

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BIYOLOJİ BÖLÜMÜ

**MİDE KANSERİ HASTALARDA XRCC2 VE XRCC3 GEN
POLİMORFİZMLERİNİN İNCELENMESİ**

MERYEM BADAY
Yüksek Lisans Tezi

Danışman
Yar.Doç.Dr.İlhami GÖK

HAZİRAN-2013

KARS

Bu tez çalışması MMF-60 numaralı proje ile KAÜ/BAP tarafından desteklenmiştir.

T.C

KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ BÖLÜMÜ

MİDE KANSERİ HASTALARDA XRCC2 VE XRCC3 GEN
POLİMORFİZMLERİNİN İNCELENMESİ

MERYEM BADAY

Yüksek Lisans Tezi

Danışman

Yar.Doç.Dr.İlhami GÖK

HAZİRAN-2013

KARS

T.C. Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Meryem BADAY' ın Yrd. Doç. Dr. İlhami Gök'ün danışmanlığında yüksek lisans tezi olarak hazırladığı "Mide Kanseri Hastalarda XRCC2 Ve XRCC3 Gen Polimorfizmlerinin İncelenmesi" adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sınavı sonunda jüri tarafından Lisansüstü Eğitim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy *birliği!*..... ile kabul edilmiştir.

27.1.6. / 2013

Adı ve Soyadı

İmza

Başkan: Yrd. Doç. Dr. İlhami GÖK

Üye: Doç. Dr. Mehmet Ali KIRPIK

Üye: Yrd. Doç. Dr. Evren KOÇ

İlhami Gök
Mehmet Ali Kirpik
Evren Koç

Bu tezin kabulü Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun ... /... /20.. gün ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

.....
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Bu çalışma Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim dalında yüksek lisans tezi olarak hazırlanmıştır. Bu çalışmada Mide Kanserine Bağlı Vakalarda XRCC2 ve XRCC3 genleri polimorfizmlerinin yaygınlığını araştırmak amacıyla yapılmıştır. Mide kanseri hastalarda XRCC3 geninin Thr241Met polimorfizmi ile XRCC2 geninin Arg188His polimorfizminin varlığı ve bölgemizdeki yaygınlığını araştırılmıştır.

Bu tezi Yüksek Lisans çalışmalarına başlamama öncülük eden Rahmetli Doç. Dr. Adnan Aldemir anısına ithaf ederim.

Bu çalışmada büyük emeği geçen, çalışmalarımı yönlendiren saygıdeğer hocam Yrd. Doç. Dr. İlhami GÖK'e; teşekkürü bir borç bilirim. Hastaların seçimi ve hastalık tanılarının tesbitinde ve hastalardan kan alımında bizleri destekleyen, Kafkas Üniversitesi Araştırma Hastanesi Cerrahi Anabilim Dalı Öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Kemal KILIÇ' ve Uzm.Dr. Süleyman ÇETİNKÜNAR 'a teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmalarım esnasında katkılarını esirgemeyen değerli hocam Yrd. Doç. Dr Cem ÖZİÇ'e ve laboratuvar çalışmaları esnasında katkılarını esirgemeyen hocam Uzman Osman İBİŞ'e ve Sayın Arş. Gör. Sevcan MERCAN'a, Yüksek lisans öğrencisi İlknur ÇELEBİ ve Özkan ÖZTAŞ'a teşekkürü bir borç bilirim.

Yüksek lisans eğitimim boyunca yanımda olan, maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen anne ve babama, tezimin revizyonunda emeği geçen değerli abilerim Dr. Murat Baday ve Dr.Sefer Baday'a teşekkürü bir borç bilirim.

Kars,2013

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	iv
ÖZET	vii
ABSTRACT.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
RESİMLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
1.GİRİŞ:.....	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1.GENETİK HASTALIKLAR:	3
2.2. KANSER GENETİĞİ	4
2.2.1.Genetik Polimorfizm:	7
2.2.2.Genetik polimorfizm Çeşitleri:.....	7
2.2.3.Genetik polimorfizmin mekanizması:	8
2.2.4.Tek Nükleotid Polimorfizm:	8
2.3. KANSERİN GENETİK MEKANİZMASI.....	9
2.4.GASTROİNTESTİNAL SİSTEM VE KANSER.....	10
2.4.1.Mide Kanseri:	10
2.4.1.1. Mide Kanserinin Tarihçesi:	10
2.4.1.2. Mide Kanserinin Epidemiyolojisi:	11
2.4.1.3. Mide Kanserinin Patolojisi:	12
2.4.1.4. Mide Kanserinin Etyolojisi :	12
2.5. DNA Onarımı ve Kanser:	12
2.5.1.Homolog Rekombinasyon:	13
2.5.2.Homolog olmayan uçların bağlanması:	14
2.5.3. Baz Hasarı Onarım Mekanizmaları.....	15
2.5.3.1. Hasarın Doğrudan Geri Döndürülmesi	15
2.5.3.2 Baz Çıkarma Onarımı (BER)	15
2.5.3.3. Nükleotid Çıkarma Onarımı (NER)	15
2.5.3.4. Hatalı Eşleşme Onarımı	16
2.6.XRCC2, XRCC3 Genleri:	17
2.6.1. XRCC2 Geni :	17
2.6.2. XRCC3 Geni:	18
2.7.KALITSAL HASTALIKLARIN TANISINDA KULLANILAN MOLEKÜLER YÖNTEMLER	19
2.7.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) :	19

2.7.1.1. PCR Çeşitleri:.....	20
2.7.2.Doğrudan Analiz (bilinen mutasyonlarının taranması)	21
2.7.2.1.REA (Restriksiyon Enzim Analizi)	21
2.7.2.2. Heterodupleks oluşum analizi	21
2.7.3. İndirekt Analiz (Bağlantı Analizi).....	21
2.7.3.1.Restriction Fragment Length Polymorphisms; Restriksiyon Parça Uzunluğu Polimorfizmleri (RFLPs)	22
2.7.3.2.Variable Number of Tandem Repeats; Değişken Sayıda Tandem Tekrarları (VNTRs).....	22
3.MATERYAL VE METOT	23
3.1.Çalışma Grubu:.....	23
3.2. Hastalar ve Demografi	23
3.3.Kontroller Ve Demografi:	24
Kontrollerin 24'ü (% 30.76) kadın, 54'ü (% 69.24) erkektir.....	24
Çizelge 3.3.1:Kontrollerin cinsiyet ve yaşa göre dağılımları	24
3.4. Kimyasal Maddeler :.....	25
3.5. Gereçler :	26
3.6.Solüsyonlar:	27
3.7.Periferik Kandan DNA İzolasyonu:	27
3.8. DNA Konsantrasyonun Nanodrop Spektrometresinde Ölçümü:	28
3.9.Mide Kanseri Hastalar ve Kontrollerin PCR ile Polimorfizm Analizleri :	28
3.10.Agaroz Jel Elektforezi:	31
3.11. Restriksiyon Parça Uzunluğu Polimorfizmi (RFLP) Analizi:	31
3.12.İstatistik Analiz:	31
4.BULGULAR.....	32
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	38
KAYNAKLAR.....	41
ÖZGEÇMİŞ.....	49

ÖZET

Bu çalışma Kars yöresinde yaşayan ve klinikte mide kanseri tanısı alan hastalarda XRCC2 ve XRCC3 genleri polimorfizm yaygınlığını tanımlamak amacıyla yapıldı. Araştırmamızda kliniklerde mide kanseri tanısı alan toplam 61 hasta ve 78 kişilik kontrol grubu genomik düzeyde incelendi.

DNA tamirinde görev yapan XRCC2 ve XRCC3 genleri Arg188His ve Thr241Met polimorfik bölgelerindeki nükleotid değişimleri incelendi. Klinikte mide kanseri tanısı alan her bir hastadan ve kontrol amacıyla sağlıklı bireylerden DNA izolasyonu amacıyla kan örnekleri alındı. Alınan kan örneklerinden tuzla çöktürme metoduyla DNA izolasyonu yapıldı. İzole edilmiş DNA örneklerinden ilgili polimorfik bölgelerin primerleri kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu yardımıyla çoğaltıldı. Çoğaltılan Pcr ürünleri belirlenen restriksiyon enzimleriyle kesildi. Restriksiyon enzimiyle (HphI ve NcoI) kesilen DNA ürünleri agaroz jel elektroforezinde yürütüldü ve resimleri çekildi. Her iki polimorfik bölgedeki nükleotid değişimleri jel resimleri yardımıyla tayin edildi.

Sonuç olarak 61 mide kanseri hastasında XRCC2 geni Arg188His polimorfizmindeki değişim oranı 61 hastanın 24'ünde %39 oranında ve aynı grubun sağlıklı bireylerinde 78 kişinin 12'sinde %15 oranında nükleotid değişimi gözlemlendi. XRCC3 geni Thr241Met polimorfizmindeki değişim oranı 61 hastanın 18'inde % 29 ve aynı grubun sağlıklı bireylerinde ise 78 kişinin 11'inde %14 oranında nükleotid değişimi görülmüştür. Bulgularımız mide kanseri hastalar ile sağlıklı bireylerdeki polimorfizm değişikliği açısından karşılaştırıldığında hastalardaki ilgili polimorfik değişimlerinin istatistiksel olarak anlamlı olduğundan her iki polimorfizm bölgesindeki değişimlerinin kanser riskini tetikleyebileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Mide Kanseri, XRCC2 ve XRCC3 genleri, Genetik Polimorfizm, PCR, RFLP, Kars İli

ABSTRACT

We have studied prevalence of polymorphisms in genes XRCC2, XRCC3 with the gastric cancer patients who lived in Kars region of Turkey. There were 61 cancer patients and 78 control people in this study.

Single nucleotide changes were studied in XRCC2 and XRCC3 genes at locus Arg188His ve Thr241Met. Bloods samples were taken from these patients and health controls and DNA is isolated. Interest regions in genome is amplified using Polymer Chain Reaction method. After amplification, we used restriction enzyme (HphI and NcoI) and digested these DNA. Later these DNAs were passed through gel electrophoresis. By looking at all these images, we identified changes in nucleotide in these specific regions.

We observed Arg188His polymorphism of XRCC2 genes by 39 percent as shown in 24 out of 61 cancer patients. Only 12 out of 78 control group showed this polymorphism (15%). We also observed 18 out of 61 patients (% 29) carried Thr241Met polymorphism of XRCC3 gene. Same polymorphism were observed in 11 out of 78 healthy control group (% 14). Our results shows that there is significant difference between patient and control group's polymorphism ratios. Most cancer patients carry Arg188His of XRCC2 and Thr241Met of XRCC3 polymorphisms, almost twice of control group. This results clearly shows that these polymorphism increases risk of cancer and would be good marker for early diagnostics for gastric cancer.

Keywords: Gastric cancer, XRCC2, XRCC3, Genetic polymorphism, PCR, RFLP and Kars City.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

1.Simgeler

kDa	Kilo Dalton
ml	Mililitre
µl	Mikrolitre
°C	Santigrat derece
%	Yüzde
n	Sayı
T _m	Erime Sıcaklığı

2. Kısaltmalar

DNA	Deoksiribonükleik asit
RFLP	Restriksiyon Parça Uzunluğu Polimorfizmi
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RNA	Ribonükleik asit
BER	Baz Çıkarma Onarımı
NER	Nükleotid Çıkarma Onarımı
REA	Restriksiyon Enzim Analizi
VNTRs	Değişken Sayıda Tandem Tekrarları
OGG1	8-oksiguanin DNA Glikolaz
XRCC	X-ray repair cross-complementing protein
BRCA2	breast cancer type 2 susceptibility protein
LIG4	LİGAZ4

BMP2

Bone morphogenetic protein 2

RDB

Reverse Don Bin

RESİMLER DİZİNİ

Resim 2.2.1. Hücre Döngüsü

Resim 2.2.2. SNP'lerin Gösterilmesi

Resim 2.3.4. Gen Aktarımı

Resim 2.7.1.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Resim 4.1. Mide Kanserli hastalarda XRCC2 Geni PCR ürünün Jel Görüntüsü

Resim 4.2. Kontrollerde XRCC2 Geni PCR ürünü Jel Görüntüsü

Resim 4.3. Mide Kanserli Hastalarda XRCC3 Geni PCR ürünü Jel Görüntüsü

Resim 4.4.:A) Hasta ve kontrollerde XRCC2 geninin HphI enzim kesimi sonucu jel resimleri, B) Hasta ve kontrollerde XRCC3 geninin NcoI enzim kesimi sonucu jel resimleri.

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.9.1. XRCC2 Gen Primerleri

Çizelge 3.9.2. XRCC3 Gen Primerleri

Çizelge 3.9.3. Hasta ve Kontroller Grubu XRCC2 ve XRCC3 Genleri PCR Reaksiyonu Karışımı

Çizelge 3.9.4. Hasta ve Kontrol Grubu XRCC2 ve XRCC3 Genleri Siklus Programı

Çizelge 4.1. XRCC2 Geni Hasta ve Kontrol Grubu Polimorfizm Dağılımları

Çizelge 4.2. XRCC3 Geni Hasta ve Kontrol Grubu Polimorfizmlerin Dağılımları

Çizelge 4.3. XRCC2 Geninin Arg188His Polimorfizmlerinin Hasta ve Kontrollerin Dağılımı

Çizelge 4.4. XRCC3 Geninin Thr241Met Polimorfizmlerinin Hasta ve Kontrollerin Dağılımı

Çizelge 4.5. Mide Kanserli Hasta ve Kontrol Grubu Cinsiyet Dağılımı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.5.2.1. DNA onarımı

Şekil 2.5.3.3.1. Nükleotid Çıkarma Onarımı ve Baz Çıkarımı Onarımı

Şekil 2.6.1.2. XRCC2'nin insan geninin 7. insan kromozomu üzerinde ve ekson (mavi kutu) ve intron (\\) olarak şematik gösterimi.

Şekil 2.6.1.3. XRCC3'ün insan geninin 14. insan kromozomu üzerinde ve ekson (mavi kutu) ve intron (\\) olarak şematik gösterimi.

Şekil 4.1. Arg188His polimorfizminin Hasta ve Kontrollerin dağılımları

Şekil 4.2. Thr241Met polimorfizminin Hasta ve Kontrollerin dağılımları

Şekil 4.3. Mide Kanserli Hasta ve Kontrol Grubu cinsiyet dağılımları

1.GİRİŞ:

Günümüzde kanser vakaları toplum sağlığını büyük oranda tehdit etmektedir. Dünyada kanserden hayatını kaybedenlerin sayısı 7.6 milyon kadardır [1, 2] . Türkiye de ise bu rakam 170-175 bin civarındadır [3]. Sindirim sistemine bağlı kanser vakalarında Dünya da ölümlerin sayıları 920 bin kadardır [2].Türkiye’de ölümlerin sayısı 64 bindir [3].

İnsan DNA’sının 23,000 kadar gen içerdiği düşünülmektedir [4]. Kanserın insan genomunda çok değişik yerlerdeki genlerle ilişkisi vardır. Kanserde sorumlu olan üç gen vardır: Proto-onkogenler, tümör süpressor genleri ve DNA tamir genleridir. İnsanda görülen kanser hastalıklarında günümüze kadar 300 farklı genin aynı sıklıkla mutasyon geçirdiği gözlemlenmiştir [5]. Gen ile çevre ve gen ile hastalık etkileşimlerinde en yaygın araştırma alanlarından biri de kanserdir [6, 7].

Tüm organizmalarda, hücreleri çevresel hasarlara karşı korumak amacıyla DNA onarım mekanizması vardır. DNA onarımı, çok çeşitli işlemler ile ilişkilendirilmektedir. Bunlar: hücre ölümünü, mutasyonu, replikasyon hatalarını, DNA hasarının devamlılığını ve genomik kararsızlığı azaltan işlemlerdir. Bu işlemlerdeki herhangi bir anormallik kansere ve yaşlanmaya yol açar [8]. DNA onarımında görev alan OGG1, ERCC1, XRCC1, XRCC2, XRCC3, XPC, XPD/ERCC2, XPF, BRCA, MRE11, NBS1, Ku70/80, XRCC6, LIG4 , BMP2, RAD51 genlerin polimorfizmleri, proteinlerin işlevini ve bireylerin hasarlı DNA’yı onarma kapasitesini değiştirebilmektedir. Eksik onarım kapasitesinde genetik kararsızlığa ve bu nedenle kanser oluşumuna sebep olabilmektedir [9].

Mide kanseri ise en yaygın kanserlerden biridir [10, 11]. Mide kanseri, dünyada kanser ölümlerinin ikinci önde gelen nedenidir. Dünya çapında görülen tüm kanserlerin yaklaşık %10’unu oluşturur. Özellikle Japonya’da hastalık epidemik boyutlardadır. Yüksek riskli bölgeler Asya, Güney Amerika, ve Batı Avrupa iken ; düşük riskli bölgeler Kuzey Amerika, Kuzey Avrupa ve çoğu Afrika ülkesidir. Düşük ve yüksek risk bölgeleri arasında kanser görülme sıklığı açısından 10-20 kata kadar fark olduğu bildirilmektedir [12]. Bölgeler arasında bu kadar büyük farklılıklar bu hastalığın genetiğine çok bağlı olduğu hakkında güçlü ipuçları vermektedir. Helikobakteri mide kanserinde rol oynamaktadır [13]. 1965 yılında Lauran kriterine göre, birçok mide kanserinin iki grupta intestinal ve diffüz olarak sınıflandırılmıştır [14].

Genetik polimorfizmler ve mutasyonlar kanserin en büyük nedenlerinden birisidir [15–20]. Doğal populasyonlarda yakın frekanstaki genlerden dolayı ortaya çıkan alternatif genotiplerin

dengeli durumunda bulunmasına genetik polimorfizm denir [21]. Mutasyon DNA sekansındaki hastalığa neden olan değişiklik olarak tanımlanır. Bir diğer tanımlama ise toplumda az rastlanan allelin sıklığı %1 den sıkısa polimorfizm, eğer daha nadirse mutasyon olarak yorumlamanın doğru olduğu şeklindedir [22]. Sadece DNA tamir proteinlerinin tamir vazifesinin aksamasıyla kansere yol açmasının yanında başka alakalı genlerin ve proteinlerinde etkilenmesinden dolayı kanser olayları gözlemlenebilmektedir.

Bu çalışmamız hastanelerde tanısı konulan mide kanseri vakalarında XRCC2 ve XRCC3 gen polimorfizmlerini PCR ve RFLP metodlarıyla araştırmayı amaçladık.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.GENETİK HASTALIKLAR:

Genetik hastalıklar genlerdeki bozukluklardan meydana gelmektedir. Gen bozukluğu çok ender olduğundan, böyle bir bozukluk genelde kuşaktan kuşağa geçerek, genetik yapının bir parçası olur. İnsanda genetik hastalıklar çok çeşitli şekilde görülebilir. Genel anlamda üç ana başlık altında toplayabiliriz: Kromozom hastalıkları, Tek gen hastalıkları, Mendeliyen kalıtım hastalıkları [23]. Bu üç sınıftan mendeliyen kalıtım hastalıklarında somatik hücre hastalıkları çok önemlidir.

Somatik hücre hastalıklarının kliniğe en önemli yansıması kanserler olarak karşımıza çıkmaktadır. Kanser, hücrelerde DNA' nın hasarı sonucu hücrelerin kontrolsüz veya anormal bir şekilde çoğalmasdır [24]. Kanser gelişiminde üç çeşit gen sorumludur. Bunların birisi onkogenlerdir ve bunlar malign transformasyonu hızlandırırlar. Diğeri, tümör supressör genleridir ki; normalde bunlar hücre gelişiminde fonksiyon gören genleri regüle ederler ve tümör gelişimini engeller ama mutasyon veya kayıplarında bu fonksiyonlarını yerine getiremezler [25]. Bunlardan bazıları da DNA tamir genleridir. DNA hasarının onarılmasını düzenleyen DNA onarım genleri karsinogenezle ilgilidir. DNA onarım genleri organizmanın diğeri genlerdeki ölümcül olmayan hasarları onarım yeteneğini etkileyerek dolaylı olarak hücre proliferasyonunu veya yaşamını etkilemektedir [26, 27].

Genetik hastalıklar, dünyada olduğu kadar ülkemizde de çok önemli bir sağlık sorunudur. Kalıtsal hastalıklar, genlerdeki bozukluklardan kaynaklanır. Kalıtsal hastalıklara retinoblastomayı örnek verebiliriz. Retinoblastoma aile tarihçesi (kalıtsal hastalık) olan ve gebe kaldıkları anda yeni bir eşey hücre öncüsü mutasyonu taşıyan hastaları içerir. Retinoblastomaya yatkınlıktan sorumlu genetik bölge, 13.kromozomun q14 bandı içinde yerleşmiştir. Klonlanan ilk tümör olan baskılayıcı geni olan Retinoblastoma geni (RB) 1987 yılında klonlanmıştır. Buna bir başka bir örnek hemoglobin genindeki bozuklukların yol açtığı thalessemi hastalığı verebiliriz. Bu hastalık Akdeniz, Afrika, Hindistan'da yaygındır [28].

Günümüzde yaklaşık 4.500 genetik bozukluk bilinmekte bunlardan en yaygın olanı sistik fibrozisi olmakta birlikte en nadir görüleni kas hastalığıdır ve ilerleyen teknolojik laboratuvar koşulları ile her gün bir yenisi daha ortaya çıkarılmaktadır

[29]. Ülkemizde yeni doğan bebeklerde genetik hastalıktan doğan anomalileri %2-3 belirlenmekte, yaşamın geçen evrelerinde bu oran %6-7'ye çıkmaktadır [30].

Kalıtım şeklinin belirlenmesi genetik hastalıklar için çok önemlidir. Bu, ailede olası ve kesin taşıyıcıların saptanması ve doğacak olan çocukta aynı hastalığın ortaya çıkıp çıkmayacağını araştırılması, özellikle kesin tedavisi olmayan kalıtsal hastalıkların önlenmesi için günümüzde izlenebilecek tek yoldur [31]. Bunun içinde gen tedavisi çalışmaları devam etmektedir. Gen tedavisi ise genetik hastalıklarda bulunan genetik defektlerin düzeltilmesi amacıyla somatik hücelere nükleotid dizilerinin aktarımı olarak tanımlanmaktadır. Gen tedavisinde hedef, gerekli dokuya genin bozuk olmayan bir kopyasının verilmesidir. Bu yöntem bazı kan hastalıkları için uygulanabilir [32].

2.2. KANSER GENETİĞİ

Kanser kendini göstermesi, gelişimi ve sonuçları açısından bir hastadan diğerine çok değişken olan, karmaşık bir hastalıktır. Kanser oluşum sürecinde bilindiği gibi genomda 3 milyar baz çifti bulunur ve vücudumuzdaki tüm moleküler gibi, bunların her biri çeşitli kimyasal, fiziksel ya da toksik ajanlarla tepkimeye girer. Kanser hücreleri genelde iki özelliğe sahiptir. Bunlardan biri kontrolsüz hücre bölünmesi ve diğeri bulunduğu yerden vücudun bir başka yerine yayılma ya da metastaz yapabilme yeteneğidir [33].

Kanser çok çeşitli olmak üzere farklı yerlerde görülebilir. Bunlar: Beyin ve omurilik %1, cilt %10, genital bölgeler: erkeklerde %20, kadınlarda %8, meme %14, sindirim sistemi %25, solunum yolları: erkeklerde %2, kadınlarda %3, karaciğer ve safra kesesi %3, diğer organlar %8 olmak üzere yüzdelenmektedir [29].

Kanserde iyi ve kötü huylu olmak üzere iki tür tümör vardır. Bunlardan iyi huylu (benign) tümörler kanser değildir. Komşu bölgelere yayılmadığı gibi sınırları belirgindir ve komşu dokuları eritmezler. Kötü huylu (malign) tümörler ise kanser olarak adlandırılır. Komşu organ ve dokulara yayılırlar ve kemik doku ile karşılaştıklarında onu dahi eritirler (rezorbsiyon) Sınırları belirsiz olduğu gibi malign tümörü oluşturan hücreler o kadar farklılaşmışlardır ki orijinlerinin ne olduğunu söylemek imkânsızdır. Lenf ve kan yoluyla uzak organlara da yayılırlar [29].Bunu kısaca ifade edersek kanserli hücrelerin en ayırt edici özelliği onların durdurulamayarak farklılaşmasıdır.

Kanser tümörleri fikri, ilk önce gerekli teknolojileri tümör oluşumu belirli genlerin eylemle ilgili olduğu 1970’li yılların başında kullanılmaya başlanıncaya kadar yeterli değildi. Bu fikrin kazancın görevi, genetik değişiklikler alıcı hücrelerin içine gen transfer gibi başvuru deneyimlerden uzaktır: Bu hücreler bir kanser fenotipine bir yaklaşım transformasyon için denenebilmiştir [34–37].

Protoonkogenler; protein ürünleri, hücre büyümesini ve farklılaşmasını kontrol eden genlerdir. Bu genler, gen ürünlerinde kalitatif ve kantitatif değişikliklere sebep olan mutasyonlara uğrarlar. Bu mutasyonlar sonrasında onkogenler olarak adlandırılır. Bu genler normal hücre döngüsü ya da diferansiyonun kontrolü gibi görevlere sahiptir, fakat onların uygun olmayan aktivasyonu mekanizmaların işlevini değiştirebildiğinden kansere neden olabilir [38].

Tümör süpressör (baskılayıcı) genler genellikle hücre çoğalmasını bir şekilde inhibe eden proteinleri kodlarlar. Hücre döngüsünün belirli bir basamağının ilerlemesini düzenleyen ya da inhibe eden hücre içi proteinler.

-Hücre çoğalmasını inhibe eden gelişimsel sinyaller ya da salgılanan hormonlar için reseptörler ya da sinyal değiştiriciler.

-DNA’nın hasarlı olduğu ya da kromozomların anormal olduğu durumlarda kontrol noktası – kontrol proteinleri. Örnek olarak p53 genini verebiliriz. P53 geni de şimdiye kadar bilinen en ünlü tümör süpresör genidir ve bütün kanser tiplerinin yaklaşık %50’sinde inaktive edici mutasyon gösterdiği bilinmektedir. Baş boyun kanserlerinde hem tümör dokularında hem de hücre kültürü çalışmalarında p53 genine ait delesyonlar ve mutasyonlar gösterilmiştir [39].

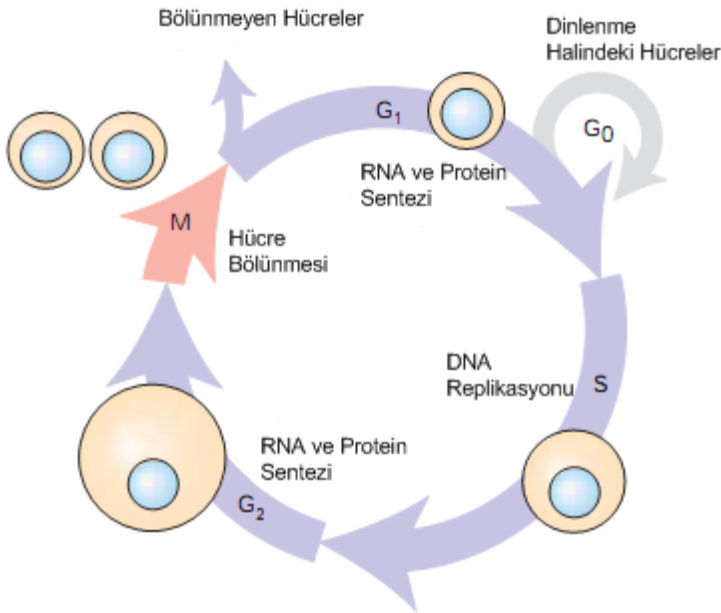
-Apoptozu ilerleten proteinler [28].

Sitogenik yapının korunmasından ve DNA’da oluşabilecek hasarı tamirden sorumlu hücresel mekanizmaları kodlayan genlerin mutasyonu yada epigenetik sessizliği şeklinde ilave genetik hasarların biriken etkisiyle kanser yaygınlaşır [40].

Kanser genetiği yıllardır kanser hücrelerinin içinde kendi birincil etkiye sahip mutasyon olaylarına odaklanmıştır. Son zamanlarda bu odak epigenetik , önemi ve kanser gelişiminde hücresel etkileşimlerin delilleri ile büyümüştür. Epigenetik değişiklikler; gen nükleotid dizisinde değişiklik olmaksızın gen ifadesinde kalıtılabilir değişikliklerdir. Epigenetik, mekanizmalarının engellemesi genomik baskılanmanın durumuna özgü olarak sorumludur.

DNA metilasyonu için hipo veya hipermetilasyon epigenetik değişikliklere örnek olarak verilebilir. Kansere gelişiminde veya iyi huylu bir tümörün kötü huylu bir tümöre dönüşmesinde rol oynayabilirler [41, 42].

Normal büyüme ve gelişme, büyüme teşvik edici ve büyüme inhibe edici yollar arasındaki ayarlanmış son derece hassas ve organize bir dengeye bağlıdır. Bu dengeyi bozan mutasyonlar kanser oluşumuna yol açar. Hücre döngüsünün düzenlenmesi kanser genetiği ile yakından ilişkilidir. Hücre bölünmesi hücre döngüsüne bağlıdır. Oysa, kanser hücrelerinde hücre döngüsünün kontrolü kaybolmuş ve hücre çoğalması hızlanmıştır. Hücre döngüsünün hakkında yapılan genetik çalışmalar, kanserin kökeninin iç yüzünü anlamamız için bize yardımcı olacaktır [39].



Resim 2.2.1. Hücre Döngüsü [43]

Çok düzenli bir şekilde kontrol edilen hücre döngüsü, hücre büyümesi ve hücre bölünmesi için organizmanın yürüttüğü bir programdır. Hücreler arasında farklılık gösteren hücre döngü süresi, bir dakika ile bir sene arasında değişmektedir [40].

2.2.1.Genetik Polimorfizm:

Doğal populasyonlarda yakın frekanstaki genlerden dolayı ortaya çıkan alternatif genotiplerin dengeli durumunda bulunmasına genetik polimorfizm adı verilir. Genetik polimorfizmler kanser riski ile ilişkilendirilmiştir. Eğer bu varyasyonlar Akdeniz anemisi, ya da fenilketonüri hastalıklarında olduğu gibi doğrudan bir hastalığa yol açıyorsa buna ‘mutasyon’ denir. Mutasyonlar, toplumun %1’inden daha nadir görülen genetik değişikliklerdir. Bunun tam tersi olarak bir varyasyon toplumun %1’inden daha çoğunda görülüyorsa ve bireyler arasında bir fiziksel farklılık, hastalıklara yatkınlık veya direnç açısından bir farklılık yaratıyorsa o toplumda polimorfizm vardır diyebiliriz. Polimorfizmler doğrudan hastalıklara yol açmazlar [14]

2.2.2.Genetik polimorfizm Çeşitleri:

Polimorfizmler delesyon, insersiyon olmak üzere başta tek nükleotid polimorfizm (SNP) ve mikrosatelitler ve segmental duplikasyon, hareketli elementler ve kromozomun yapısı değişmesi gibi çok çeşitlidir. Bunlardan en önemlisi SNP’lerdir. SNP’ler belirli bir baz pozisyonunda meydana gelen tek nükleotid değişiklikleridir. Tüm genetik varyasyonların %90 ını oluşturur. İnsan genomunda 10-30 milyon SNP olduğu tahmin edilmektedir. Belli bir populasyonda sıklığı genellikle %1 den azdır [44, 45].

Mikrosatelitler ise Genellikle ökaryotik kormozomlarda bulunan, rastgele tekrarlanan (ve genetik bilgiyi taşımayan) küçük DNA sekanslarıdır (<100 bp). Kolaylıkla amplifiye edilebilir ve klonlanabilirler. Bu mikrosatelitler insan hekimliğinde babalık testlerinde, kalıtsal hastalıkların teşhisinde ve genetik haritaların yapılmasında kullanılabilirler. Mikrosatelitler çiftlik hayvanlarında, verim, büyüme hızı, vs. parametrelerin saptanmasında da yardımcı olabilmektedir. Genellikle bunlar 4-6 baz çiftinin 3 den 100 e kadar tekrarları ile oluşurlar [46].

Delesyonlar: DNA dizisi içerisinde nükleotidlerin kırılıp-ayrılması, genin normal uzunluğundan daha kısa olmasına neden olur. Yada bazı genlerin yada gen gruplarının bir daha ki nesillerde görülmemesi şeklinde de görülebilir. İnsersiyon ise DNA içerisine nükleotidlerin eklenmesi, genin normal uzunluğundan daha uzun olmasına neden olur. Bu protein kodlayan bir gen ise, proteinin aminoasit dizisinde artma olur [47]. Hücrelerin akrinin türevleriyle muamele edilmesi sonucu deneysel olarak da oluşturulabilir.

2.2.3.Genetik polimorfizmin mekanizması:

Genetik polimorfizmler genden tercüme edilen protein profilleri üzerinde etkileri üzerinde görevsel ve görevsel olmayan polimorfizmleri içinde ikiye ayrılmıştır. Bunlardan birincisi görevsel polimorfizm enzim ya da proteinin ifadesinin farklı seviyesi içindeki sonuçlardan biri DNA sekansının bir değişikliğidir. Diğer ise görevsel olmayan polimorfizm onların hiçbirinde sonuçlanmaz. Görevsel polimorfizm genin bağlanan bölgeleri ya da bağlanmayan bölgeleri olabilir. Varyasyonlar bir genin bağlanma bölgesi proteinin ilk sekansı değişerek protein görevi ya da enzim aktivitesi değiştirme potansiyeline sahiptir. Bu bağlanmayan bölgeler intronlar ve proteinin ilk ifadesinin seviyesi düzenlenerek transkribe edilmeyen regülatör bölgeler oluştururlar. Bununla birlikte, polimorfizm iki ucu birleştiren kesişme noktasında meydana gelir. O enzim ya da proteinin yapısı etkili olabilir. Genetik çeşitlilik protein kendisi üzerinde değişiklikten daha çok protein seviyesi uzaması ile birlikte bunların kodlamayan bölgeleri ile ilişkilendirilmiştir [48].

2.2.4.Tek Nükleotid Polimorfizm:

Tek nükleotid polimorfizmi (single nucleotide polymorphism:SNP) eski bir kavram için yeni bir terimdir. Genetikçiler bireyler arasındaki farklılıkları bulmak için onlarca yıldır uğraşıyorlar. Geçmişte fenotipler protein sekansı, elektroforez, restriksiyon parça polimorfizmi (RFLP) ve mikrosatellitlerin yerine kullanılmaktaydı. DNA sekans analizi ve tek baz farklılıklarının tesbiti için yeni teknolojilerin kullanımıyla; bireyler arasındaki tüm DNA sekans farklılıklarının bulma yoluna gidildi. Yeni hedef hastalık riskleri ve tedavilere cevap gibi fenotiplerin, genetik farklılıklarla ilişkilerini bulmaktır [44, 45, 49].



Resim 2.2.2. SNP'lerin Gösterilmesi [14]

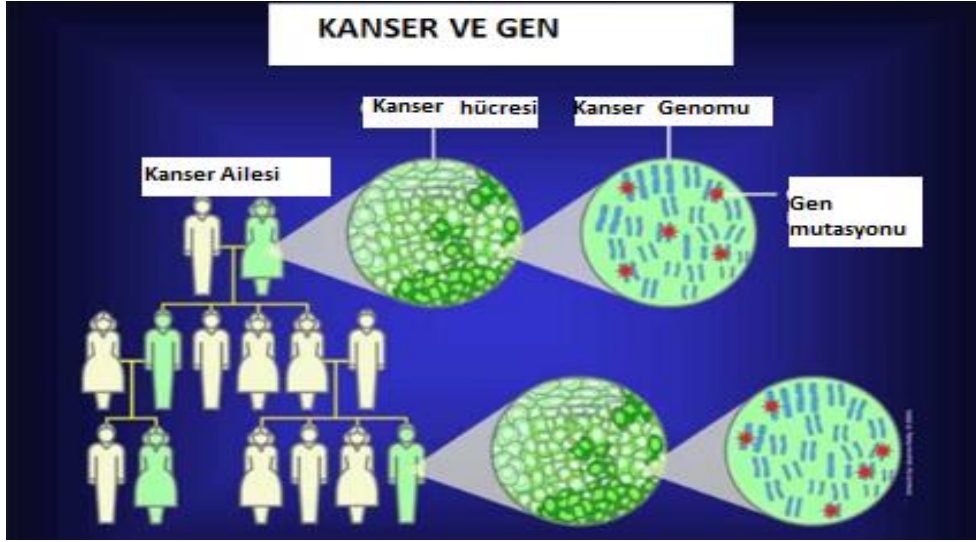
2.3. KANSERİN GENETİK MEKANİZMASI

Kanser hücrelerinin en önemli özelliği genomlarının değişken olmasıdır. Bu genom değişikliği kromozom ve nükleotid değişikliği olmak üzere iki şekilde görülebilir. Kromozom değişikliği sonucu olarak, kanserli hücrelerde kromozom sayıları kadar, kromozom yapıları da değişebilir. Buna karşın, nükleotid değişikliği, kromozomlarda gözle görülebilen bölgesel değişkenlik yaratmaz. Değişimlerin çoğu bir ya da birkaç nükleotid değişikliği ile sınırlı kalır [33].

Kanserin oluşum süreci şöyledir: çoğu kanser sadece tek bir hücreden ya da az sayıda hücreden doğar. Bu süreç etrafındaki hücrelerin yok edilmesini gerçekleştiren hücrelerden oluşan bir klonun oluşumuna yol açar. Eğer organizma bu klonu tolere ederse ve rahatsız edilmeden kalırsa, çoğalmaya devam edebilir ve bu süreç içinde içerdiği hücreler gittikçe artan sayıda modifikasyon biriktirir. Böylesi bozulmuş bir süreçte, sadece en uygun ve en saldırgan hücreler hayatta kalacak ve daha savunmasız olan hücrelerin yerini alacaktır [50].

Kanserleri etkileyen faktörlerden en önemlisi mutasyonlardır. Örneğin: KRAS mutasyonları kolorektal ya da akciğer adenokarsinomalarda gibi bir çok kanserde yaygındır. İyonize radyasyon, kimyasallar ve virüsler gibi karsinojenler (kansere neden olan ajanlar) genelde etkilerini mutasyonlara neden olarak gösterirler [51].

Genetik olarak hastalar kansere neden olan genin sadece bir mutant allelini kalıtım yoluyla alırlar ve bu gen onları kansere yakalanma olasılığını arttırır. Sonunda da kişi büyük bir olasılıkla başlı başına mutant allele, diğer genlerdeki mutasyonlara ve çevresel faktörlere bağlı olarak kansere yakalanabildiği görülebilir [52].



Resim 2.3.4. Gen Aktarımı [53]

2.4.GASTROİNTESTİNAL SİSTEM VE KANSER

2.4.1.Mide Kanseri:

2.4.1.1. Mide Kanserinin Tarihçesi:

İlk olası mide kanseri olgusuna M.Ö.1660 yıllarında yazılan Ebers yazıtlarında rastlanmaktadır. Hem Hipokrat hem de Galen mide kanseri ile ilgilenmiştir. Mide kanseri tanımına uyan bazı bulgular 11. yüzyılda İbni Sina tarafından İbni Sina Tıp Ansiklopedisine geçirilmiş ve mide kanserinin semptom ve bulgularının erken ve doğru tanınması gerektiğine değinilmiştir. 19. yüzyılda Aussent, Chardel, Otto ve Laennec gibi bilim adamları mide kanserinin birçok tanımlamasını yapmışlardır [54].

1830'lu yıllarda Dr.Cruveillhier midenin selim ve habis ülserlerinin tanımını yapmıştır. 1839'da Bayle 'maladies cancreuses'adlı yayınında mide kanserinin klinik tablosunu tarif etmiştir. Hipotezde 1965' de mide kanseri etiolojisi ilk var olan aşırı tuz tüketimi saptanmıştır [55].

İlk olarak 28 Ocak 1881 de Alman cerrah Theodone Billroth mide kanserini rezeke edip Gastroduodenotomi yapmıştır [56]. Daha sonra 1885'te Billroth parsiyel gastrektomilerine gastrojejunostomilerini de ekledi. Böylece literatürde Billroth I ve Billroth II ameliyatları yerlerini almış oldu. 1984 yılında Japon gastroenterolog Tada T1N0 mide kanserine ilk endoskopik mukozal rezeksiyonu uyguladı. 1995 yılında Yamashita Y, Kurohiji T, Kakagawa T laparoskopik olarak erken evre mide kanseri rezeksiyonunu yaptılar. Yaklaşık 30 yıllık

kullanımdan sonra 1997 yılında revizyona tabi tutulan TNM evreleme sistemi yaygın olarak kullanılmaktadır [57].

2.4.1.2. Mide Kanserinin Epidemiyolojisi:

Mide kanseri dünyanın her tarafından en çok ölüme neden malign bir hastalıktır. Bunun yanı sıra, akciğer kanserinin arkasında dünyanın ikinci başlangıç kanser sebebinin içerir. 2000 yılı içinde bu hastalıktan ölenlerin 870.000 den fazla olacağı kanser ölümlerinin yaklaşık olarak %12' sı rapor edilerek tahmin edilmiştir. Mide kanseri yıllarca araştırmacıların dikkatini cebzetmişlerdir. Özellikle bir risk faktörü olarak düşünülen Helikobakteri pilorinin acilliği ile birlikte bu mide kanseri patogenezi ve etiolojisi anlaşılabilirliğinin gelişebilmesi için ve hastalığın aktif önceliğinin ihtimalini ortaya çıkarmak için çalışılmıştır [55].

Mide kanseri Japonya, Orta ve Güney Amerika'da And dağları bölgesinde ve Batı Avrupanın bazı bölgelerinde çok yaygındır. Erkeklerde kadınlarına kıyasla iki kat daha sık görülmektedir [58].

En sık Japon toplumunda 100.000 de 100 oranında görülmektedir. Erkeklerde 1/1.5 oranında daha fazla görülür. En sık görüldüğü yaş 60-70 yaşlardır[55][44]. Mide kanseri insidansı arasında değişiklik göstermektedir. Uganda gibi bazı Orta Afrika ülkelerinde belirgin olarak düşüktür [59].

Mide kanseri epidemiolojisinde en dramatik değişimlerden biri, lezyonun midedeki yerleşim yerindedir. Geçen 30 yıl içinde, giderek daha proksimal yerleşimli kanserlere doğru bir kayma olmuştur [60].

Dünya üzerinde birçok ülkeler içinde bu yüzyılın ilk yarısında mide kanserinin hem insidansı hem de mortalitesinin oranları azalmaktadır. Avustralya içinde mide kanseri mortalite oranı 1950 içinde 2.6 milyondan 1994 de 0.67 milyona düşmektedir. Japonya'da aynı peryot mortalite oranı ilk 1970'e kadar görünüşte azalış olmamıştır. Bunun aksine toplam mide kanseri oranların azalışı, gelişmiş ülkelerde lokalize olmuş kardial mide kanserinin insidansı içinde bir hızlı artış olmuştur [55]. Ülkemizde 1995 yılı istatistiklerine göre insidansı yüz binde 4,4'dür. Ülkemizde bölgelere göre farklılık göstermektedir. Türkiye'de gastrointestinal kanserler arasında ilk sırada iken, tüm kanserler arasında dördüncü sırada yer alır [61].

2.4.1.3. Mide Kanserinin Patolojisi:

Mide tümörleri arasında en sık rastlanılan adenokarsinomdur (%90-95). Sırasıyla lenfomalar (%4), karsinoidler (%3) ve mezankimal iğsi hücreli tümörler (%2) gelmektedir [62].

Adenokarsinolar iki kategoriye bölünür bunlar intestinal ve diffuse tip diye adlandırılır [55].

2.4.1.4. Mide Kanserinin Etiyolojisi :

Mide kanserinin etiyolojisinde çevresel faktörler, beslenme alışkanlıklarından çok sıcak yeme, tuzlu yağlı, taze sebze meyvenin çok az tüketilmesi, atrofik gastrit, serum pepsinojen düzeyinin düşük olması, Helikobakteri Piloni infeksiyonu ve genetik faktörler gibi etkenler rol oynamaktadır [61]. Ayrıca sigara içimi, içilen sudaki çinko ve kurşun ile atmosferdeki talk ve asbestoz da hastalığın etiyolojisinde rol oynamıştır [63]. Sigara içimi ile ilgili bilgiler çelişkili olmakla beraber bazı araştırmalarda doza bağımlı kanser riski arttığı belirtilirken bazılarında kanser riskini arttırmadığı belirtilmektedir. Mide kanserine yakalanma riskinin alkol içenlerde, içmeyenlere göre 2 kat fazla olduğunu belirten çalışmalar mevcuttur [64, 65].

2.5. DNA Onarımı ve Kanser:

Deoksiribonükleik asit ya da kısaca DNA, nükleik asit olmakla beraber tüm organizmaların ve bazı virüslerin canlılık işlevlerini ve biyolojik gelişmelerini düzenlemek için genetik talimatları taşır. DNA'nın başlıca rolü bilginin uzun süreli saklanmasıdır. İnsan genom projesi ile yapılan araştırmalarda insan genom organizasyonunun tahmin edilenden daha çok karışık yapıda olduğu ortaya çıkmıştır. Sahip olduğumuz DNA'nın aslında %10' nundan daha az bir kısmı proteine kodlanmaktadır [66]. Genomumuzun toplam uzunluğunun dörtte biri kadarı tek kopya DNA'dan oluşmaktadır. Genomun geri kalanı tekrarlayan DNA dizilerinden oluşur. Tekrarlayan dizileri DNA dizileri genom içinde bir veya birkaç bölgede kümeleştiği gibi genom boyutunca tek kopya diziler arasında yer almaktadır [67]. Birbirinin aynı ya da değişik biçimlerde olduğu görülür. Memeli DNA'nın %50' sından fazlası çok tekrarlanan DNA dizisinden oluşur. Bunların bazıları genom başına 10^8 kopya halinde bulunur [68].

Canlı organizmalar DNA'larını korumak için çeşitli DNA onarım mekanizmalarına sahiptir. Memeli hücrelerinde farklı DNA hasarları farklı DNA onarım yolları ile onarılmaktadır [69]. DNA tamiri hasarlı DNA'da en az dört yolla belirli çalışmasına ve her bir yolunun çok sayıda

moleküler türleri içerir. DNA’da oluşan hasara verilen cevapta üç olasılık vardır. Bunlardan ilki olarak “hasar toleransı” adlandırılan ve hasarlı bölgenin onarılmadan önce replikasyon mekanizması tarafından tanınarak lezyonun üzerinden atlanmasıyla replikasyona devam edilmesini sağlayan yolu oluşturur. İkinci yol olarak ise hasar tipine göre işlev gören onarım yollarının görev almasını gösterebiliriz. Son olarak üçüncü yol ise; hücrenin kompleks sinyal yolak ağına sahip olması nedeniyle hücre döngüsünün düzenlenmesi ve kontrol noktalarının aktivasyonu sağlanarak hasarlı DNA’nın onarımı veya programlı hücre ölümüne gidilerek cevabın sağlanması olayıdır [66].

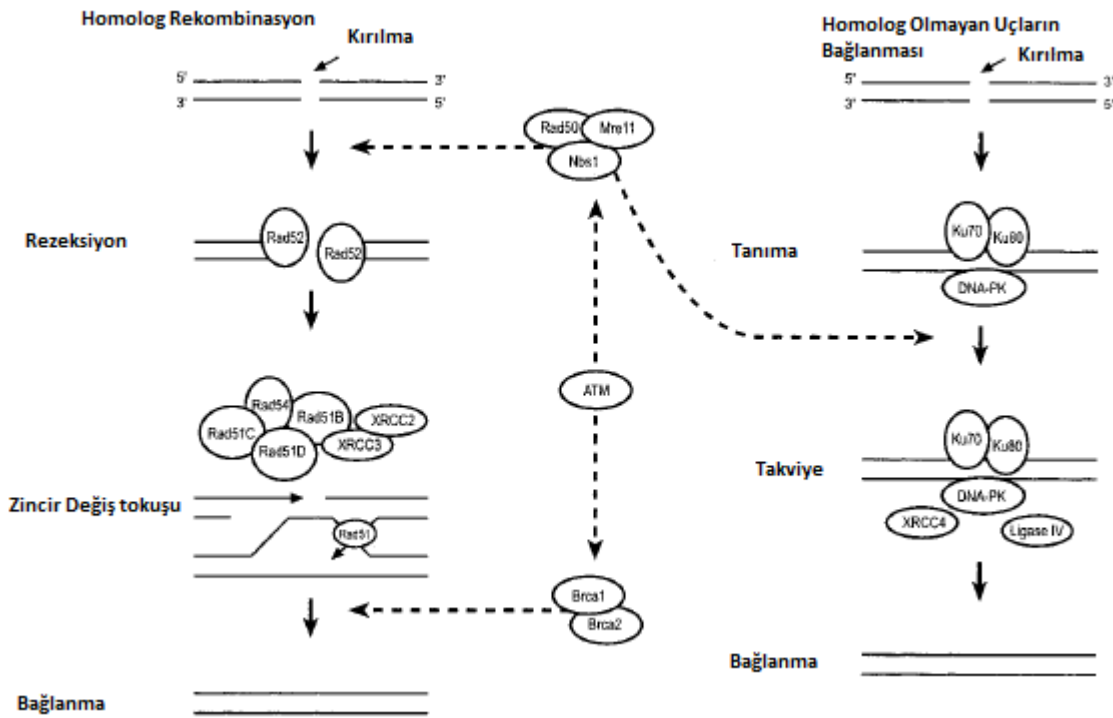
DNA onarım sistemleri kansere uzanabilen mutasyona karşı korumak için bir kritik role sahiptir ve genomun boşluğunu elde edilmesi için DNA onarım sistemleri vardır [70]. Her hücre, DNA hasarına neden olan yalnızca radyasyon ve dıştan doğan mutajenik kimyasallerle değil hem de iç kaynaklı baş radikallerden sürekli saldırı altında kalmaktadır. DNA hasarı, DNA onarım aktivitelerine sahip olunan 20 enzimden fazla bir kompleks serileri içerir [71].

2.5.1.Homolog Rekombinasyon:

İnsan genomu çok fazla şekilde iç ve dış etkilere maruz kalarak yapısında genomik yapı bozulmalara uğrayabiliyor. DNA tamiri bu yönde çok önem arz etmektedir. Her hücrede defalarca yapısı bozulan DNA’yı tamir edecek proteinler mevcuttur. Bu yöntem en çok Homolog rekombinasyon şeklinde olmaktadır [72,73]. DNA’daki bazı çiftlerindeki radyasyondan ya da bazı ilaçlardan dolayı kırılmalar en tehlikeli değişiklikleridir. Bu kırıkların tamiri çok kısa sürede ve büyük verimle yapılması çok önemlidir. Hücrelerde bu kırıklıkların hücreyi hemen yok etmemesi için DNA tamirine süre tanıyacak şekilde bir sinyal proteinleri mevcuttur [74]. Bu kırıkların ya da mutasyonların tamiri sağlanmazsa genom düzensizliği ve bunun neticesinde hücrenin ölümüne kadar varır. Bu yüzden RAD51, XRCC2, XRCC3 proteinlerle ilişkili olan genlerle hücre kontrol ve tamir vazifesini homolog rekombinasyon ya da non-homolog DNA uçları birleşmesi şeklinde yapmaktadır [75]. **Şekil 2.5.2.1.de** DNA onarımının iki farklı şekilde oluşması aşamalarıyla birlikte gösterilmiştir.

2.5.2. Homolog olmayan uçların bağlanması:

Homolog bir kromozomdan yararlanmadan DNA uçlarının bağlanmasının biyokimyasal bir yoludur. Çünkü kırık DNA uçları bağlanabilir durumda olmayabilir ve bu yol bazen genetik bilgide kayba da neden olmaktadır. Homolog olmayan uç bağlanmasındaki sorunlar iyonize radyasyon duyarlılığına ve immün yetersizliğe neden olmaktadır. Bunlara X ışınları ve peroksitler gibi bazı kimyasallar maddeleri örnek verebiliriz. Bunlar DNA omurgasında kırıklara neden olabilmektedirler. Tek zincirdeki basit kırıklar DNA ligaz tarafından onarılmaktadırlar. Ancak, DNA ligaz, sadece 5'-fosfat (P) ve 3'-hidroksil (OH) gruplarına sahip uçları birleştirebilir [76].



Şekil 2.5.2.1. DNA onarımı [69]

2.5.3. Baz Hasarı Onarım Mekanizmaları

2.5.3.1. Hasarın Doğrudan Geri Döndürülmesi

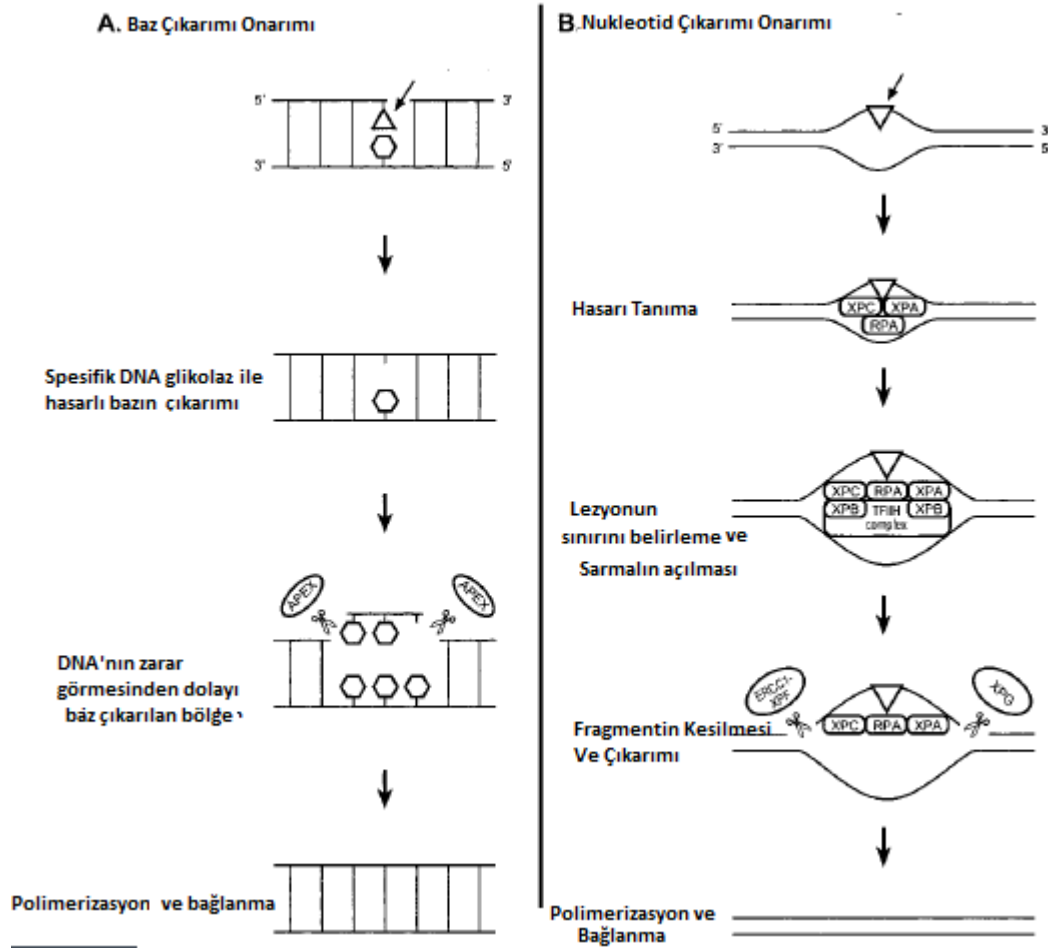
Hasarın doğrudan geri döndürülmesi durumu Fotoreaktivasyon, O-6-metilguanin onarımı, Basit tek zincir kırıklarının ligasyonu olmak üzere üç şekilde gerçekleşir. Fotoreaktivasyon: Hasarın geri döndürülmesi onarımı en kolay yol gibi görünmesine karşın, bu durumda termodinamik ve kinetik nedenlerden dolayı pek mümkün değildir [77].

2.5.3.2 Baz Çıkarma Onarımı (BER)

DNA hasarının doğrudan geri döndürülmesinde bazlardaki her kimyasal değişiklik kendine özgü bir onarım mekanizmasını gerektirir. Ancak, hücreler birçok kimyasal hasar tipini düzeltebilecek genel bir onarım mekanizmasına ihtiyaç duyarlar. Bu da ekzisyon onarımıdır. Yanlış eşleştirilen hasarlı onarım mekanizmalarını uzaklaştırmak için kullanılan mekanizmadır [78].

2.5.3.3. Nükleotid Çıkarma Onarımı (NER)

DNA bazları üzerinde büyük eklentiler oluşturan bir çok farklı hasarı tanıyabilen bir onarım mekanizmasıdır. NER mekanizması en az 20 proteinin görev aldığı bir kesme ve yapıştırma mekanizmasıdır. NER'in ilk basamağı, hasarın tanınması ve hasarlı zincirin 24-32 bazlık kısmının oligonükleotid olarak çıkartılması işlemidir. Bu basamağı, DNA zincirinin DNA polimeraz I ile uzatılarak boşluğun doldurulması ve ligasyon basamağı izlemektedir [79].



Şekil 2.5.3.3.1. Nükleotid Çıkarma Onarımı ve Baz Çıkarımı Onarımı [69]

2.5.3.4. Hatalı Eşleşme Onarımı

Bu onarım mekanizması, DNA replikasyonu esnasında meydana gelen ve çift sarmalda anormal boyutlarda neden olan, normal bazların hatalı eşleşmesi şeklinde hataları düzeltir. DNA replikasyonunun doğruluğundan sorumludur. Hatalı Eşleşme Onarımı küçük tek zincir DNA halkalarının ve yanlış eşleşmenin replikasyon sonrası tamirinden sorumludur [80, 81] .

DNA onarımında görev alan önemli genler vardır. Bunlardan bir kaçı RAD51, XRCC2 ve XRCC3'dir. Daha önceki literatür araştırmalarında bu genlerden kaynaklanan polimorfizmlerin sindirim sistemine bağlı kanser vakalarıyla ilişkisi tesbit edilmiştir. Bu çalışmada mide kanseri üzerinde, XRCC2 ve XRCC3' deki polimorfizmlerinin varlığı ve yaygınlığı araştırılmıştır [82, 83].

Çizelge.2.2.1. Genler ve Kanser [40,69]

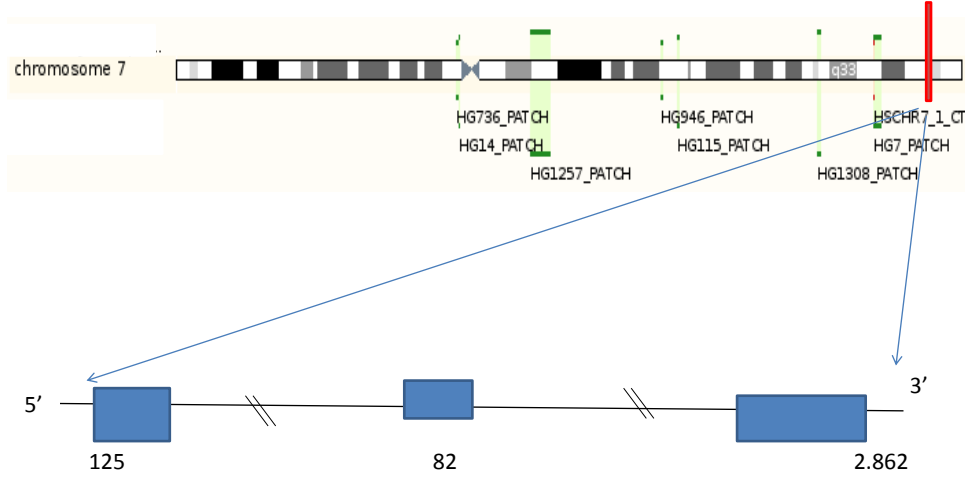
Kanser	Gen	Kaynak
Mide kanseri	OGG1	Hanaoka et al. 2001
	XPC, XRCC1, PIK3CA, TGFBR1, FGF3, BAX, APC	Shen et al. 2000 Scientific American 275(3):62-70
Özafagus kanseri	RAD51	Poplawski et al.
Kolon kanseri	XRCC1	Lee et al. 2001
	NTRK3, NTRK1, PIK3CA, TGFBR1, SMAD2, BAX, FES, FBXW7, APC	Scientific American 275(3):62-70
Kolorektal kanseri	NTRK2, K-RAS2	Scientific American 275(3):62-70
Pankreas Kanseri	DPC4	Scientific American 275(3):62-70

2.6.XRCC2, XRCC3 Genleri:

2.6.1. XRCC2 Geni :

Memelilerde başta RAD51 olmak üzere yedi tane önemli gen DNA tamirinde önemli görevleri görmektedirler. Bunlar RAD51L1/B, RAD51L2/C, RAD51L3/D, XRCC2, XRCC3 ve DMC1/Lim15 dir [84]. Burada XRCC2 ve XRCC3, RAD51'e akrabadır [85]. Cui ve arkadaşlarının IRS1 ve irs1SF fareleri üzerinde yaptığı çalışmalardan XRCC2 ve XRCC3 genlerinin DNA tamiri ve kromozom düzenlemesinde hayati önem taşıdığı görülmüştür. İnsan genomundaki XRCC2 ve XRCC3 taşıyan kromozomu fare hücrelerine vermiş ve bunun neticesinde radyasyona uğrayarak bozulan fare DNA'sı tamir edilmiştir [86].

XRCC2 Geni Kromozom 7:152,341,864-192,373,250



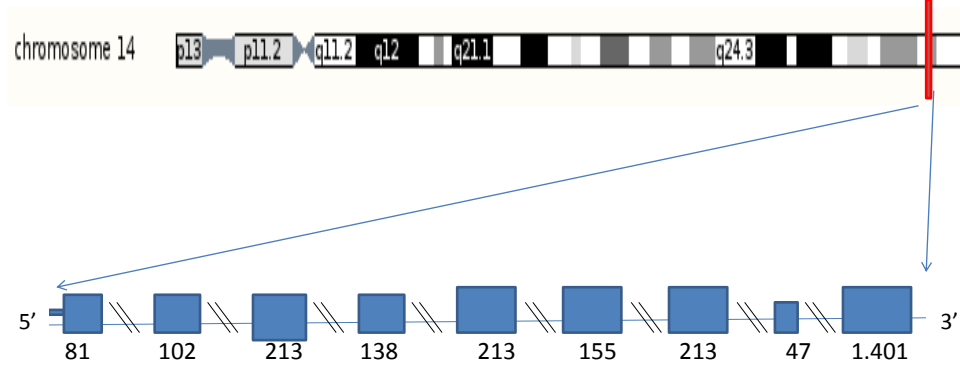
Şekil:2.6.1.2: XRCC2'nin insan geninin 7. insan kromozomu üzerinde ve ekson (mavi kutu) ve intron (\\) olarak şematik gösterimi [87]

2.6.2. XRCC3 Geni:

XRCC3 proteini Xrcc genleri tarafından üretilir. Son derece duyarlı hamster mutant hücreleri tamamen sıklıkla rapor edilmiştir ki XRCC3 homolog rekombinasyon tarafından DSB (Double strand breaks)'nin onarımı için önemlidir ve melanoma deri kanseri ile ilişkilendirilmiştir. Memelilerde XRCC3 mRNA beyin içinde ifade edilmiştir [88]. XRCC3 mutant mitozin C direnç kısmen retor edildi. Görevsel cDNA klonları bir kosmid kütüphaneden ikinci tranformant hazırlanarak örtülmüştür [89].

XRCC3 Geni

Kromozom 14:104,163,946-104,181,841



Şekil.2.6.1.3:XRCC3'ün insan geninin 14. insan kromozomu üzerinde ve ekson (mavi kutu) ve intron (\\) olarak şematik gösterimi [87]

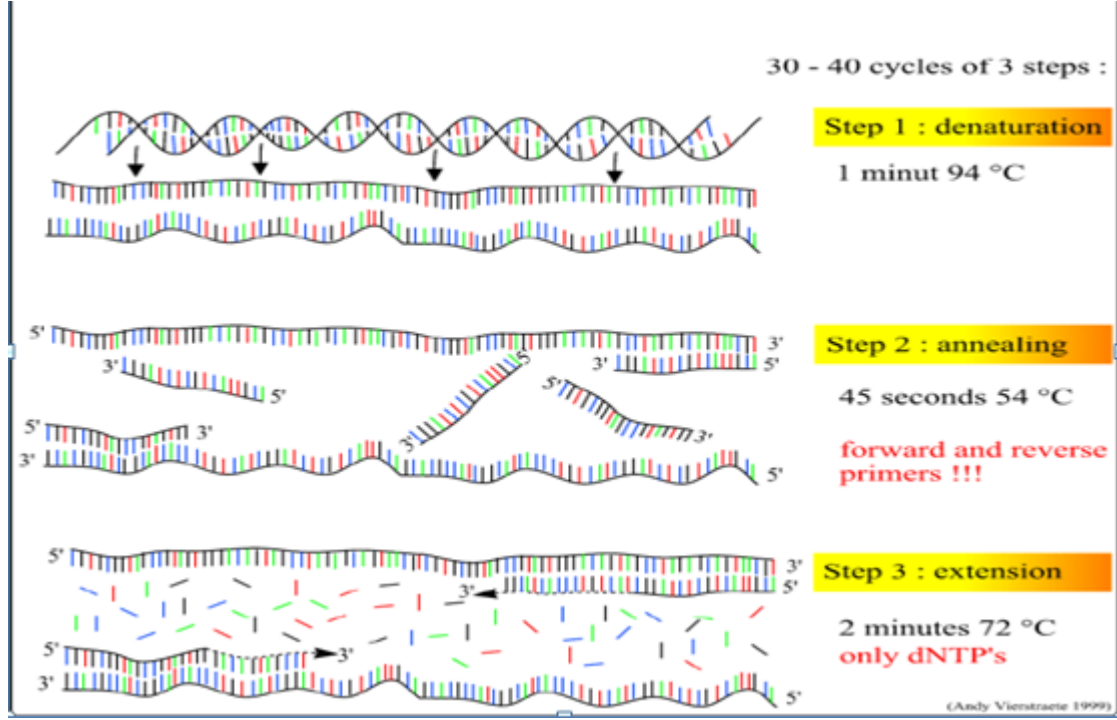
2.7.KALITSAL HASTALIKLARIN TANISINDA KULLANILAN MOLEKÜLER YÖNTEMLER

Kalıtsal hastalıkların tedavisinde çok değişik yöntemler vardır. Bunları üç başlık altında toplayabiliriz: polimeraz zincir reaksiyonu (pcr), indirekt analiz (bağlantı analizi), doğrudan analizdir (bilinen mutasyonlarının taranması). Bunların en önemlisi polimeraz zincir reaksiyonu (pcr) tekniğidir [90, 91]

2.7.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR):

İlk kez 1983-1985'de Kary B.Mullis tarafından bilim dünyasına sunulduğundan itibaren hem araştırmada hem de klinik laboratuvarlarda tanıda yeni bir çığır açmıştır. Bu buluşundan dolayı K.Mullis, 1993 yılı Nobel Kimya Ödülüne hak kazanmıştır [92]. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) DNA'nın bir bölümünü in vitro ortamda çoğaltıp, manupule edilir hale getirmek için kullanılan hızlı bir yöntemdir. Bu yöntem, genetik hastalıklarda, DNA'da mevcut mutasyonların ve polimorfizmlerin bulunmasında; enfeksiyon hastalıklarında patojen organizmalara ait DNA'nın veya RNA'nın varlığını ve miktarını göstermede büyük kolaylık

sağlar. PCR tekniği, DNA'nın istenilen bölgesinin, 20-30 bazlık spesifik oligonükleotid primerler kullanılarak, ısıya dayanıklı bir DNA polimeraz olan Taq DNA polimeraz enzimi ile çoğaltılmasına dayanır. PCR, diğer analiz sistemlerine geçmek için hızlı ve duyarlı bir ara metod olarak kabul edilir [93].



Resim:2.7.1.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu [91].

2.7.1.1. PCR Çeşitleri:

Real-time PCR: Hedefin amplifikasyonu ve tesbiti aynı tüpte eş zamanlı olarak oluşmaktadır. Bu sistem floresans oluşumunu monitörize eden, belli optikleri olan özel ısı döngüsü cihazı gerektirmektedir. Bilgisayarlar her bir reaksiyon ve siklusta oluşan amplifikasyonu gözlemleyen bir yazılım ile desteklenmektedir. Real-time PCR bizi klasik PCR sonrası yapılması zorunlu jel elektroforez gibi diğer değerlendirme çalışmalarından da kurtarır [94].

Çoklu (Multipleks) PCR: Bir PCR ile birden fazla hedef dizinin aynı reaksiyonda birlikte çoğaltılması çoklu (multipleks) PCR olarak adlandırılır. Burada iki veya daha fazla primer çifti farklı hedefleri amplifiye etmek için aynı reaksiyon karışımında bulunur. Bu reaksiyonda seçilen primerlerin aynı yapışma ısısına sahip olması ve dikkatli bir biçimde seçilmesi

gerekmektedir. Multipleks PCR yöntemi, tek primer setli PCR yöntemine göre daha karmaşıktır ve duyarlılığı daha azdır [95, 96].

Touchdown PCR (kademeli sıcaklık düşürme pcr): Touchdown polimeraz zincir reaksiyonu, polimeraz zincir tepkime primerleri ile spesifik olmayan sekansları yükseltmeyi önlemek için oluşturulan polimeraz zincir reaksiyonu olan bir yöntemdir [97].

Nested PCR (yuvalanmış pcr): İç içe polimeraz zincir reaksiyonu nedeniyle beklenmedik primer bağlanma siteleri için amplifikasyon ürünleri spesifik olmayan bağlanmayı azaltmak amacıyla, polimeraz zincir reaksiyonun bir modifikasyonudur.

Revers Transkriptaz PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) çeşitli türevlerinden biridir. Bu teknik genellikle RNA ifade düzeylerinin saptanması moleküler biyolojide kullanılır.

2.7.2. Doğrudan Analiz (bilinen mutasyonlarının taranması)

2.7.2.1. REA (Restriksiyon Enzim Analizi)

Tek bir baz çiftinin değişimi ile oluşan bir mutasyon restriksiyon enzim bölgesinin ortadan kalkmasına veya yeni bir kesme bölgesi oluşmasına neden olabilir. Restriksiyon enzim analizi ile tespit edilebilen mutasyonun saptanmasında kullanılan yaklaşım, mutasyonun bulunduğu bölgenin PCR ile çoğaltılması ve çoğaltılan DNA'nın mutasyona özgü restriksiyon enzimi ile kesildikten sonra analiz edilmesinden ibarettir [98].

2.7.2.2. Heterodupleks oluşum analizi

1-5 nükleotidlik delesyon mutasyonunu jel üzerinde saptamak oldukça güçtür. Fakat homozigot normal ve mutant bireylere ait DNA örnekleri, aynı tüp içinde amplifiye edildikleri takdirde, heterodupleks denilen yapıları oluştururlar. Heterodupleksler, tam uyuşmayan baz çiftlerinin varlığı nedeni ile homoduplekslere kıyasla farklı bir elektroforetik özellik gösterir [23].

2.7.3. İndirekt Analiz (Bağlantı Analizi)

Bu analiz, mutasyonun tespit edilemediği durumlarda aile içinde anne/anne+baba ve hasta çocuk arasındaki allel geçişlerinin belirlenmesine dayalıdır. Bunun için RFLP (Restriksiyon Parça Uzunluğu Polimorfizmleri) ve VNTR (Değişken Sayıda Tandem Tekrarları) markırları kullanılır [99].

2.7.3.1.Restriction Fragment Length Polymorphisms; Restriksiyon Parça Uzunluğu Polimorfizmleri (RFLPs)

Hastalığa neden olan mutasyonların tanımlanmadığı durumlarda aile içinde hastalık ile birlikte kalıtılan allelin dolaylı bir yaklaşıml kullanılarak tespit edilmesidir.

2.7.3.2.Variable Number of Tandem Repeats; Değişken Sayıda Tandem Tekrarları (VNTRs)

Dolaylı bir yaklaşıml kullanılarak prenatal tanı ve taşıyıcılık tanısı verilmesinde kullanılan bir yöntemdir. VNTR yönteminde kullanılan DNA polimorfizmleri, farklı sayılardaki tandem tekrarlarıdır. Her tandem tek bir birim olarak ele alınır [23].

3.MATERYAL VE METOT

3.1.Çalışma Grubu:

Bu çalışma Mayıs 2012-Mayıs 2013 tarihleri arasında Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Polikliniğine müracaat eden mide kanserine bağlı kanser vakalarında XRCC2, XRCC3 genlerinde polimorfizm yaygınlığının araştırmak için yapıldı. Araştırmadan önce Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurul tarafından onaylanmış “Etik kurul belgesi ve Bilgilendirilmiş Gönüllü olur formu” kullanıldı.

Araştırmaya dahil edilen tüm bireylerden etik kurulda belirtilen ve onaylanan koşullara bağlı kalınarak 8 ml periferik kan alındı ve DNA izolasyonu yapıldı. 2012 yılında temin edilen örnekler için laboratuvar çalışmaları Kafkas Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümü Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı Moleküler Biyoloji Laboratuvarında ve 2013 yılındaki tüm çalışmalar ise Kafkas Üniversitesi Mimarlık-Mühendislik Fakültesinde Biyomühendislik Bölümü Laboratuvarında gerçekleştirildi.

3.2. Hastalar ve Demografi

Çalışmaya alınan 61 hastanın 15’i kadın 46’sı erkektir.

Çizelge 3.2.1: Hastaların cinsiyet ve yaşlara göre dağılımı

	Kadın n	%	Erkek n	%
40-60 yaş	8	13,11	18	29,51
>60 yaş	7	11,48	28	45,90
Toplam	15	24,59	46	75,41

3.3.Kontroller Ve Demografi:

Kontrollerin 24'ü (% 30.76) kadın, 54'ü (% 69.24) erkektir.

Çizelge 3.3.1:Kontrollerin cinsiyet ve yaşa göre dağılımları

	Kadın n	%	Erkek n	%
18-20 yaş	11	% 14.10	18	%23.06
20-40 yaş	13	% 16.66	34	%43.58
40-60 yaş	0	0	2	%2.5
Toplam	24	%30.76	54	%69.24

3.4. Kimyasal Maddeler :

Kimyasallar

MARKA

Trizma Hidroklorik(TRİS- HCL)	SİGMA
Sodyüm Klorür(NaCL)	SİGMA
EDTA disodyum sülfat dihidrat	SİGMA
Amonyum Klorid	SİGMA
Trizma baz	SİGMA
SDS	SİGMA
Potasyum hidrokarbonat	MERCK
Etanol (etil alkol)	MERCK
Etidyum Bromid	VİVANTİS
Proteinaz K	SİGMA
dNTP	VİVANTİS
Taq DNA polimeraz	VİVANTİS
Primerler	GEN MAR

3.5. Gereçler :

Gereçler	MARKA
Soğutmalı Santrifuj	NÜVE(NF 400R)
Etüv	NÜVE (FN 500)
Buzdolabı	BEKO
Mikrodalga Fırın	BEKO
Elektroforez Düzeneği	TERMO(EC300XL)
Minisantrifuj	SCAN SPEED
Manyetik Karıştırıcı	VELP SCIENTIFICA
Hassas Terazı	SCAL TEC
Vorteks	VELP SU
Su Banyosu	NEMMART
Jel Görüntüleme Sistemi	CARASTREAM
Derin Dondurucu	ARÇELİK
Pcr	BİONEER
Otomotik Pipet Seti	NICHIRYO

3.6.Solüsyonlar:

ELB (Eritrosit Lizis Buffer)

82,9 gr NH₄Cl ve 10 gr KHCO₃ hassas terazide tartılarak cam şişeye döküldü, üzerine 0,5 M'lık 20 ml EDTA eklendi. Karışımın üzerine 1 litreye tamamlayacak kadar distile su eklenip içine karıştırıcı yardımıyla karışımı sağlandı.

NLB (Nukleaz Lizis Buffer)

23.4 gr Nacl, 10 ml Tris HCL (1M),40 ml EDTA(0.5 M),1000 ml distile suda çözüldü.

Tris HCl

İlk önce 12,1 gr Trisbone 10 ml distile suda çözüldü. pH'nın ayarlamak için NaOH ilave edildi ve 100 ml'ye tamamlandı.

SDS (Sodium dodesil sülfat)

10 gr SDS distile suda çözüldü. Ve 100 ml'ye tamamlandı.

NaCl

87,69 gr Nacl 250 ml distile suda çözüldü.

3.7.Periferik Kandan DNA İzolasyonu:

Alınan kan örnekleri üzerine 40 ml ELB eklenir ve hafifçe çalkalandı. Buz dolu bir kap içerisinde 30 dk bekletildi. Bu aşamadan sonra falkon tüpledeki ELB eklenmiş kanlar 4°C'de, 10 dk, 2500 rpm'de santrifüj edildi. Santrifuj bittikten sonra tüplerin üstteki süpernatant (sıvı kısım) dikkatli bir şekilde tüpten uzaklaştırıldı ve tüpün üzerine 40 ml ELB eklenerek kuvvetli bir şekilde çalkalandı .

Bu tüpler 4 °C de, 10 dk, 2500 rpm'de santrifuj edildi. Supernatan dikkatli bir şekilde tüpten uzaklaştırıldı ve kalan kısım üzerine 25 ml ELB eklenerek kuvvetli bir şekilde çalkalandı ve 10 dk. 2500 rpm'de santrifuj edildi. Santrifujden sonra süpernatant tüpten uzaklaştırıldı ve tüpte kalan kısım üzerine 4ml NLB ve 120 µl proteinaz K eklendi ve tüpler vortekslendi .Son olarak tüplere 425 µl SDS eklendi ve 37 °C'de bir gece etüvde inkübe edildi.

37 °C de bir gece inkübe edilmiş örnekler 30 dk. oda ısısında bekletildi. DNA'lar için 2 ml'lik contalı tüplerin üzerleri yazılarak hazırlandı. Herbiri bir falkon tüpe 1.4 ml 6M NaCL eklendi 15 sn çok hızlı bir şekilde çalkalandı. Bu örnekler oda ısısında 15 dk 4000 rpm'de santrifuj edildi. Bu sırada her bir tüp için temiz bir falkon tüp yazıldı ve hazır bir şekile getirildi. Süpernatant yavaşça 50 ml' lik temiz falkon tüpe boşaltıldı. Altta kalan pelletin temiz tüpe alınan süpernatana karışmamasına dikkat edildi. Alınan bu tüpler süpernatant 20 °C'de 15 dk 6000 rpm'de tekrar santrifuj edildi. Bu aşamada yine 50 ml' lik falkon tüpler üzerleri yazılarak hazırlandı. Süpernatant tekrar temiz falkon tüpe döküldü. Bu aşamadan sonra yeni tüplere alınan süpernatantları üzerine toplam hacmi 20 ml oluncaya kadar yavaş yavaş %96'lık Etil Alkol eklendi. 1-2 dakika bekletildikten sonra yavaş bir şekilde alt-üst edildi ve DNA bir araya getirildi. Kapakları sıkıca kapatılmalıdır. Falkon tüp içinde bir araya gelmiş olan DNA pipet yardımıyla 1.5ml' lik ependrof tüpe alındı ve üzerine 500 µl %70'lik etil alkol konulur. 1.5 ml'lik ependorf tüpün kapağı kapatıldıktan sonra bir iki kere alt üst edildi ve mikrosantrifujde 45 sn 1000 rpm'de sanrifuj edilerek DNA peleti çöktürüldü. Bu aşamada alkolün fazlası döküldü veya diğer bir şekilde 1 ml'lik pipetle alındı ve dökme sırasında DNA 'nın dökülmemesine dikkat edildi. Daha sonra bir kez daha 1000 rpm'de 30 saniye çevrildi ve tüplerde kalan ET-OH 200 µl'lik pipetle alındı. Tüpün kapağı kalıntı etil alkol uçana kadar açık tutularak kurumaya bırakıldı ve alkol uçtuktan sonra DNA'nın üzerine 500 µl distile su ilave edildi. Distile su koyulduktan sonra -20 °C'de derin dondurucuya alındı.

3.8. DNA Konsantrasyonun Nanodrop Spektrometresinde Ölçümü:

Nanodrop Spektrometresinde (Nanodrop ND-1000) izolasyonu yapılan DNA'lar ölçüldü. Birer ul alınarak DNA örneklerinin konsantrasyonlarının değişimi saptandı. Ortalama konsantrasyon değişimi 45-300 ng/ul arasında bulundu.

3.9.Mide Kanseri Hastalar ve Kontrollerin PCR ile Polimorfizm Analizleri :

Optimum çoğalmanın gerçekleştiği PCR karışımı: 10X'lik tampon çözeltisinden 2,5µl, magnezyum klorür (50mM) 1µl, dNTP mix (dATP, dGTP, dTTP, dCTP) 2µl, ileri primer (100uM) 2,5 µl, geri primer (100uM) 2,5 µl, genomik DNA (100ng/µl) 1µl, DNA taq polimeraz enzimi (5u/µl) 0.2 µl ve son olarak toplam hacim 25 µl olacak şekilde distile su ile tamamlandı.

Buna göre XRCC2 290 kb'lik bir bölge PCR ile genomik DNA'dan çoğaltıldı. DNA'sı elde edilen hasta ve kontrol grubu olgularına XRCC2 DNA tamir geninin Çizelge 4.2'de PCR çalışmasıyla gösterildi. PCR ürünleri %2'lik agaroz jelde yürütüldü ve 290 kb olduğu gösterildi (Resim 4.1).

Çizelge 3.9.1. XRCC2 Gen Primerleri:

GEN	PRİMER
XRCC2: İleri primer:	5'-TGTAGTCACCCATCTCTCTGC-3'
Geri primer:	5'- AGTTGCTGCCATGCCTTACA-3'

Çizelge 3.9.2. XRCC3 Gen Primerleri:

GEN	PRİMER
XRCC3: İleri primer:	5'-GCCTGGTGGTCATCGACTC-3'
Geri primer:	5'ACAGGGCTCTGGAAGGCACTGCTCAGCTCACGCACC-3'

Çizelge 3.9.3. Hasta ve Kontrol Grubu XRCC2 ve XRCC3 genleri PCR reaksiyonu karışımı

Stok Konsantrasyonu	Miktar	Son Konsantrasyonu
Taq buffer(10X)	2.5 µl	1X
Mgcl2(50 mM)	1 µl	2mM
dNTP(2,5 µM)	2 µl	0.2µM
İleri primer(100µM)	2.5 µl	10µM
Geri primer(100µM)	2.5 µl	10µM
Genomik DNA(100ng/ µl)	1 µl	
dH2O	13.3 µl	
Taq DNA polimeraz(5 U/ µl)	0.2 µl	0.04U
TOPLAM HACİM	25 µl	

Çizelge 3.9.4 Hasta ve Kontrol Grubu XRCC2 ve XRCC3 Genleri Siklus programı

Reaksiyon aşaması	Sıcaklık °C	Süre	Döngü Sayısı
Başlangıç Denatürasyonu	95	3 dk.	1
Denatürasyon	94	30sn	
Primer bağlanması	57	30 sn.	35
Zincir Uzaması	72	45 sn	
Son Uzama	72	7 dk.	1

XRCC3 için kullanılan primerler Çizelge 3.7.4. gösterildi. XRCC3 136 kb'lik bir bölge PCR ile genomik DNA'dan çoğaltıldı. DNA'sı elde edilen hasta ve kontrol grubu olgularına XRCC3 DNA tamir geninin çizelge 4.5'de PCR çalışmasının sonucu tesbit edildi. PCR ürünleri %2' lik agaroz jelde yürütüldü ve 136 kb olduğu gözlemlendi. (Resim 4.3).

3.10. Agaroz Jel Elektroforezi:

%1 'lik 150 ml TBE ile hazırlanarak %1 için 1.5 gr agaroz 150 ml TBE ile karıştırılarak mikro dalga agaroz eriyinceye kadar bekletildi. Soğuduktan sonra etidyum bromür eklendi. Her 20 ml için 1 ml etidyum bromür ilave edildi

DNA örneklerinin dibe çökmesi için 2 µl boya (loading dye) DNA eklendi ve kuyucuklara yüklendi.. Daha sonra jel yürütüldükten sonra transiluminatörde UV ışığı altında gözlemlendi.

3.11. Restriksiyon Parça Uzunluğu Polimorfizmi (RFLP) Analizi:

Primerle çoğaltılan XRCC2 geninin HphI enzimi ile kesilmesinde uygulanan protokol ise: 10X Buffer 2.0 µl, PCR ürünü 10 µl, HphI enzimi 0.5 µl, dH₂O 7.5 µl olmak üzere toplam 20 µl dir. PCR ürünleri 37 °C'de 16 saat inkübe edildi ve %3'lik agaroz jelde görüntülendi.

Primerle çoğaltılan XRCC3 geninin NcoI enzimi ile kesilmesinde uygulanan protokol ise: 10X Buffer 2.0 µl, PCR ürünü 10 µl, NcoI enzimi 0.5 µl, dH₂O 7.5 µl olmak üzere toplam 20 µl dir. PCR ürünleri 37 °C'de 16 saat inkübe edildi ve %3'lük agaroz jelde görüntülendi.

3.12. İstatistik Analiz:

Bu çalışmada istatistiksel analizler GraphPad Prism paket programı ile yapıldı. Verilerin değerlendirilmesinde tanımlayıcı istatistiksel metotların (ortalama, standart sapma) yanı sıra ikili grupların karşılaştırmasında student's χ testi, nitel verilerin karşılaştırmalarında Fisher gerçeklik testi kullanıldı. Sonuçların değerlendirilmesi $\alpha=0.05$ düzeyinde esas alındı.

4.BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen 61 mide kanseri hastasında XRCC2 geni Arg188His polimorfizmindeki değişim oranı 24'ünde %39 oranında ve aynı grubun sağlıklı bireylerinde 78 kişinin 12'sinde %15 oranında nükleotid değişimi gözlemlendi. XRCC3 geni Thr241Met polimorfizmindeki değişim oranı 61 kişinin 18'inde %29 ve aynı grubun sağlıklı bireylerinde ise 78 kişinin 11'ininde %14 oranında polimorfizm değişimi görülmüştür.

Çizelge 4.1. XRCC2 Geni hasta ve kontrol Grubu polimorfizm dağılımları

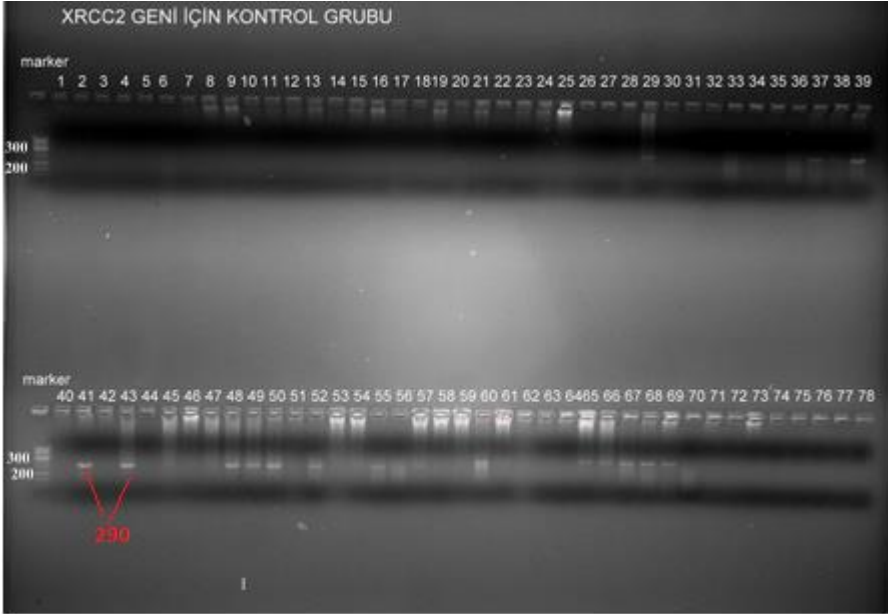
Polimorfizm Tipi	Hasta		Kontrol	
	Erkek	Kadın	Erkek	Kadın
Arg188His Polimorfizmi	16	8	8	4
Toplam	24(%39)		12(%15)	

Çizelge 4.2. XRCC3 Geni hasta ve kontrol Grubu polimorfizm dağılımları

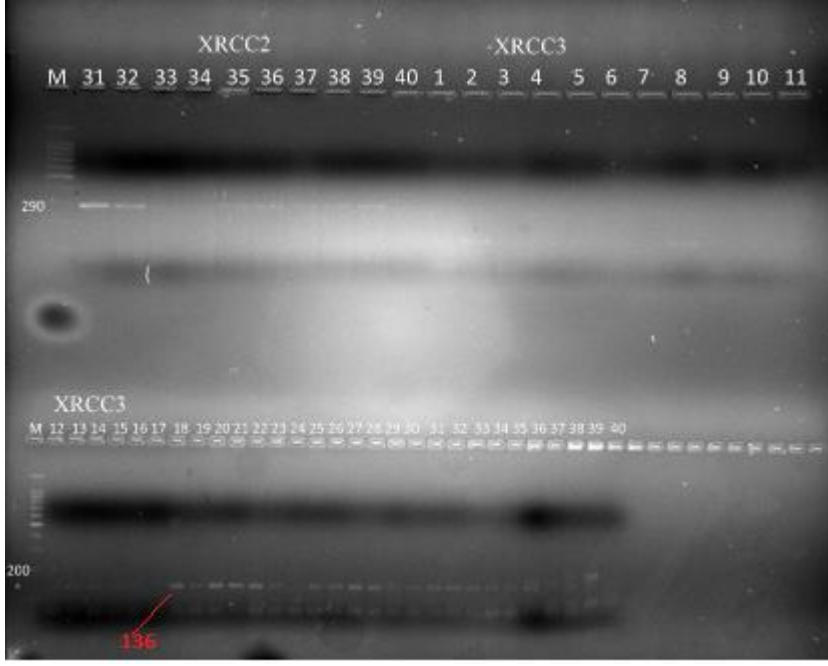
Polimorfizm Tipi	Hasta		Kontrol	
	Erkek	Kadın	Erkek	Kadın
Thr241Met Polimorfizmi	11	7	7	4
Toplam	18(%29)		11(%14)	



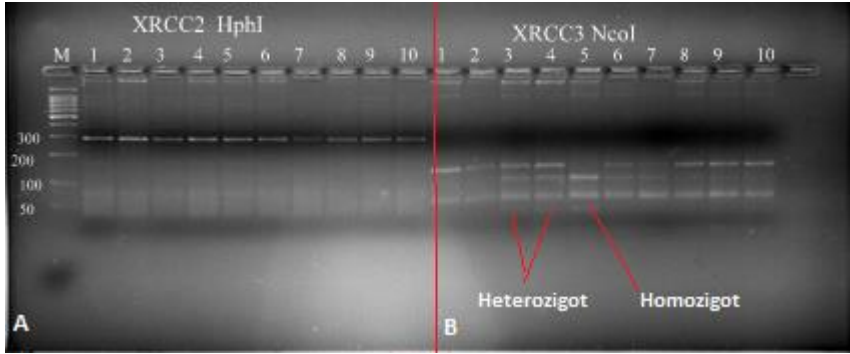
Resim 4.1. Mide Kanseri Hastalarda XRCC2 Geni PCR ürünü Jel Görüntüsü



Resim 4.2. Kontrollerde XRCC2 Geni PCR ürünü Jel Görüntüsü



Resim 4.3. Mide Kanseri Hastalarda XRCC3 geni PCR ürünü Jel Görüntüsü

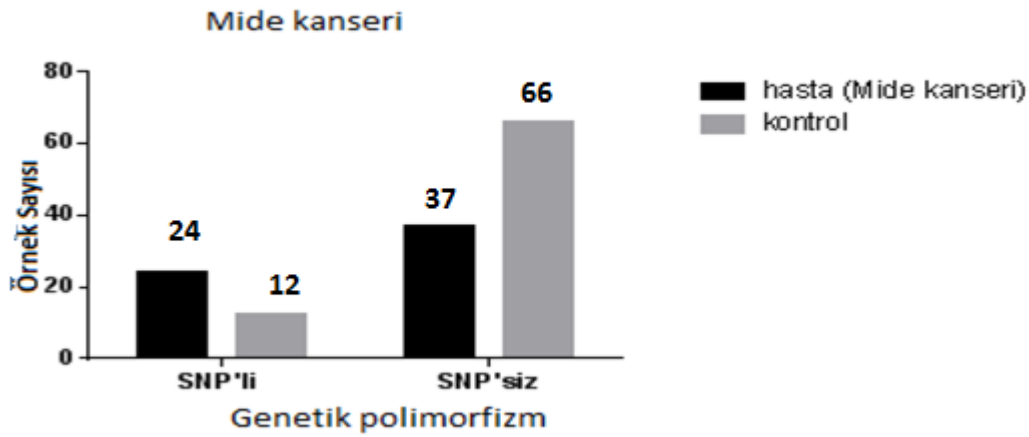


Resim 4.4 : A) Hasta ve kontrollerde XRCC2 geninin HphI enzim kesimi sonucu jel resimleri
B) Hasta ve kontrollerde XRCC3 geninin NcoI enzim kesimi sonucu jel resimleri

Burada XRCC3 için enzimle muamesesi sonrası homozigot Thr/Thr genotipi 36 ve 97 kb fragmenti, heterozigot genotipi üç fragment 136, 97, 36 kb ve homozigot Met/Met genotipi 136 kb olduğu görülmektedir. 3,4,6,7 numaralı örnekler heterozigot, 5 numaralı örnek homozigot'tur.

Çizelge 4.3. XRCC2 geninin Arg188His polimorfizmlerinin Hasta ve Kontrollerin dağılımı

Polimorfizm	Hasta	Kontrol	Toplam
Arg188His	24(%39.34)	12(%15.38)	36
Arg188His olmayan	37(%60.65)	66(%84.61)	103
Toplam	61	78	139

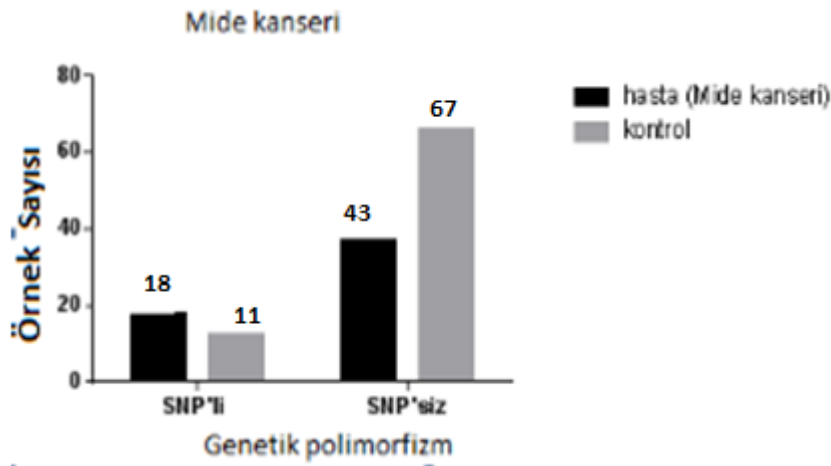


Şekil 4.1. XRCC2 Arg188His polimorfizminin Hasta ve Kontrollerin dağılımları

İstatistiksel sonuçlara göre Arg188His polimorfizmi için P sınırı 0.05'ten küçük olduğu için anlamlıdır.

Çizelge 4.4. XRCC3 geninin Thr241Met polimorfizmlerinin hasta ve kontrollerin dağılımı

Polimorfizm	Hasta	Kontrol	Toplam
Thr241Met	18(%29.51)	11(%14.10)	29
Thr241Met olmayan	43(%70.49)	67(%85.90)	110
Toplam	61	78	139

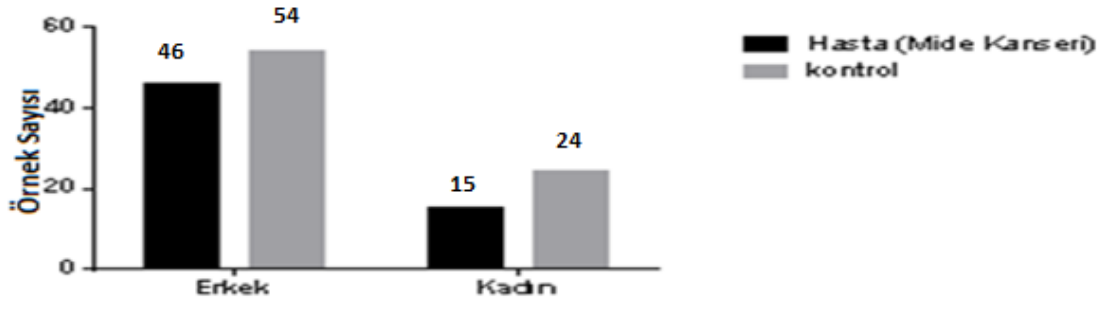


Şekil 4.2. XRCC3 Thr241Met Polimorfizminin Hasta ve Kontrollerin Dağılımları

İstatistiksel sonuçlara göre Thr241Met polimorfizmi için P sınırı 0.05'ten küçük olduğu için anlamlıdır.

Çizelge 4.5. Mide Kanseri Hastaları ve Kontrol Grubu Cinsiyet Dağılımları

	Hasta	Kontrol	Toplam
Erkek	46(%75.41)	54(%69.23)	100
Kadın	15(%24.59)	24(%30.77)	39
Toplam	61	78	139



Şekil 4.3. Mide Kanseri Hastalar ve Kontrol Grubu Cinsiyet Dağılımları

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Kanser, hücrelerde DNA'nın hasarı sonucu hücrelerin kontrolsüz veya anormal bir şekilde büyümesi ve çoğalması olarak tanımlanmaktadır. Kanser immün sistemini etkileri ve uzaktaki dokuları da istila ederek metastazlar oluşturabilir. Ayrıca metabolik ve davranışsal değişiklikler geçirerek, çok basamaklı otoimmün bir hastalık olduğu bilinmektedir [100]. Dünyada akciğer kanserinden sonra en çok görülen kanser türü mide kanseridir. Mide kanseri toplumumuzda yaygınlığı % 8 oranında görülmektedir [101]. Son 20 yıl içinde yapılan genomik incelemeler kanser oluşumunda 100 den fazla gen ve çok sayıda polimorfik değişimin tümör oluşumunu etkilediği açıklanmıştır [102].

İnsan genomundaki büyük kromozomal seviyedeki değişikliklerden, delesyonlar, insersiyonlar, translokasyonlar ve genlerin aşırı kopya sayıları (CNV) ve popülasyonların polimorfizm farklılıkları kanser oluşumunu tetikleyebileceği gibi popülasyonlardaki polimorfik çeşitlilik kansere duyarlılığı artırabilir [103–111]. Bu bağlamda ülkemiz popülasyonunda polimorfizm farklılığını araştırdık. Araştırmada çalışılan genler XRCC2 ve XRCC3 içinde yer alan polimorfizmler bir çok kanser türleri ile duyarlılığı saptanmıştır. XRCC3 T241M polimorfizm öncelikle meme kanseri riski ile ilişkili bulunmuştur [112]. Ülkemizde 2009 yılında yapılan bir çalışmada 85 mesane kanseri ve 45 kontrol grubunda XRCC3 geni karşılaştırılmış ve T allelinin kanser hastalarında kontrollere göre 5 kat daha etkin olduğu saptanmıştır. Ayrıca APE geninin G aleli yaygın kanser tiplerinde daha sık görülmüştür [113].

Çin popülasyonunda 2012 yılında yapılan çalışmada XRCC1 ve XRCC3 polimorfizmlerinin sinir sisteminde tümör oluşumunu etkilediği ve sindirim sistemi ile ilgili olarak XRCC1 ve XRCC3 polimorfizmlerinin ilişkili olmadığını ileri sürmüşlerdir [114]. Bizim araştırmamız XRCC3 polimorfizminin sindirim sistemine bağlı kanser vakalarında duyarlı olabileceği yönündedir.

Shiahong ve arkadaşları tarafından 2005 yılında yapılan bir çalışmanın sonuçlarına göre melanoma deri kanseri, baş ve boyun, mesane göğüs kanseri için düşük penetransı olduğu, XRCC3 yüksek bir şekilde kansere duyarlı şüpheliliği aday gen olarak gösterilmiştir. Ancak aynı grup XRCC3 geni polimorfizmlerinin göğüs kanseri riskine önemli derecede duyarlı, deri kanseri riskine duyarsız olduğu göstermişlerdir [115]. Bu manada çalışmamız geniş kapsamlı değildir.

Krupa ve arkadaşlarının 2011 yılında yaptıkları çalışmalarda sindirim sistemi kanser tanımlı hastalarda 100 birey (36 erkek, 64 kadın) üzerinde yapmış oldukları çalışmada XRCC2 ve

XRCC3 polimorfizm etkilerini incelemişlerdir. Aynı grubunda çalışılan popülasyonun %90 ını tesadüfi hastalardan oluşturulmuş ve bunlar polimorfik varyantlara göre bütün AA genotipleri ve kanserin oluşumu ve kanser hastaların durum patolojik parametrelere göre kategorize edilmişlerdir. Ayrıca XRCC3 geninin Thr241Met polimorfizmi ile XRCC2 geninin Arg188His polimorfizmi kanseri marker olarak kullanılabilineceğini belirtmişlerdir [82]. Araştırmamız Krupa ve arkadaşlarının çalışmaları ile paralel sonuçlar içermektedir.

Butkiewicz ve arkadaşlarının 2001 yılında ABD de yaptığı çalışmada DNA tamir genlerindeki polimorfizmlerin akciğer kanseri ile ilişkileri gösterilmiştir. Bu çalışmalarda XRCC1, XRCC3, XPD ve XPF tamir genlerindeki polimorfizmler 96 ileri derecedeki akciğer kanseri ve 96 normal kontrol genleri üzerinde araştırılmıştır.[115] Bu çalışmalarda XPD genindeki polimorfizmler diğerlerine göre daha çok kanser etkisinde rol almışlardır . Başka benzer çalışmalarda Spitz ve arkadaşlarının 2001 yılında ABD de ve ayrıca Hou ve arkadaşlarının 2002 yılında İsveç te yapmış oldukları çalışmalarda XPD geni konusunda benzer sonuca ulaşmışlardır [116,117].

Perez ve arkadaşları 2013 yılında Arjantinde rahim kanseriyle ilgili araştırmalar yapmıştır. Bunların XRCC2 ve XRCC3 polimorfizmleriyle ilişkisini araştırmışlardır. Sonuçta rahim kanseri ile XRCC2 arasındaki ilişki istatistiksel olarak göstermişlerdir [118].

Romanowicz. Makowska ve arkadaşlarının 2012 yılında yaptıkları çalışmada Polonya popülasyonunda gırtlak kanseriyle tütün ve alkolün akrabalığını iki gen (RAD51 ve XRCC2) ile ilişkisini araştırmışlardır. Sonuçta gırtlak kanseri sigara ve içme ile ilgili ilişkisini ortaya çıkarmışlardır [114]. Synowiec E ve arkadaşlarının 2009 yılında Yunanistanda yaptıkları analizlerde, XRCC3 Thr241Met polimorfizminin Asyalılarda ve beyaz ırkta mide kanseri riskini etkileyebileceğini gösterilmişlerdir [119]. Yukarıda çeşitli kanser vakalarında verilen DNA tamir genlerinden olan XRCC2 ve XRCC3 ve ilgili polimorfik bölgelerin değişimleri kanser oluşumunu tetikleyebilir görüşü yaygındır.

Bu bilgiler ışığında çalışmada mide kanseri hastalarda XRCC2 ve XRCC3 gen polimorfizmlerini dar bir popülasyon olan Kars ilinde araştırıldı. Yaptığımız çalışmalarda Mide kanseri vakalarıyla XRCC2 geni için Arg188His polimorfizmlerini, XRCC3 geni için Thr241Met polimorfizmlerin genomik düzeyde incelendi. Elde edilen bulgular XRCC3 geni için Thr241Met polimorfizmiyle ilişkili olduğu saptanmıştır.

Bizim bulgularımız yaklaşık benzer populasyon olması bakımından XRCC3 Thr241Met polimorfizminin mide kanserine hassas olabileceği yönündedir.

Sonuç olarak 61 (15 kadın /46 erkek) mide kanseri hastasında XRCC2 geni Arg188His polimorfizmindeki değişim oranı 61 hastanın 24'ünde %39 oranında ve aynı grubun sağlıklı bireylerinde 78 kişinin 12'sinde %15 oranında nükleotid değişimi gözlemlendi. XRCC3 geni Thr241Met polimorfizmindeki değişim oranı 61 hastanın 18'inde % 29 ve aynı grubun sağlıklı bireylerinde ise 78 kişinin 11'ininde %14 oranında nükleotid değişimi görüldü. Bulgularda mide kanseri hastalar ile sağlıklı bireylerdeki polimorfizm değişikliği açısından karşılaştırıldığında hastalardaki ilgili polimorfik değişimlerinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu her iki polimorfizm bölgesindeki değişimlerinin kanser riskini tetikleyebileceği düşünülmektedir.

Bu anlamda gelecekte yapılacak çalışmalarda bizim çalıştığımız DNA tamir genlerinin yanı sıra çalışma yapmadığımız RAD51 genininde daha geniş popülasyonlarda çalışılmasına ihtiyaç olduğu kanısındayız.

KAYNAKLAR

- [1]. WHO | Cancer Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/> [Erişim Tarihi 08.04.2012].
- [2]. GLOBOCAN: Country Fast Stat Available at: <http://globocan.iarc.fr/factsheets/populations/factsheet.asp?uno=900> [Erişim Tarihi 08.04. 2012].
- [3]. Türkiye’de Kanser Oranı | Kanser Available at: <http://www.kanser.com.tr/etiket/turkiyede-kanser-orani> [Erişim tarihi 08.04 2012].
- [4]. Olivier M et al. Recent advances in p53 research: an interdisciplinary perspective. *Cancer Gene Ther* 16:1–12. (2009).
- [5]. Loeb LA, Bielas JH, Beckman RA Cancers exhibit a mutator phenotype: clinical implications. *Cancer Res* 68:3551–3557; discussion 3557. (2008).
- [6]. Varki A, Geschwind DH, Eichler EE Human uniqueness: genome interactions with environment, behaviour and culture. *Nat Rev Genet* 9:749–763. (2008).
- [7]. Patel CJ, Chen R, Kodama K, Ioannidis JPA, Butte AJ Systematic identification of interaction effects between genome- and environment-wide associations in type 2 diabetes mellitus. *Hum Genet* 132:495–508. (2013).
- [8]. DRIG - What is DNA repair? Available at: <http://www.nih.gov/sigs/dna-rep/whatis.html> [Erişim Tarihi 29.06. 2013].
- [9]. Hanahan D, Weinberg RA Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell* 144:646–674. (2011).
- [10]. Gastric cancer - PubMed Health Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmedhealth/PMH0001270/> [Accessed April 15, 2012].
- [11]. Lu W et al. Genetic polymorphisms of interleukin (IL)-1B, IL-1RN, IL-8, IL-10 and tumor necrosis factor {alpha} and risk of gastric cancer in a Chinese population. *Carcinogenesis* 26:631–636. (2005).
- [12]. Dicken BJ et al. Gastric Adenocarcinoma. *Ann Surg* 241:27–39. (2005).
- [13]. Peek RM Jr et al. Heightened inflammatory response and cytokine expression in vivo to cagA+ Helicobacter pylori strains. *Lab Invest J Tech Methods Pathol* 73:760–770. (1995).
- [14]. Altshuler D, Kruglyak L, Lander E Genetic polymorphisms and disease. *N Engl J Med* 338:1626. (1998).
- [15]. Tan P Germline polymorphisms as modulators of cancer phenotypes. *Bmc Med* 6:27. (2008).

- [16]. Tan IB, Ngeow J, Tan P in *Encyclopedia of Life Sciences*, ed John Wiley & Sons, Ltd (John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK). Available at: <http://www.els.net/WileyCDA/ElsArticle/refId-a0022403.html> [Erişim Tarihi 15.04 2012] (2010).
- [17]. Clapper M Genetic polymorphism and cancer risk. *Curr Oncol Rep* 2:251–256. (2000).
- [18]. Hampel H, Sweet K, Westman JA, Offit K, Eng C Referral for Cancer Genetics Consultation: A Review and Compilation of Risk Assessment Criteria. *J Med Genet* 41:81–91. (2004).
- [19]. CancerQuest | Mutation and Cancer Available at: <http://www.cancerquest.org/mutation-and-cancer.html> [Accessed April 15, 2012].
- [20]. Hahn WC et al. Creation of human tumour cells with defined genetic elements. *Nature* 400:464–468. (1999).
- [21]. Keeton WT et al. *Genel biyoloji* (Palme Yayincilik, Ankara) (2003).
- [22]. Feuk L, Carson AR, Scherer SW Structural variation in the human genome. *Nat Rev Genet* 7:85–97. (2006).
- [23]. Karaoğuz Y.M İnsandaki Genetik Hastalıklar. *Mesl İçi Sürekli Eğitim Derg.* (2007).
- [24]. Finishing the euchromatic sequence of the human genome *Nature* 431:931–945. (2004).
- [25]. The Korean College of Helicobacter and Upper Gastrointestinal Research et al. Surveillance Strategy of Atrophic Gastritis and Intestinal Metaplasia in a Country with a High Prevalence of Gastric Cancer. *Dig Dis Sci* 57:746–752. (2011).
- [26]. Sancar A, Lindsey-Boltz LA, Unsal-Kaçmaz K, Linn S Molecular mechanisms of mammalian DNA repair and the DNA damage checkpoints. *Annu Rev Biochem* 73:39–85. (2004).
- [27]. Cabrera G et al. DNA repair BER pathway inhibition increases cell death caused by oxidative DNA damage in *Trypanosoma cruzi*. *J Cell Biochem* 112:2189–2199. (2011).
- [28]. Hikmet G, Murat Ö *Moleküler Hücre Biyoloğisi* (palme yayıncılık).
- [29]. Wikipedia Available at: <http://www.wikipedia.org/> [Erişim Tarihi 30.06. 2013].
- [30]. ekutuphane Available at: http://ekutuphane.sagem.gov.tr/kitaplar/genetik_hastaliklar_saglik_personeli_icin_el_kitabi.pdf.
- [31]. Kantarcı S, Erarlan S, Laleli K Türk toplumunda sık görülen kalıtsal hastalıklarda PCR tekniğine dayalı DNA tanı yöntemlerinin gelişmesi servis olarak sunulması. *Parinatoloji Derg* 7. (1999).
- [32]. Kars A. Gen Tedavisi, 13.TPOG Ulusal Pediatrik Kanser Kongresi, Non-Hodgkin Lenfoma. (2004).

- [33]. Yakırcer C. Kanser Genetiği. *Bilim Tek.* (2002).
- [34]. Bignell GR et al. Signatures of mutation and selection in the cancer genome. *Nature* 463:893–898. (2010).
- [35]. Suvà ML, Riggi N, Bernstein BE Epigenetic Reprogramming in Cancer. *Science* 339:1567–1570. (2013).
- [36]. Vogelstein B et al. Cancer Genome Landscapes. *Science* 339:1546–1558. (2013).
- [37]. Kilpivaara O, Aaltonen LA Diagnostic Cancer Genome Sequencing and the Contribution of Germline Variants. *Science* 339:1559–1562. (2013).
- [38]. Chander N.Süsen V, *Hücre ve Moleküler Biyolojisi* (Nobel tıp kitap evleri) (2012).
- [39]. Klug W.S,Cumming M.R *Genetik Kavramlar* (palme yayıncılık, Ankara).
- [40]. Taşcıoğlu N. Gastrointestinal sistem kanserlerinde metilen tetrahidrofolat redüktaz geni 677 C_T,1298A C methiyonin sentetaz geni 2756A G,Polimorfizmlerin incelenmesi. *Yüksek Lisans Tezi.* (2005).
- [41]. De Carvalho DD et al. DNA methylation screening identifies driver epigenetic events of cancer cell survival. *Cancer Cell* 21:655–667. (2012).
- [42]. Esteller M Cancer epigenetics: DNA methylation and chromatin alterations in human cancer. *Adv Exp Med Biol* 532:39–49. (2003).
- [43]. Lodish H et al. *Molecular Cell Biology.* Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21475/> [Accessed June 30, 2013] (2000).
- [44]. Barreiro LB, Laval G, Quach H, Patin E, Quintana-Murci L Natural selection has driven population differentiation in modern humans. *Nat Genet* 40:340–345. (2008).
- [45]. Pennisi E ENCODE Project Writes Eulogy for Junk DNA. *Science* 337:1159–1161. (2012).
- [46]. Whittaker JC et al. Likelihood-Based Estimation of Microsatellite Mutation Rates. *Genetics* 164:781–787. (2003).
- [47]. Geoffrey, Cooper, Haussman in *Hücresel Moleküler Yaklaşım* (İzmir Tıp Kitap Evi), p 73.
- [48]. Tanrıkut C. DNA repair Genes, XRCC3 and RAD51 ,Polimorphism and risk of childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. (2010).
- [49]. Fang G et al. High-Order SNP Combinations Associated with Complex Diseases: Efficient Discovery, Statistical Power and Functional Interactions. *Plos One* 7:e33531. (2012).
- [50]. Nowell PC The clonal evolution of tumor cell populations. *Science* 194:23–28. (1976).
- [51]. Baselga J Targeting tyrosine kinases in cancer: the second wave. *Science* 312:1175–1178. (2006).

- [52]. Gene mutations that can lead to cancer Available at: <http://www.cancer.org/cancer/cancercauses/geneticsandcancer/oncogenesandtumorsuppressorgenes/oncogenes-tumor-suppressor-genes-and-cancer-mutations-and-cancer> [Erişim Tarihi 30.06. 2013].
- [53]. Gene that halts cancer growth discovered *Hosuronline - Portal Astrol Cine News Gallery*. Available at: <http://hosuronline.com/index.php/gene-that-halts-cancer-growth-discovered/> [Erişim Tarihi 01.07. 2013].
- [54]. Merlo LMF, Pepper JW, Reid BJ, Maley CC Cancer as an evolutionary and ecological process. *Nat Rev Cancer* 6:924–935. (2006).
- [55]. Kelley JR, Duggan JM Gastric cancer epidemiology and risk factors. *J Clin Epidemiol* 56:1–9. (2003).
- [56]. mideca.ppt Available at: <http://tippedu.cumhuriyet.edu.tr/Donem3/KomiteIVGastrointestinalveHematopoetikSistemler/GenelCerrahi/OmerTOPCu/mideca.ppt> [Erişim Tarihi 30.06. 2013].
- [57]. Mide Kanseri *Belgeler.com*. Available at: <http://www.belgeler.com/blg/1lpj/mide-kanseri> [Erişim Tarihi 30.06. 2013].
- [58]. Inoue M, Tsugane S Epidemiology of gastric cancer in Japan. *Postgrad Med J* 81:419–424. (2005).
- [59]. Orman S. Mide kanserli hastalarda Cerrahi Deneyimin ve D2 Diddeksiyonun Hasta sağkalımı Üzerine Etkisi: Bir Üniversite Kliniği Ve Bir Eğitim Hastanesi Sonuçlarının Değerlendirilmesi. *Uzm Tezi*. (2007).
- [60]. Turgur T.D Gastrointestinal Sistemli Kanserli Hastalarda Kardeş Kromatid Değişim sıklığı. *Uzm Tezi*. (2007).
- [61]. Özmen F Gastrointestinal sistem Tümörlerinde LYVE-1, VEGFR-3, CD44, Ekspresyon Düzeyleri ve lenfatik Metastaz Arasındaki İlişki. *Doktora Tezi*. (2008).
- [62]. Robbins basic pathology (Saunders/Elsevier, Philadelphia, PA)8th ed. (2007).
- [63]. Cerrah S. Mide ve Özafagus Kanseri Tanılı Haastalarda C-erB-2 Düzeyi. (2008).
- [64]. Heavy drinking tied to higher stomach cancer risk | The Raw Story Available at: <http://www.rawstory.com/rs/2011/10/30/heavy-drinking-tied-to-higher-stomach-cancer-risk/> [Erişim Tarihi 30.06. 2013].
- [65]. Sjødahl K et al. Smoking and alcohol drinking in relation to risk of gastric cancer: a population-based, prospective cohort study. *Int J Cancer J Int Cancer* 120:128–132. (2007).
- [66]. Emercetufan E. DNA onarım Enzimi OGG1 SER326CYS Polimorfizmi ile Akciğer Kanseri İlişkisinin Türk populasyonunda Araştırılması ve oksidatif Hasarın Biyogöstergesi 8-OHdG Ölçümü. *Yüksek Lisan Tezi*. (2007).
- [67]. Yılmaz E. Nükleik asitlerin Yapısı, fonksiyonu ve genom organizasyonu.

- [68]. Hultén MA, Stacey M, Armstrong SJ Does junk DNA regulate gene expression in humans? *Clin Mol Pathol* 48:M118–M123. (1995).
- [69]. Goode EL, Ulrich CM, Potter JD Polymorphisms in DNA repair genes and associations with cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev Publ Am Assoc Cancer Res Cosponsored Am Soc Prev Oncol* 11:1513–1530. (2002).
- [70]. Winsey SL et al. A variant within the DNA repair gene XRCC3 is associated with the development of melanoma skin cancer. *Cancer Res* 60:5612–5616. (2000).
- [71]. Human DNA repair genes Available at:
http://sciencepark.mdanderson.org/labs/wood/dna_repair_genes.html [Accessed June 30, 2013].
- [72]. Kuzminov A Recombinational repair of DNA damage in Escherichia coli and bacteriophage lambda. *Microbiol Mol Biol Rev Mmbr* 63:751–813, table of contents. (1999).
- [73]. Pâques F, Haber JE Multiple pathways of recombination induced by double-strand breaks in Saccharomyces cerevisiae. *Microbiol Mol Biol Rev Mmbr* 63:349–404. (1999).
- [74]. Henning W, Stürzbecher HW Homologous recombination and cell cycle checkpoints: Rad51 in tumour progression and therapy resistance. *Toxicology* 193:91–109. (2003).
- [75]. Helleday T, Lo J, van Gent DC, Engelward BP DNA double-strand break repair: from mechanistic understanding to cancer treatment. *Dna Repair* 6:923–935. (2007).
- [76]. Bütüner DB, Kantarcı C Mutasyon,DNA Hasarı, Onarım Mekanizmaları Ve Kanserle ilişkisi. *Ank Ecz Fak Derg* 35:149–170. (2009).
- [77]. Onur E,Tuğrul B, Bozyiğit F DNA Damage And Repair Mechanisms. *Türk Klin Biyokim Derg.* (2009).
- [78]. Liu Y et al. Coordination of Steps in Single-nucleotide Base Excision Repair Mediated by Apurinic/Apyrimidinic Endonuclease 1 and DNA Polymerase ? *J Biol Chem* 282:13532–13541. (2007).
- [79]. Müftüoğlu M DNA Tamiri ve Erken Yaşlanma Sendromları. *Turk J Biochem* 28:20–24. (2003).
- [80]. Larrea AA, Lujan SA, Kunkel TA SnapShot: DNA mismatch repair. *Cell* 141:730.e1. (2010).
- [81]. Iyer RR, Pluciennik A, Burdett V, Modrich PL DNA mismatch repair: functions and mechanisms. *Chem Rev* 106:302–323. (2006).
- [82]. Krupa R et al. Polymorphisms in RAD51, XRCC2 and XRCC3 genes of the homologous recombination repair in colorectal cancer--a case control study. *Mol Biol Rep* 38:2849–2854. (2011).

- [83]. Poplawski T et al. DNA damage and repair in gastric cancer--a correlation with the hOGG1 and RAD51 genes polymorphisms. *Mutat Res* 601:83–91. (2006).
- [84]. Wick W et al. Evidence for a novel tumor suppressor gene on chromosome 15 associated with progression to a metastatic stage in breast cancer. *Oncogene* 12:973–978. (1996).
- [85]. Cui X et al. The XRCC2 and XRCC3 repair genes are required for chromosome stability in mammalian cells. *Mutat Res* 434:75–88. (1999).
- [86]. Cartwright R, Tambini CE, Simpson PJ, Thacker J The XRCC2 DNA repair gene from human and mouse encodes a novel member of the recA/RAD51 family. *Nucleic Acids Res* 26:3084–3089. (1998).
- [87]. Ensembl Genome Browser Available at: <http://useast.ensembl.org/index.html> [Accessed June 30, 2013].
- [88]. Tebbs RS et al. Correction of chromosomal instability and sensitivity to diverse mutagens by a cloned cDNA of the XRCC3 DNA repair gene. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92:6354–6358. (1995).
- [89]. Jacobsen NR et al. No association between the DNA repair gene XRCC3 T241M polymorphism and risk of skin cancer and breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev Publ Am Assoc Cancer Res Cosponsored Am Soc Prev Oncol* 12:584–585. (2003).
- [90]. Pavlov AR, Pavlova NV, Kozyavkin SA, Slesarev AI Recent developments in the optimization of thermostable DNA polymerases for efficient applications. *Trends Biotechnol* 22:253–260. (2004).
- [91]. Polymerase Chain Reaction (PCR) Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/genome/probe/doc/TechPCR.shtml> [Erişim Tarihi 30.06. 2013].
- [92]. Bartlett JMS, Stirling D in *PCR Protocols*, Methods in Molecular Biology™., eds Bartlett JMS, Stirling D (Humana Press), pp 3–6. Available at: <http://link.springer.com/protocol/10.1385/1-59259-384-4%3A3> [Erişim Tarihi 30.06 2013] (2003).
- [93]. Temizkan G, Arda N. *Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler* (Nobel Tıp Kitap Evi) (2008).
- [94]. VanGuilder HD, Vrana KE, Freeman WM Twenty-five years of quantitative PCR for gene expression analysis. *BioTechniques* 44:619–626. (2008).
- [95]. Chamberlain JS, Gibbs RA, Ranier JE, Nguyen PN, Caskey CT Deletion screening of the Duchenne muscular dystrophy locus via multiplex DNA amplification. *Nucleic Acids Res* 16:11141–11156. (1988).
- [96]. Multiplex polymerase chain reaction - Wikipedia, the free encyclopedia Available at: http://en.wikipedia.org/wiki/Multiplex_polymerase_chain_reaction [Erişim Tarihi 30,06. 2013].

- [97]. Don RH, Cox PT, Wainwright BJ, Baker K, Mattick JS “Touchdown” PCR to circumvent spurious priming during gene amplification. *Nucleic Acids Res* 19:4008. (1991).
- [98]. Activity 3: Restriction Enzyme Analysis Available at: <http://www.apsnet.org/EDCENTER/K-12/TEACHERSGUIDE/PLANTBIOTECHNOLOGY/Pages/Activity3.aspx> [Erişim Tarihi 30,06. 2013].
- [99]. Wenz C, Jeltsch A, Pingoud A Probing the indirect readout of the restriction enzyme EcoRV. Mutational analysis of contacts to the DNA backbone. *J Biol Chem* 271:5565–5573. (1996).
- [100]. Yeğın et al. Frequency of loss of heterozygosity of E-cadherin gene in gastric cancer. *Akad Gastroentoloji Derg* 5:149–152. (2006).
- [101]. Kanserle Savaş Politikası ve Kanser Verileri (1995-1999) (2002).
- [102]. New study finds big batch of cancer genes - NBC News.com *Nbc News*. Available at: <http://www.nbcnews.com/health/new-study-finds-big-batch-cancer-genes-2B9108834> [Erişim Tarihi 30,06. 2013].
- [103]. Li JY et al. Detection of translocation t(11;14)(q13;q32) in mantle cell lymphoma by fluorescence in situ hybridization. *Am J Pathol* 154:1449–1452. (1999).
- [104]. Ozery-Flato M, Linhart C, Trakhtenbrot L, Izraeli S, Shamir R Large-scale analysis of chromosomal aberrations in cancer karyotypes reveals two distinct paths to aneuploidy. *Genome Biol* 12:R61. (2011).
- [105]. Semple CA, Devon RS, Le Hellard S, Porteous DJ Identification of genes from a schizophrenia-linked translocation breakpoint region. *Genomics* 73:123–126. (2001).
- [106]. Cappuzzo F et al. Epidermal growth factor receptor gene and protein and gefitinib sensitivity in non-small-cell lung cancer. *J Natl Cancer Inst* 97:643–655. (2005).
- [107]. Dutt A, Beroukhim R Single nucleotide polymorphism array analysis of cancer. *Curr Opin Oncol* 19:43–49. (2007).
- [108]. Mates IN et al. Single nucleotide polymorphisms in colorectal cancer: associations with tumor site and TNM stage. *J Gastrointest Liver Dis Jgld* 21:45–52. (2012).
- [109]. You W et al. MTHFR C677T and A1298C Polymorphisms Were Associated with Bladder Cancer Risk and Disease Progression: A Meta-Analysis. *Dna Cell Biol* 32:260–267. (2013).
- [110]. Ahn M-J et al. A Single Nucleotide Polymorphism in the Phospholipase D1 Gene is Associated with Risk of Non-Small Cell Lung Cancer. *Int J Biomed Sci Ijbs* 8:121–128. (2012).
- [111]. Jeon H-S et al. A Functional Variant at 19q13.3, rs967591G>A, is associated with shorter Survival of Early-Stage Lung Cancer. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. (2013).

- [112]. Narter KF et al. Bladder cancer and polymorphisms of DNA repair genes (XRCC1, XRCC3, XPD, XPG, APE1, hOGG1). *Anticancer Res* 29:1389–1393. (2009).
- [113]. Kawabata M, Kawabata T, Nishibori M Role of recA/RAD51 family proteins in mammals. *Acta Med Okayama* 59:1–9. (2005).
- [114]. Romanowicz-Makowska H et al. The association between polymorphisms of the RAD51-G135C, XRCC2-Arg188His and XRCC3-Thr241Met genes and clinico-pathologic features in breast cancer in Poland. *Eur J Gynaecol Oncol* 33:145–150. (2012).
- [115]. Butkiewicz D et al. Genetic polymorphisms in DNA repair genes and risk of lung cancer. *Carcinogenesis* 22:593–597. (2001).
- [116]. Spitz MR et al. Modulation of Nucleotide Excision Repair Capacity by XPD Polymorphisms in Lung Cancer Patients. *Cancer Res* 61:1354–1357. (2001).
- [117]. Hou S-M et al. The XPD variant alleles are associated with increased aromatic DNA adduct level and lung cancer risk. *Carcinogenesis* 23:599–603. (2002).
- [118]. Pérez LO, Crivaro A, Barbisan G, Poleri L, Golijow CD XRCC2 R188H (rs3218536), XRCC3 T241M (rs861539) and R243H (rs77381814) Single Nucleotide Polymorphisms in Cervical Cancer Risk. *Pathol Oncol Res Por.* (2013).
- [119]. Synowiec E, Stefanska J, Morawiec Z, Blasiak J, Wozniak K Association between DNA damage, DNA repair genes variability and clinical characteristics in breast cancer patients. *Mutat Res* 648:65–72. (2008).

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Meryem Baday

Doğum Yeri: Kars

Doğum Tarihi: 1986

Medeni Hali: Bekar

Yabancı Dili: İngilizce

Eğitim Durumu

Lise: Kars Anadolu Lisesi (2000-2004)

Lisans : Kafkas Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü (2005-2009)

Yüksek Lisans: Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji Bölümü (2010-