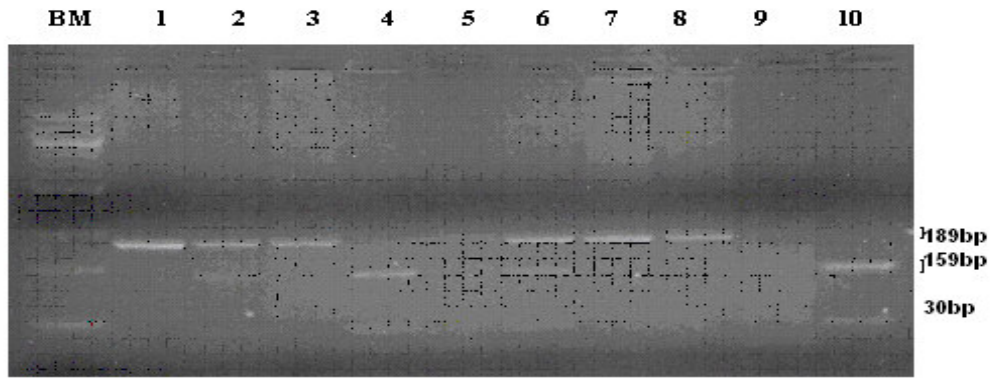
Şekil 4.1. MTHFR 1298 A→C Polimorfizminin %2'lik agoroz jel görüntüsü.

Mide kanserli hastalarda MTHFR 1298AA, 1298AC ve 1298CC genotipinin dağılımı %56,5, %39 ve %4,5'dir. Kontrol grubunda 1298AA ve 1298AC eşit oranda (50) bulunurken, homozigot form (1298CC)' da bulunmaması dikkat çekicidir(Tablo 4.2). (Khi kare testi uygulandı $p>0.05$ bulundu.)

MTHFR 1298 AA ve 1298 AC genotiplerinin kolon kanseri vakalarındaki %39 ve %61, kontrol amaçlı vakalarda ise her iki genotipinde %50 oranında bulunmuştur. MTHFR 1298 CC varyant alellin hem kontrollerde hemde hastalarda hiç görülmemiş olması dikkat çekicidir. (Tablo 4.2). (Khi kare testi uygulandı $p>0.05$ bulundu.)

4.2.3. MTR 2756 A→G Polimorfizimi

PCR ile çoğaltılan gen ürünleri Hae III restriksiyon endonükleaz ile muamele edildi. MTR 2756 A→G polimorfizimi için %2'lik agaroz jelde koşturularak yabancı tip (2756 AA), heterozigot (2756AG) ve homozigot (2756 GG) varyasyonları tespit edildi.



BM→Boyut Marker 1→PCR Ürünü 2-6→Heterozigot 3-5-7-8→Yabancıl Tip 4-10→Homozigot

Şekil 4.3. MTR 2756 A→G polimorfizminin %2'lik agaroz jel görüntüsü

MTR 2756 A→G polimorfiziminin mide kanseri ve kontrol gruplarındaki sonuçları şöyledir; 2756AA ve 2756AG genotip hasta gruplarında %43,5, %39 kontrol gruplarında ise %50 ve %40'dır. Bununla birlikte MTR 2756 varyant allel (GG) için homozigot bireyler hastalarda (%17,5) kontrollerden (%10) yaklaşık 2 kat daha fazla görülmüştür(Tablo 4.3). (Khi kare testi uygulandı $p>0.05$ bulundu.)

Kolon kanseri için MTR 2756 A→G polimorfizimi incelendiğinde; 2756AA genotipi hastalarda %56 ve kontrollerde %50, 2756AG allelik varyant ise hastalarda %34 ve kontrollerde %40 oranında gözlemlendi. 2756GG varyant genotip ise hem hastalarda (%10) hemde kontrollerde (%10) eşit oranda tespit edildi (Tablo 4.3). (Khi kare testi uygulandı $p>0.05$ bulundu.)

Ayrıca kontrol vakalarında MTHFR 677CT ve 1298 AC çift heterozigot formları (%20) her iki kanser vakalarından (%7) yaklaşık üç kat fazla bulunmuştur.

Tüm hastaların en az bir polimorfizim açısından homozigot veya heterozigot formda, sadece kontrol vakalarında bir hastanın her üç polimorfizim içinde yabancı tipte (%1) bulunduğu görülmektedir.

Tablo 4.1. MTHFR 677C→T Polimorfiziminin mide ve kolon kanserli hastalarda ve kontrol gruplarında karşılaştırılması

Gruplar	677CC (Normal)		677CT (Heterozigot)		677TT (Homozigot)		Toplam
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	
Mide Kanseri	8	34,8	12	52,8	3	13	23
Kolon Kanseri	18	43,9	19	46,3	4	9,8	41
Kontrol	15	37,5	23	57,5	2	5	40
Toplam	41	34,9	54	51,9	9	8,7	104

$p>0,05$

Tablo 4.2. MTHFR 1298A→C Polimorfiziminin mide kanserli ve kolon kanserli hastaların kontrol grubuyla karşılaştırılması

Gruplar	1298AA (Normal)		1298AC (Heterozigot)		1298CC (Homozigot)		Toplam
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	
Mide Kanseri	13	56,5	9	39,1	1	4,3	23
Kolon Kanseri	16	39,0	25	61,0	-	-	41
Kontrol	20	50,0	20	50,0	-	-	40
Toplam	49	47,1	54	51,9	1	1,0	104

$p>0,05$

Tablo 4.3. MTHFR 2756 A→G Polimorfiziminin mide kanserli ve kolon kanserli hastaların kontrol grubuyla karşılaştırılması

Gruplar	2756AA (Normal)		2756AG (Heterozigot)		2756GG (Homozigot)		Toplam
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	
Mide Kanseri	10	43,5	9	39,1	4	17,4	23
Kolon Kanseri	23	56,1	14	34,1	4	9,8	41
Kontrol	20	50,0	16	40,0	4	10,0	40
Toplam	53	51,0	39	37,5	12	11,5	104

p>0,05

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

HNPCC ve poliposiz sendromlarını (FAP, Peutz Jeghers Sendrom, Juvenile poliposis) içeren genetik sendromlar kolorektal kansere meyillidir. Ancak bu sendromlar tüm hastalıkların sadece %3'ünü oluşturur. Sporodik kolorektal kanser hastalarının birinci derece akrabalarındaki bu artmış riskin ılımlı bir genetik meyil (örneğin; düşük penetranslı genlerin dahil edilmesi veya gen varyantları) olduğu iddia edilmektedir. Buna aday olarak metabolik yoldaki veya metilasyondaki genler, kolonik mikro çevrenin değişimi, onkogenler, tümör supressor genler ve immün-cevap genleridir. Yüksek penetranslı genlerdeki (APC, ML+1, MSH2) düşük penetranslı varyantlar sporadik ve ailesel kolorektal kanserde önemli olabilir (138).

Kolonik hastalıklara bakıldığında FAP ve HNPCC'nın fenotipleri sadece aileler arasında değil aile içerisinde bile oldukça değişmektedir. Bu varyasyonun sebebi bilinmemektedir fakat en azından bir kısmı ilave genetik faktörlerden, örneğin modifiye genlerden dolayıdır. Bu modifiye genler sporadik kolorektal kansere dahil edilen düşük-penetranslı genlerle aynı genler olabilir (138).

Düşük penetranslı genlerdeki allelik farklılıklar, kanser-indükleyici bileşikler hassasiyetle incelendiğinde geniş bireylerarası farklılıklar hesaplanabilir. Bu genlerden birinde bir varyasyon taşıyan birey için artmış kanser riskinin küçük olduğu varsayılabilir fakat bu varyasyonların bazılarının popülasyondaki yüksek frekansları, popülasyonun yüksek risk altında olduğunu ileri sürmektedir (138).

Toffoli ve ark. Kuzey İtalya'da azalan proksimal kolorektal kanser riskinde MTHFR 677 TT genotipinin rolü olduğunu bildirmişlerdir (139) Literatürde iki çalışma hariç MTHFR 677 TT genotipi ve kolon kanseri arasında güçlü bir ters ilişki bildirilmemiştir (116). de Jong ve ark. düşük penetranslı genler ve kolorektal kanserin ilişkisini inceledikleri çalışmalarında, yeterli folat düzeyine sahip MTHFR 677 TT homozigot taşıyıcılar kolorektal kanser için düşük riske sahip görünüyorlar. Fakat, folat düzeyi düşük olduğunda (yetersiz folat alımı veya alkol tüketimi) hem DNA metilasyonu hem de DNA sentezi (nükleotid sentezindeki karışıklıktan dolayı) 677 TT homozigot taşıyıcıları arasında bozulur ve kolorektal kanserin artmış riskiyle sonuçlanır(138).

Bizim çalışmamızda da kolon kanserleri vakalar kontrol grubuyla karşılaştırıldığında MTHFR 677 TT homozigot varyant iki kat artmış riske sahiptir.

MTHFR ve MTR'nın azalan aktivitesi azalan DNA metilasyonunun yol açtığı düşük SAM düzeylerinde beklenebilir. DNA hipometilasyonun tümör büyümesini baskılayacağı ileri sürülmektedir. Alternatif olarak tümör büyümesinde artan metilasyon reaksiyonlarından dolayı tümör taşıyan bireylerde metiyonin sentaz ve MTHFR'nin aktiviteleri önemli derece artmıştır. Bu polimorfizimler tümör hücreleri tarafından metiyoninin fazla kullanımı engelleyebilir. Bu koruma muhtemelen tümörün geç aşamasında rol alır. Çünkü ne MTHFR ne de MTR polimorfizimleri kolorektal adenomanın riskiyle ilişkili değildir, kolorektal kanserin yakın habercisidir (122).

DNA sentezinin başarısı kritik olarak deoksiniükleotidlerin mevcudiyetine ve dengesine bağlıdır. Levine ve ark. hipotezlerinde kolon epitelyumu gibi yüksek replikasyon oranına sahip hücreler için nükleotid sentezindeki kısa bir dengesizlik bile bazların yanlış birleşmesi ve sonrasında potansiyel nokta mutasyonları ve kromozom kırıklarıyla sonuçlandığını da iddia etmektedirler(140).

Gastrointestinal bölgede yapılan bir diğer çalışma da Song ve ark. Çin popülasyonunda özofagus yassı hücre karsinomasında (ESCC) MTHFR polimorfizimlerinin ilişkisinin araştırmasıdır. MTHFR 1298 CC genotipi 1298 AA genotipli bireylerle kıyaslandığında 6 kattan daha fazla artmış risk bulundu. Aynı ilişki 677 TT varyant genotipi 677 CC yabanıl tiple kıyaslandığında aynen doğrudur (112).

Chen ve ark. son zamanlardaki “Doktorlar Sağlık Çalışmasında” kolon kanseri ve kodon 1298 CC genotipi arasında istatistiksel olarak anlamsız ters ilişki bildirilmiştir. Keku ve ark. çalışmalarında kolon kanseri riski için MTHFR kodon 1298 genotipinin kodon 677 genotipinden daha önemli olabileceği iddia edilmiştir (138).

Ayrıca 1298AC polimorfizmiyle ilgili 3 USA’da biri İskoçya’da 4 çalışma yapılmıştır. Kanserde 1298AC’nin rolü araştırılmıştır. Hepsinde de AA kişileri CC ile kıyaslandığında risk tutarlı bir şekilde azaldığı gözlenmiştir. Zira bu bulgular 677CT için gözlenen örneklerde de birbiriyle tutarlıdır ve 1298AC kanser ilişkisinin gerçekte 677CT den dolayı olduğunu söyleyemekteler. Ayrıca Chen ve ark. 1298AC sonuçlarının 677CT ile karıştığından uygun olmadığını rapor etmişlerdir (113).

MTHFR 1298 A→C polimorfizminin Türkiye’de yapılan tek bir çalışmada popülasyon sıklığı %6 olarak verilmiştir(141). Bizim çalışmamızda ise kolon kanserli vakalarda ve kontrol vakalarında hiç 1298CC genotipine rastlanmamıştır. Sadece bir mide kanserli vakada (1/104) 1298CC genotipi görülmüştür. Bizim grubumuzdaki sıklık %1’dir ve literatürle uyumlu değildir.

Buradan sağlık durumu her ne olursa olsun her bir bireyin genetik olarak kendine özgül kimyasal oluşuma sahip olduğu ve bu nedenle çevreye, beslenmeye ve farmakolojik etkilere kendine özgül cevap vereceği sonucuna arayabiliriz. Bu kimyasal bireysellik oluşumu ilk defa yüzyıl önce Sir Archibald Garrod tarafından öngörülmüş ve bu görüş bugün de geçerliliğini korumaktadır (111).

Çevre ile birey arasındaki ilişkiyi, genetik çeşitliliğin nasıl etkilendiğini bize açıklayan polimorfik allellerdir. Regülatör bölgedeki polimorfik alleller, genlerin transkripsiyonel regülasyonunu etkileyerek fenotiplerin belirlenmesinde önemli rol oynar (111).

Bizim çalışmamızda kolon kanserli hastalarda MTR 2756 A→G polimorfiziminin yabanıl tip, heterozigot ve homozigot varyasyonlarının hasta ve kontroller arasında hemen hemen eşit düzeylerde bulunması bu polimorfizmin kolon kanseri üzerinde çok

etkili olmadığı göstermektedir. Ma ve ark. da araştırmalarında bizim görüşümüzü destekler nitelikte; MTR'nın 2756 A→G polimorfizminin metiyonin sentaz aktivitesinin bozulmasında önemli olmayacağını öne sürmüşlerdir(112).

Bununla birlikte mide kanseri vakalarında MTHFR 677 TT ve MTR 2756 GG homozigot varyasyonları kontrol grubuyla karşılaştırıldığında yaklaşık iki kat artmış risk tespit edilmiştir.

Mide karsinomunun etyolojik faktörleri; gıda koruyucusu olarak çok miktarda tütülenmiş balık ve et ile turşu şeklinde sebze tüketilen toplumlarda hastalığın sıklığı belirgin olarak artar. Diyetle aşırı tuz alınması ve taze sebze ve meyve tüketiminin az oluşu da sıklıkla paralellik gösterir. (2).

Kişilerin diyet alışkanlıklarının mide kanseri riskinin artırdığı için özellikle MTHFR 677TT ve MTR 2756GG genotipine sahip risk grubundaki kişilerin diyetlerine daha fazla dikkat etmelerini önerebiliriz.

Ayrıca MTHFR polimorfik lokusu (677C→T) endometrial kanser, servikal intraepitelyal neoplasi, meme ve ovaryum kanserlerinin artmış riskiyle ilişkilendirilmiştir (117). Bizim bulgularımız bu çalışmaların çoğuyla uyumluluk göstermektedir ve folat metabolizmasındaki yaygın polimorfizm gösteren genlerin mide kanserinde de önemli bir rol oynayabileceği fikrini desteklemektedir. Fakat bu analizler küçük sayıdaki bireyler üzerine odaklanmıştır ve diğer çalışmalarla konfirme edilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

Kanser riski değişik popülasyonlar arasında ve aynı popülasyon içinde farklı çevrelerde belirgin farklılıklar gösterir. Örneğin, mide kanseri için Japonya'da yaşayan Japonlar ile Hawaii ya da Los Angeles'ta yaşayan Japonlar karşılaştırıldığında Japonya'da yaşarlarda üç kat fazla mide kanseri izlenmektedir. Riskin önemli bir bölümünün çevredeki mutajenlere ve karsinojenlere bağlanabileceği görülmektedir. Çevredeki karsinojenlerin yapısı, artmış riskin belirlenmesi ve popülasyonun bunlardan korunma yollarının saptanması için önemlidir (111).

Çalışmamızda MTHFR'nin her iki polimorfizmi (677 C→T ve 1298 A→C) için de çift heterozigotlar, kontrol grubunda kanserli vakalardan yaklaşık üç kat fazla görülmüştür.

Skibola ve ark. araştırmalarında MTHFR 677 TT genotipindeki bireylerin yanı sıra 1298 CC genotipli bireylerde de akut lenfatik lösemnin (ALL) riskinde azalma gözlemlenmiştir. İlâveten çift heterozigotlar (677CT/1298AC) 677CC/1298AA bireylerle kıyaslandığında ALL'nin riskinde anlamsız bir azalma gösterilmiştir (122).

Le Marchand ve ark. 677T ve 1298C heterozigotlarının 677CC/1298 AA bireylerle kıyaslandığında kanser için en az riske sahip olduklarını bulmuşlardır (113).

Varyant MTHFR 677TT genotipli bireyler 677CC yabancı tipte kıyaslandığında in vitro da %30 enzim aktivitesine sahip oldukları görülmüştür. 677CT heterozigotlarda ise %65 normal enzim aktivitesi görülür. İn vitro da her iki (677 CT ve 1298 AC) heterozigot çifti için de enzim aktivitesi açık değildir (113, 116).

Literatürde çift heterozigotların (677 C, 1298 AC) değerlendirildiği çalışmalarda kanser için gösterdiği bir koruyucu etki oluşturduğu görülmektedir. Bizim çalışmamızda ise homozigot varyasyonların artmış bir risk gösterirken MTHFR çift heterozigotların (677 CT ve 1298 AC) koruyucu bir etki oluşturması literatürle uyum göstermektedir. Bu bulgularla Keku ve ark. nda bildirdiği gibi 1298 genotipinin kodon 677 genotipinden daha önemli olduğunu desteklemekteyiz. Fakat bu genlerin heterozigot formlarının birlikte değerlendirildiği çok daha fazla sayıda çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Çalışmamızda bir diğer dikkat çeken unsur da hem kanserli vakalarda hem de kontrol grubunda çalışılan genlerde en az birinin homozigot veya heterozigot formda bulunmasıydı. Toplam 104 kişi (64 hasta ve 40 kontrol) içerisinde sadece bir kontrol vakası üç polimorfizim için de yabancı tipte bulunmaktaydı. Bu da bize metabolik yolda (folat metabolizması) yer alan bu genlerin yaygın olarak polimorfik olduklarını göstermekteydi.

Günümüzde kanser vakalarının her geçen gün artması ve daha erken yaşta ortaya çıkması kanserin kalıtsal bir hastalık olduğunu göstermektedir. Kanser gelişiminde etkili olan tümörsüpresör gen ve onkogenlerin yanı sıra bu düşük penetranslı genlerin de gözardı edilmemesi gerektiğini düşünmekteyiz.

Kanser klinikte görülen en yaygın ve ciddi hastalıklardan biridir. Yapılan istatistiksel çalışmalar, kanserin toplumların yaklaşık üçte birinden fazlasında görüldüğünü, ölümlerin yüzde yirmiden fazlasından sorumlu olduğunu ve gelişme ülkelerin toplam sağlık harcamalarının yaklaşık yüzde onundan fazlasının tedavi harcamalarının oluşturduğunu göstermektedir. Kanser tedavi edilmediğinde ölümlerle sonuçlanmaktadır. Kanser araştırmalarında erken tanı ve tedavi son derece önemli olup, kansere yakalanma riski yüksek olan bireylerin kanser gelişmeden önce saptanabilmesi büyük önem taşımaktadır. (111).

Bizim çalışmamızda folat metabolizmasının anahtar rolü oynayan enzimlerden MTHFR 677 C→T, 1298 A→C ve MTR 2756 A→G polimorfizimleri incelenmiştir. Bu polimorfizimlerin homozigot formlarının kanserli vakalarda artmış olduğu tespit edilmiştir. Beslenmeyle yeterli folat alımı veya aşırı alkol tüketiminin bu genlerin yer aldığı metabolizmanın işleyişinde etkili olduğu bilinmektedir. Çevresel etmenlerle bu polimorfizimlerin etkisi konfirme edildikten sonra kanseri artıran risk faktörleri arasında bu genlerin polimorfizmlerinin de yer alması gerektiği kanısındayız.

6. KAYNAKLAR

1. Human cancer genetics (2nd end), Shirley V Hodgson and Eamonn R Maher, Cambridge University press 1999; 60-80
2. Patoloji (2.Baskı), Arthur S, Schneider MD, Philip A, Seanto MD, Nobel Tıp Kitabevleri 2001; 227-239
3. Swenson CM, Slavin G, Cales EC et al, Coeliac disease and malignancy. Lancet 1983; 1, 111-115
4. Alter BP, Fanconi anaemia and malignancies. AMF Hematol 1996;53: 99-110
5. Klausner RD, Handler SD. Familial occurrence of pleiomorphic adenoma. Int F Pediatr Otorhinolaryngal 1994; 30: 205-10
6. Mark J, Dahlenfors R. Cytogenetical observations in 100 human benign pleiomorphic adenomas: specificity of the chromosomal aberrations and their relationship to sites of localised oncogenes. Anticancer Res 1986;6: 299-308
7. Sahlin P, Mark J, Stenman G. Submicroscopic deletions of 3p sequences in pleiomorphic adenomas with t(3;8) (p21;q12). Genes Chromosom Cancer 1994; 10:256-61
8. Barrett MT, Sanchez CA, Galipeav PC et al. Allelic loss of 9p21 and mutation of the CDKN2/p16 gene develop as early lesions during neoplastic progression in Barrett esophagus. Oncogene 1996; 13: 1867-73

9. Zhuang Z, Vartmeyer AO, Mark EJ et al. Barrett's oesophagus: metaplastic cells with loss of heterozygosity at the APC gene locus are clonal precursors to invasive adenocarcinoma. *Cancer Res* 1996; 56: 1961-4
10. Robertson DAF, Ayres RCS and Smith CL. Screening for colonic cancer in patients with Barrett's oesophagus. *BMP* 1989; 278: 66-74
11. Hollstein MC, Metcalf RA and Welsh JA. Frequent mutation of the p53 gene in human oesophageal cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 9958-61
12. Boynton R, Huang V, Blount PL et al. Frequent loss of heterozygosity at the retinoblastoma locus in human oesophageal cancer. *Cancer Res*, 1991; 51: 5766-9
13. Stemmann G, Heffelfinger SC, Naffsinger A et al. The molecular biology of oesophageal and gastric cancer and their precursors: oncogenes, tumour suppressor genes and growth factors. *Hum. Pathol* 1994; 25: 968-81
14. Zhou X, Tarmin L, Yin J et al. The MTS1 gene is frequently mutated in primary human oesophageal tumors. *Oncogene* 1994; 9: 3787-41
15. Dos Santos LG and de Mogalhes J. Familial gastric polyposis: a new entity. *Fam Genet Hum* 1980; 28: 293-7
16. Debinski H, Spiegelman AD, Hatfield A et al. Upper intestinal surveillance in familial adenomatous polyposis. *Eur J Cancer* 1995; 31A: 1149-53
17. Ushia K, Sasagawa M, Doi H et al. Lesions associated with familial polyposis coli, Studies of lesions of the stomach, duodenum, bones and teeth. *Gastrointest Radiol* 1976; 1: 67
18. Williams CB, Goldblatt M and Delaney PV. Top and tail endoscopy and follow-up in Peutz-Jeghers syndrome. *Endoscopy* 1982; 14: 22-34
19. Hayoz D, Extermann M, Odermatt BF et al. Familial primary gastric lymphoma. *Gut* 1993; 34: 136-40
20. Lehtol J. Family study of gastric carcinoma. *Scand J Gastroenterol* 1978; 13 (Suppl 50): 1-54
21. Correa P, Shiao YH. Phenotypic and genotypic events in gastric carcinogenesis. *Cancer Res* 1994; 54: 1941-1943
22. Harper PS. Hereditary and gastrointestinal tumors. *Clin Gastroenterol* 1973; 2: 697-701
23. Mc Connell RB. *The Genetics of Gastrointestinal Disorders*. Oxford University Press, Oxford, 1966

24. Macklin Mti. Inheritance of cancer of the stomach and large intestine in man. *F Natl Cancer Inst* 1960; 24: 551-571
25. Kekki M S M, Varis K et al. Classification principles and genetics of chronix gastritis. *Scand Z Gastroenterol* 1987; 22 (Suppl 141): 1-128
26. Scott N, Lansdown M, Diament R et al. *Helicobacter gastritis* intestinal metoplasia in a gastric cancer family. *Lancet* 1990; 335: 8691-8728
27. Triantafillidis JK, Kasmidis P and Kattaridis S. Familial stomach cancer. *Am. Z Gastroenterol* 1993; 88: 1789-1790
28. Cristofaro G, Lynch HT, Caruso ML, et al. New phenotypic aspect in a family with Lynch Syndrome II. *Cancer* 1987; 60: 51-58
29. Lynch HT. Clinical (genetic features) in hereditary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1990; 15: 63-71
30. Burki N, Gencik A, Torhos JKH et al. Familial and histologicalanalyses of 138 breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 1987; 10: 159-167
31. Varley JM, Mc Gowan G, Thorncraft M et al. An extended Li-Fraumeni kindered with gastric carcinoma and a codon 175 mutation in TP53. *Z Med Genet* 1995; 942-945
32. Jagelman DG, DeCosse JJ, Bussey HJR and the Leeds Castle Polyposis Group. Upper gastrointestinal cancer in familial polyposi call. *Lancet* 1988; i: 1149-1151
33. Helnemann EF, Bernstein L, Stark AD, Spirtas Ri. Mesothelioma ,asbestos and reported history of cancer in first- degree relatives. *Cancer* 1996; 77: 549-554
34. Grund Bacher FJ. Genetic aspect of selective IgA deficiency. *Z Med Genet* 1972; 9: 344-347
35. Enston D, Ford D, Peto J. Inherited susceptibility to breast cancer. *Cancer Surv* 1993; 18: 95-113
36. Arnio M, Salovaaro R, Aaltonen LA et al. Features of gastric cancer in hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndromes. *Int Z Cancer* 1997; 74: 551-555
37. Guilford P, Hopkins J, Harraway J et al. E-cadherin germline mutations in familial gastric cancer. *Nature* 1998; 392: 402-405
38. Gayther SA, Garringe KL, Ramus SJ et al. Identification of germ-line E-cadherin mutations in gastric cancer families of European origin. *Cancer Res* 1998; 58: 4086-4089

39. Richards FM, Mckee SA, Rajpar MH. Germline E-cadherin (CDH1) gene mutations predispose to familial gastric cancer and colorectal cancer. *Hum Mol Genet* 1999; 8: 607-10
40. Yamada Y, Yashida T, Hayashi K. Et al. Gene mutations in gastric cancer metastases. *Cancer Res* 1991; 51: 5800-5
41. Nakashima H, Inoue H, Honda M et al . The heterogeneity of microsatellite instability in multiple gastric cancers. *Am J Gastroenterol* 1995; 90: 653-6
42. Keller G, Grimm V, Vogelsang H et al. Analysis for microsatellite instability and mutations of the DNA mismatch repair gene hMLH1 in familial gastric cancer. *Int. J Cancer* 1996; 68: 571-6
43. Ochiai A, Hirohashi S, Multiple genetic alterations in gastric cancer. *Gastric Cancer* 1997; 87-99
44. Wright PA, Quirke P, Attanoos R, Williams GT. Molecular pathology of gastric carcinoma: progress and prospects. *Hum Pathol* 1992; 23: 848-859
45. Hesketh R. The Oncogene and Tumour Suppressor Gene Facts Book Academic Press. San Diego, CA 1997
46. Stadlender CT, Waterbar JW. Molecular epidemiology, pathogenesis and prevention of gastric cancer. *Carcinogenesis* 1999; 20: 2195-2208
47. Tahara E, Semba S, Tahara H. Molecular biological observations in gastric cancer. *Semin Oncol* 1996; 23: 307-315
48. Chan AO, Luk JM, Hui WM, Lam SK. Molecular biology of gastric carcinoma: from laboratory to bedside *J Gastroenterol Hepatol* 1999; 14: 150-160
49. Correa P. Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process First American Cancer Society Award Lecture on Cancer Epidemiology and Prevention *Cancer Res* 1992; 52: 6735-6740
50. Hiyama E, Yokoyama T, Tatsumoto N, Hiyama K, Imamura Y et al. Telomerase activity in gastric cancer. *Cancer Res* 1995; 55: 3258-3262
51. Kurtz RC, Steinberg SS, Miller HH, Decosse JJ. Upper gastrointestinal neoplasia in familial polyposis. *Dig Dis Sci* 1987; 32: 459-465
52. Naylor EW, Lebenthal E. Gardner's syndrome: recent developments in research and management. *Dig Dis Sci* 1987; 32: 549-465

53. De Pietri S, Sasstelli R, Roncucci L et al. Clinical and biological features of adenomatosis coli in northern Italy. *Scand Z Gastroenterol* 1995; 30: 771-779
54. Burt RW, Berenson MM, Lee RG et al. Upper gastrointestinal polyps in Gardner's syndrome. *Gastroenterology* 1994; 86: 298-301
55. Hibi K, Kondo K, Akiyama S et al. Frequent genetic instability in small intestinal carcinomas. *Zgn Z Cancer Res* 1997; 86: 357-360
56. Fresko D, Lazarus SS, Datan J, Reingold M, Early presentation of carcinoma of the small bowel in Chron's disease ('Chron's carcinoma') Case reports and review of the literature. *Gastroenterology* 1982; 82: 783-789
57. Roth M, Peterson GM, McElree C et al. Familial empiric risk estimates of inflammatory bowel disease in Ashkenzi Jews. *Gastroenterology* 1989; 96: 1016-1020
58. Hugot J-P, Laurent-Puig P, Gower C et al. Mapping of a susceptibilitiy locus for Crohn's disease on chromosome 16. *Nature* 1996; 379: 821-823
59. Duerr RH, Genetics of inflammatory bowel disease. In *inflammatory Bowel Diseases Chron's and Colitis Foundation of Amerika* 1996. New York Vol-2, :48-60.
60. Morson B, Faktors influencing the prognosis of early cancer of the rectum. *Proc T Soc Med* 1966; 59: 607-612
61. Lanspa SJ, Lynch HT, Smyrk TC et al. Colorectal adenomas inthe Lynch syndromes. Result of a colonoscopy screening program. *Gastroenterology* 1990; 98: 1117-1122
62. Jeevaratnam P, Cottier AS, Browett PJ et al. Familial giant hyperplastic polyposis predisposing to colorectal cancer: a new hereditary bowel cancer syndrome. *Z Pathol* 1996; 179: 20-25
63. Ford D, Easton DF, Stratton Metal. Genetic heterogenerty and genetrance analysis of the BRCA1 and BRCA2 genes in breast cancer families. The Breast Cancer Linkage Consortium. *Am Z Hum Genet* 1998; 62: 676-689
64. Struewing JP, Hartege P, Wacholder S et al. The risk of cancer associated with specific mutations of BRCA1 and BRCA2 among Ashkenazi Jews. *N Engl Z Med* 1997; 336: 1401-1408
65. Stephenson BM, Finan PJ, Gascoyne J et al. Frequency of familial colorectal cancer. *Br Z Surg* 1991; 78: 1162-1166

66. Peel D, Kolodner R, Li F, Anton –Culver H. Relationship between replication error (RER) and MSH2/MLH1 gene mutations in population – based HNPCC kindreds. *Am Z Hum Genet* 1997; 61S: A208-1203
67. Powell JA, Mc Gavran Li Greffe BS, Partington MD. Intracranial malignant germ cell tumour and the Klinefelter syndrome. *Pediatr Neurosurg* 1995; 23: 219-224
68. Brossett C, Joyce JA, Fraggatt NJ et al. Microsatellite instability in early onset and familial colorectal cancer. *Z Med Genet* 1996; 33: 981-985
69. Sharp L, Little J. Polymorphism in genes Involved in folate metabolism and colorectal neoplasia : A HUGE review. *Am J Epidemiol* 2004; 159: 423-443
70. Parkin DM, Pisani P, Ferlay J. Estimate of the worldwide incidence of 25 major cancers in 1990 *Int J Cancer* 1999; 80: 827-841
71. Esteller M, Garcia A, Martinez-Polones J, Xercavins J, Reventos J. Germ line polymorphism in cytochrome- P450 1A1 (C4887 CYP1A1) and methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) genes and endometrial cancer susceptibility. *Carcinogenesis* 1997; 18: 2307-2311
72. Cotton S, Sharp L, Little J. The adenoma-carcinoma sequence and prospects for the prevention of colorectal neoplasia. *Crit Rev Oncog* 1996; 7: 293-342
73. Bergström A, Pisani V, Tenet V, et al. Overweight as an avoidable cause of cancer in Europe. *Int J Cancer* 2001; 91: 421-430
74. Giovannucci E. An updated review of the epidemiological evidence that cigarette smoking increases risk of colorectal cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001; 10: 725-731
75. Terry P, Giovannucci E, Michels KB et al. Fruit, vegetables, dietary fiber and risk of colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93: 525-533
76. Flood A, Velie EM, Chatterjee N et al. Fruit, vegetables, dietary fiber and risk of colorectal cancer in Breast Cancer Detection Demonstration Project follow-up cohort. *Am J Clin Nutr* 2002; 75: 936-943
77. Haenszel W, Kurihara M. Studies of Japanese migrants: mortality from cancer and other diseases among Japanese in the United States. *J Natl Cancer Inst* 1968; 40: 43-48
78. Ma J , Stramfer MJ, Giovannucci E et al. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, dietary interactions and risk of colorectal cancer. *Cancer Res* 1997; 57: 1098-1102

79. Le Marchand L, Danlon T, Hankin JH et al. B-vitamin intake, metabolic genes and colorectal cancer risk (Unites States). *Cancer Causes Control* 2002; 13: 239-248
80. Chen J, Grovannucci E, Hankinson SE et al. A prospective study of methylenetetrahydrofolate reductase and methionine synthase gene polymorphisms and risk of colorectal adenoma. *Carcinogenesis* 1998; 19: 2129-2132
81. Glynn SA, Albanes D, Pietinen P et al. Colorectal cancer and folate status: a nested case-control study among male smokers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1996; 5: 487-494
82. Kato I, Dnistrian AM, Schwartz M et al. Serumfolate, homocystine and colorectal cancer risk in women: a nested case-control study. *Br J Cancer* 1999; 79: 1917-1921
83. Bird CL, Swendseid ME, Witte JS et al. Red cell and plasma folate, folate consumption and the risk of colorectal adenomatous polyps. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1995; 4: 709-714
84. Paspatis GA, Kalafatis E, Oros L et al. Folate status and adenomatous colonic polyps: a colonoscopically controlled study. *Dis Colon Rectum* 1995; 38: 64-68
85. Giovannucci E, Rimm EB, Ascherio A et al. Alcahol, low-methionine- low folate diets and risk of colon cancer in men. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 265-273
86. Grovannuci E, Srtampfer MJ, Colditz GA et al. Multivitamin use, folate, and colon cancer in women in the Nurses 'Health Study. *Ann Intern Med* 1998; 129: 517-524
87. Su LJ, Arab L. Nutritional status of folate and colon cancer risk: evidence from NHANES epidemiologic follow-up study. *Ann Epidemiol* 2001; 11: 67-72
88. Terry P, Jain M, Miller AB, et al. Dietary intake of folic acid and colorectal cancer risk in a cohort of women. *Int J Cancer* 2002; 97: 864-867
89. Freudenheim JL, Graham S, Marshall JR, et al. Folate intake and carcinogenesis of the colon and rectum. *Int J Epidemiol* 1991; 20: 368-74
90. Benito E, Stiggelbout A, Bosch FX, et al. Nutritional factors in colorectal cancer risk: a cese-control study in Najorca. *Int J Cancer* 1991; 49: 161-7
91. Meyer F, White E. Alcohol and nutrients in relation to colon cancer in middle-aged adults. *Am J Epidemiol* 1993; 138: 25-36
92. Ferraroni M, La Vecchis C, D Avanzo B, et al. Selected micronutrient intake and the ri,sk of colorecctal cancer. *Br J Cancer* 1994; 70: 1150-5
93. Boutron-Runult MC, Senesse P, Faivre J, et al. Folate and alcohol intakes: related or indepented roles in the adenoma carcinoma swuence? *Nutr Cancer* 1996; 26: 337-46

94. Herbert V. Recommended dietary intakes (RDI) of folate in humans. *Am J Clin Nutr* 1987; 45: 661-70
95. Cotton S, Sharp L, Little J. The adenoma-carcinoma sequence and prospects for the prevention of colorectal neoplasia. *Crit Rev Oncog* 1996; 7: 293-342
96. Slattery ML, Schaffer D, Edwards SL, et al. Are dietary factors involved in DNA methylation associated with colon cancer? *Nutr Cancer* 1994; 28: 52-62
97. Kirsch DG, Kastan MB. Tumor-suppressor P53: implications for tumor development and prognosis. *J Clin Oncol* 1998; 16: 3158-3168
98. Başaran N. Tıbbi genetik ders kitabı. Güneş&Nobel kitap evi 1999; 373-384
99. Sidransky D, Tokino T, Hamilton SR et al. Identification of ras oncogene mutations in the stool of patients with curable colorectal tumors. *Science* 1993; 256: 102-106
100. Potter ID, Slattery NL, Bastick RM, Gapstur SM. Colon cancer: a review of the epidemiology. *Epidemiol Rev* 1993; 15: 49-545
101. Ponder B. Cancer genetics. *Nature* 2001; 411: 36-341
102. Pharoah P, Antoniou A, Babrow N, Zimmern R, Easton D, et al. Polygenic susceptibility to breast cancer and implications for prevention. *Nature Genet* 2002; 31: 33-36
103. Temitope O, Keku PhD, Robert C, Millikan DVM, Chris Martin MPH et al. Family History of Colon cancer. *Am J Prev Med* 2003; 24(2): 170-176
104. Schneider NR, Williams WR, Chaganti RSK. Genetic epidemiology of familial aggregation of cancer. *Adv Cancer Res* 1986; 47: 1-36
105. Lynch HT, Lynch PM. The cancer-family syndrome: a pragmatic basis for syndrome identification. *Dis Colon Rectum* 1979; 22: 106-110
106. Samowitz WS, Curtin K, Lin HH, et al. The colon cancer burden of genetically defined, hereditary non
107. Chen J, Giovannucci E, Kelsey K, et al. A methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism and the risk of colorectal cancer. *Cancer Res* 1996; 56: 4862-4864
108. Slattery ML, Edwards SL, Smowitz W, Potter J. Associations between family history of cancer and genes coding for metabolizing enzymes. *Cancer Causes Control* 2000; 11: 799-803
109. Lvett E. Family studies in cancer of the colon and rectum. *BrJ Surg* 1976; 63: 13-18

110. Le Marchand L, Wilkens LR, Hankin JH, Kolonel LN, Lyu LC. Independent and joint effects of family history and lifestyle on colorectal cancer risk: implications for prevention. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999; 8: 45-51
111. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF, Boerkoel III CF, Thompson and Thompson Tibbi genetik. *Güneş Kitabevi* 2005 (6.baskı), 313-330
112. Eicholzer M, Luthy Z, Moser V, Fowler B. Folate and the risk of colorectal, breast and cervix cancer: the epidemiological evidence. *Swiss Med Wkly* 2001; 131: 539-549
113. Sharp L, Little J. Polymorphism in genes involved in folate metabolism and colorectal neoplasia: A HuGE Review *Am J Epidemiol* 2004; 159: 423-443
114. Slattery ML, Potter JD, Samowitz W, Schaffer D, Loppert M. Methylene tetrahydrofolate reductase, diet, and risk of colon cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers and prevention* 1999; 8: 513-518
115. Refsum H. Total Homocysteine: Guidelines for determination in the clinical laboratory. *Clinical Laboratory News* 2002; May: 12-14
116. Virich CM, Kampman E, Bigler J, Schwartz SM, Chen C, et al. Lack of association between the C677T MTHFR polymorphism and colorectal hyperplastic polyps. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000; 9: 427-433
117. Song C, Xing D, Tan W, Wei Q, Lin D, Methylene tetrahydrofolate reductase polymorphisms increase risk of esophageal squamous cell carcinoma in a Chinese population. *Cancer Research* 2001; 61: 3272-3275
118. Gayette P, Par A, Milas R, Frasst P, Tran P, et al. Gene structure of human and mouse methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR). *Mammalian genome* 1998; 9: 652-656
119. Carmet R, Gren R, Rosenblatt DS, Watkins D. Update on cobalamin, folate and homocysteine. *Am Society of Hem* 2003; 62-81
120. Van der Put NMJ, Gabreels F, Stevens EMB, et al. A second common mutation in the methylene tetrahydrofolate reductase gene: an additional risk factor for neural-tube defects?. *Amer J Hum Genet* 1998; 62: 1044-1051
121. Li YN, Gulati S, Baker PJ, Brady LC, Banerjee R, et al. Cloning mapping, and RNA analysis of the human methionine synthase gene. *Hum Molec Genet* 1996; 5: 1851-1858
122. Ma J, Stampfer MJ, Christensen B, Giocannucci E, Hunter DJ, et al. Polymorphism of the methionine synthase gene: association with plasma folate, vitamin B12, Homocyst(e)ine and colorectal cancer risk. *Cancer Epidemiol Bio Pre* 1999; 8: 825-829

123. Blount BC, Ames BN. DNA damage in folate deficiency. *Baillieres Clin Haemetol* 1995; 8: 461-478
124. Leclere D, Campeau F, Gayette P, Adjalla CE, Christensen B, et al. Human methionine synthase: cDNA cloning and identification of mutations in patients of the cblG complementation group of folate / cobalamin disorders. *Hum Mol.Genet* 1996; 5: 1967-1974
125. Narin F. Tavşanlarda hiperhomosisteineminin ateroskleroz üzerine etkisinin incelenmesi. Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri 2001.
126. Bestor TH, Activation of mammalian DNA methyltransferase by cleavage of a ZN binding regulatory domain, *EMBOJ* 1992; 11: 2611-2617
127. Razin A and Riggs AD. DNA methylation and gene function, *Sci* 1980; 210: 9-25
128. Özdemir Ö. Kanser gelişiminde DNA metilasyonunun moleküler etkisi. *Sendrom* 1999; Mayıs: 42-46
129. Yoder JA, Bestor TH. Genetics analysis of genomic methylation patterns in plants and mammals. *Biol Chem Hoppe Seyler* 1996; 337, 10: 605-610
130. Jackson-Grusby L, Jaenisch R. Experimental manipulation of genomic methylation. *Semin Cancer Biol* 1997; 7, 5: 261-268
131. Ramsahove BD, Davies CS and Mills KL. DNA methylation: biology and significance *Cell Rev* 1997; 10, 4: 249-261
132. Doerfler W. DNA methylation and gene activity. *Ann Rev Biochem* 1983; 52: 93-124
133. Refsum H, Ueland PM, Nygard O, Vallset SE. Homocysteine and cardiovascular disease. *Annu Rev Med* 1998; 49: 31-62
134. Jones PA, Laird PW. Cancer epigenetics comes of age. *Nat Genet* 1999; 21: 163-167
135. Elrish M. DNA hypomethylation and cancer. *DNA alterations in cancer: genetic and epigenetic changes*. Westborough MA, Baton Publishing 2000: 273-291
136. Paz MF, Avila S, Fraga MF, Pollan M, Copella G. CpG-line variants in methyl-group metabolism genes and susceptibility to DNA methylation in normal tissues and human primary tumors. *Cancer Research* 2002; 62: 4519-4524
137. Bestor TH. The DNA methyltransferases of mammals. *Hum Mol Genet* 2000; 2395-2402

138. De Jong M M, Nolte I M, te Meerman GJ, vander Graaf WTA ,et al. Low-penetrance genes and their involvement in colorectal cancer susceptibility. *Cancer Epidemiol Bio markers and Prev* 2002; 11: 1332-1352
139. Toffoli G, Gafa R, Russo A, Lanza G, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase 677 C→T polymorphism and risk of proximal colon cancer in north Italy. *Clin Cancer Res* 2003 Feb;9(2):743-8
140. Levine AJ, Siegmund KD, Ervin CM, Diep A et al. The methylenetetrahydrofolate reductase 677C→T polymorphism and distal colorectal adenoma risk. *Cancer Epidemiol Bio P* 2000; 6: 657-663
141. Akar N, Akar E, Akcay R, et al. Effect of methylenetetrahydrofolate reductase 677 C→T, 1298 A→C, and 1317 T→C on factor V 1691 mutation in Turkish deep vein thrombosis patients. *Throm Res* 2000;91:163-7