

DERLEME

GEN POLİMORFİZMİ VE KANSERE YATKINLIK

Abdullah Ekmekçi, Ece Konaç, H. İlke Önen
Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

ÖZET

İnsanlardaki kalıtsal genetik kusurlar (mutasyonlar), kimyasalları aktive eden ve detoksifiye eden enzimlerin yapısını ve ifade edilme düzeyini (karsinojen metabolizmasını) etkileyen kişisel genetik farklılıklar, DNA hasarının onarım kapasitesini etkileyen polimorfik/genetik değişiklikler, kanser riskini arttırabilen başlıca genetik faktörlerdir.

Polimorfizmlere mutasyonlardan daha sık rastlanır. Toplumda %1'den daha yüksek sıklıkta bulunan genetik çeşitlilik tipi ya da gen seçenekleri polimorfizm olarak tanımlanır. İnsan genomunda en çok bulunan genetik çeşitlilik tipi, tek nükleotit polimorfizmleridir (SNP). Genomda binlerce aday polimorfik genin bulunması ve genomunda bu farklılıkları taşıyan kişilerin kanser gelişimine olan duyarlılıklarını etkileyebilecek olması pek çok araştırmacıyı bu çalışma alanına sürüklemektedir.

Anahtar Kelimeler: Apoptozis, DNA Onarımı, Hücre Döngüsü, Kanser, Metastaz, Polimorfizm

GENE POLYMORPHISM AND GENETIC SUSCEPTIBILITY TO CANCER

ABSTRACT

Main genetic factors which may increase the risk of cancer are genetic disorders (mutations), genetic differences which affect the structures and expression levels (carcinogenic metabolism) of enzymes that activate and detoxificate chemicals and polymorphic/genetic changes which affect the capacity to repair DNA damage.

Polymorphisms are observed more frequently than the mutations. A gene polymorphism is defined as the occurrence of genetic variants or gene alternative forms in frequencies higher than 1 percent. Single nucleotide polymorphisms (SNPs) are the most observed genetic variants in human genome. Presence of thousands of polymorphic genes in the genome and the fact that the genome may affect the susceptibility to cancer of individuals with these variants, lead many researchers to explore this uncharted study area.

Anahtar Kelimeler: Apoptosis, DNA Repair, Cell Cycle, Cancer, Metastasis, Polymorphism

GİRİŞ

Evrimsel süreçte tüm türlerin farklılaşmasından ve bir türün üyeleri arasındaki farklılıklardan genetik çeşitlilik sorumludur. Genlerde, genetik çeşitliliğe yol açan bu değişikliklerden biri polimorfizmdir. Genomda çoğunluğu tek nükleotit düzeyinde olmak üzere (insanda on milyon kadar), ikili, üçlü nükleotit tekrar sayılarında değişiklikler ve daha azı kromozom düzeyinde bazı yapısal düzenlemeler şeklinde genetik polimorfizmler vardır. Genetik hastalıklar, DNA'daki bir değişiklik sonucu genin, mRNA ya da protein ürününün niteliğinin ya da niceliğinin (bazen her ikisinin) değişmesi sonucu oluşan hastalıklardır. İnsan genom proje çalışmalarıyla tüm genomdaki genlerin ve nükleotit dizilerinin belirlenmesinden sonra, genlerin ifade edilme düzeyleri ve ifade edilen gen ürünlerinin yapı ve işlevindeki

İletişim Bilgileri:
Dr. Ece Konaç
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Beşevler 06500, Ankara, Türkiye
e-mail: ecemercanoglu@yahoo.com

Marmara Medical Journal 2008;21(3);282-295

farklılıklarını belirleme çalışmaları hız kazanmıştır.

Somatik mutasyon teorisine göre kanser, birden fazla genetik ve epigenetik faktörün etkisiyle çok aşamalı olarak ve kalıtsal ya da sonradan kazanılmış mutasyonların somatik hücrelerde birikmesiyle ortaya çıkan bir somatik genetik hastalıktır. Biz bu derlemede kanserin aşamalı oluşumuyla ilgili hücre döngüsü, hücre farklılaşması, ölümü ya da ölümsüzlüğünü ve DNA hasarının onarım kapasitesini etkilediği öne sürülen aday bazı genlerin polimorfizmlerini ve olası etkilerini açıklamaya çalışacağız.

Kısaltmalar : ANGPT, anjiyopoietin; CDK, siklin bağımlı kinazlar; CDKI, siklin bağımlı kinaz inhibitör; CHEK2, hücre döngüsü denetim noktası kinazı; Cip/Kip ve INK4/ARF, hücre döngüsü inhibitörü ailesi; E2F, transkripsiyon uzama faktörü 2; HIF-1α, hipoksiyle indüklenen faktör-1alfa; MMP, matriks metalloproteinaz; p16 (CDKN2A), siklin bağımlı kinaz inhibitörü 2A; p21 (CDKN1A), siklin bağımlı kinaz inhibitörü 1A; p27 (CDKN1B), siklin bağımlı kinaz inhibitörü 1B; p53, tümör baskılayıcı p53 proteini; RA, retinoik asit; RAR, retinoik asit reseptörü, Rb, retinoblastoma; SNP, tek nükleotit polimorfizmi; TNF-α, tümör nekroz faktörü- α; VDR, Vitamin D reseptörü; VEGF, vasküler endotelyal büyüme faktörü; XPC/XPD/XRCC1/XRCC3, DNA onarımında görev alan genlerden bazıları

---

1. Hücre Döngüsü ve Polimorfizm

Gen değişimleri, onkogenlerin aşırı ifade edilmesi ve hücre döngüsü düzenleyicileri tümör gelişiminde önemli rol oynayan faktörlerdendir[1]. Bunlardan hücre döngüsünün denetimi, çoğu biyolojik sürecin ve kansere yolaçabilen kontrolsüz hücre çoğalmasının anlaşılmasında asıl ilgi odağı durumundadır. Hücre döngüsünü düzenleyen sistemlerin pek çok bileşeninin kanserle bağlantısı olduğundan kanser, bir hücre döngüsü düzensizlik hastalığı olarak da tanımlanabilir. G_1, S, G_2 ve M evrelerinden oluşan hücre döngüsünün bir evresinden diğerine geçişi, döngü basamağına göre düzeyleri artan ya da azalan siklin proteinleriyle denetlenir. Döngüde rolü olan pek çok onkogen ve tümör baskılayan gen, G_1 kontrol noktasındaki hatalarla ilişkilidir[2]. G_1/S geçiş noktasının denetimi; siklinlerin sentezlerinin ve yıkımlarının denetlenmesi, kendisine bağlanan ve düzeyleri döngü boyunca değişmeyen ancak aktiviteleri denetlenen katalitik özgün kinazlarla birleşerek siklin-bağımlı kinaz (CDK) kompleksinin oluşumu, bu kompleksin otofosforilasyonla aktifleşmesi, Cip/Kip ve INK4/ARF gibi hücre döngüsü inhibitörlerinin etkisiyle inaktifleşmesi olaylarıyla sağlanır[3-5]. D-tipi siklinler (siklin D_1, D_2 ve D_3), CDK4 ve CDK6'yı aktive eder ve G_1'in ilerleyişinden sorumludur[6]. Retinoblastoma (Rb), hücre döngü düzenleyicisi ve tümör baskılayıcısı olarak belirlenen genlerden biridir. Siklin ile oluşan CDK4 ve CDK6 kompleksleri Rb proteinlerini fosforile ederek onu inaktive eder. İnaktif Rb, aktifken kendisine bağlı olan transkripsiyon uzama faktörü-2 (E2F)'yi serbest bırakır (Şekil 1). E2F de, G_1/S geçişi ve *S evresine* giriş için gerekli -siklin A, E ve CDK1, myb, dihidrofolat redüktaz, timidin kinaz gibi- genlerin ifade edilmesini sağlar[7]. E2F, diğer döngü düzenleyicileri gibi DNA sentezi, DNA onarımı ve apoptozis olaylarında rol oynamakta ve bazı tümörlerde allele bağlı ifade edilme düzensizliklerine neden olabilmektedir[8].

Hücre döngüsünün diğer önemli bir düzenleyicisi, tümör baskılayan p53 genidir. DNA hasarına yanıt olarak p53 gen ürünü aktive olur, hücre döngüsü durur. DNA onarımı ve apoptozis olayları başlatılır[9]. Genomik bütünlüğün korunmasında hücre döngü düzenleyicisi olan p53 insan kanserlerinde mutasyonun en sık görüldüğü genlerden biridir[10]. p53, DNA hasarına yanıt olarak etkisini, siklin-bağımlı kinaz inhibitörlerinden (CDKI) biri olan p21 proteininin ifade edilmesini sağlayarak gösterir[11].

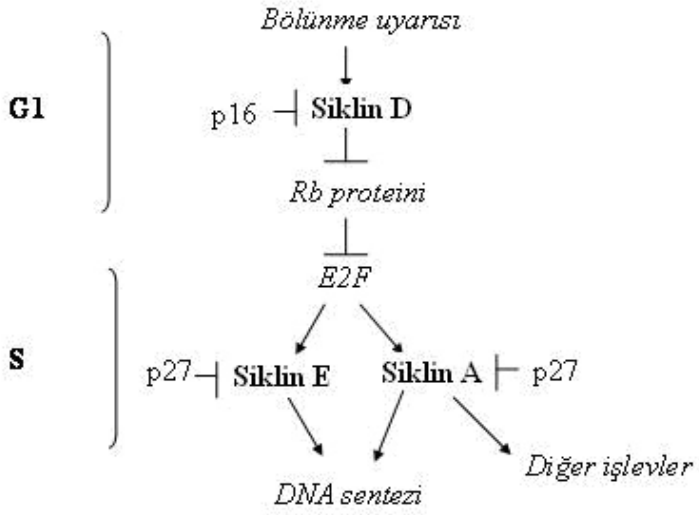
Hücre döngüsünün kontrolü, CDK aktivitelerinin düzenlenmesi, siklinlerin

sentezi ve parçalanması, fosforilasyon ve defosforilasyonu, CDKI proteinlerinin sentezi, bağlanması ve parçalanmasını kapsayan pekçok düzeyde yapılabilmektedir[12]. CDKI ailesinden biri olan Cip/Kip ailesi, çoğunlukla siklin/CDK komplekslerine bağlanarak etki gösterir. Örneğin p21, CDK2 ile etkileşir (p21, p27 ve p57 bu ailedendir). CDKI ailesinin bir başka üyesi ise INK4/ARF'dir. INK4 yalnızca CDK4 ve CDK6 ile etkileşir ve bunların siklin D ile birleşmelerini engeller (p15, p16, p18 ve p19 bu ailedendir). ARF ise p53'ün regülatörü olan MDM2 aktivitesini inhibe ederek p53 seviyesini arttırır (p14 bu ailedendir)[13]. Tüm CDKI molekülleri, hücrede fazla sentezlendiklerinde ve CDK moleküllerini etkisizleştirdiklerinde hücre döngüsünü G_1 evresinde durdururlar.

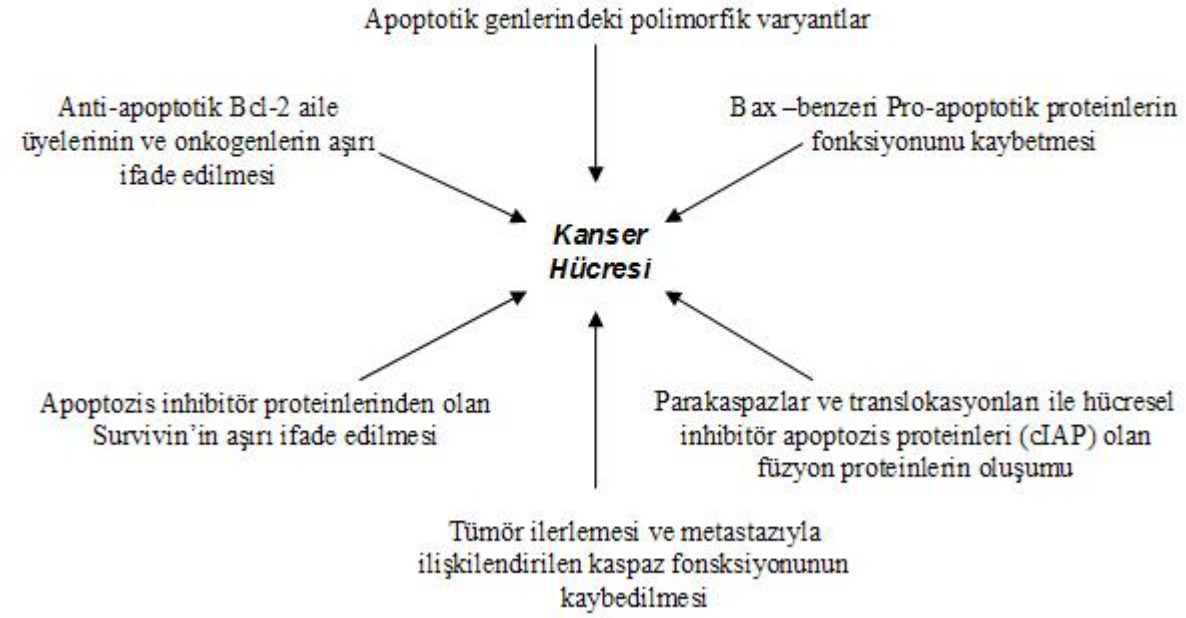
G_1 düzenleyicilerinden siklin D1, CDK4 ve p16, over kanser gelişiminde önemli rol oynarlar[14]. Miktarı artan siklin D1, Rb proteinini fosforilasyonla inaktive etmek için CDK4 ve CDK6 ile birleşir (siklin D1, 11q13'te CCND1 geni ya da Prad1 geni tarafından şifrelenir; paratroid adenomda, B-hücre lenfomalarında bu genin translokasyonunun –t(11;14)(q13-q32)- rolü nedeniyle bu isim verilmiştir). Siklin D1'in ifade edilmesinin, bazı hücre tiplerinde hücre–hücre dokunmasının ortadan kalkmasıyla azaldığı ve bu döngü düzenleme etkisinin integrinler ve fokal adezyon kinazlar aracılığıyla gerçekleştiği gösterilmiştir[15]. Meme, özefagus, squamöz hücreli kanserde siklin D1 lokusunda artış olduğu gözlenmiştir[16-20]. Kolorektal kanserlerde, siklin D2 ve E genlerinin çoklu kopya oluşturması nedeniyle mRNA ve protein düzeyinde de aşırı ifade edildiği gösterilmiştir[21]. Bazı meme kanseri hücre hatlarında siklin E geninde artış olduğu[22,23] ve bu artışın siklin E mRNA düzeyini yaklaşık 64 kat arttırdığı gösterilmiştir[24].

Herhangi bir hastalığın oluşumunda ve tedavi amaçlı uygulanan ilaca verilen yanıtta çevre, yaş, beslenme, yaşam biçimi gibi faktörlere ek olarak, kişinin genetik yapı değişikliklerinin rolü yadsınamaz. Bu nedenle toplumların genom yapısındaki varyasyonların, ve kişisel gen mutasyonlarının çalışılması kanser oluşum riskinin, ilaç toksisitesi ve etkinliğinin belirlenmesinde yararlı olmaktadır. Tek nükleotit değişimlerini (varyasyonları, polimorfizmleri) içeren genler, toplumda % 1'den daha fazla sıklıkta bulunan allel genler olarak tanımlanır[25]. İnsan genom dizilim çalışmaları her insan genomunda DNA'nın % 99.9 benzerlik gösterdiğini kanıtlamıştır[26]. Geriye kalan % 0.1'lik fark, bireysel genotip ve fenotipik değişikliklerin sorumlusudur. Tek nükleotit değişimleri insan genomunda en çok bulunan (ortalama her 1000 nükleotitte bir) DNA dizi değişimleridir[27]. Diğer genetik polimorfizm tipleri; değişik uzunlukta ikili ya da üçlü nükleotit tekrarları ve DNA'da eksilme ya da artmaları içerir[28]. İster döngü düzenleyici molekül isterse yüzlerce hücresel işlevden birinden sorumlu olan herhangi bir genin kodlayıcı bölgesindeki değişiklik, genin ürünü olan fenotipi etkiler. Genin ifadesi ise çoğunlukla genin promotör ya da enhancer gibi düzenleyici bölgeleri (cis elementlerdeki) ve bu bölgelere bağlanan transkripsiyon faktörleri ve diğer yardımcı düzenleyici moleküllerle kontrol edilir[29]. Genin kontrol bölgesindeki nükleotit değişiklikleri ve diğer genlerden oluşturulan ve bu düzenleyici bölgeleri tanıyıp bağlanan (trans etkili) düzenleyici proteinlerin genlerinin kontrol ve kodlayıcı DNA bölgesindeki nükleotit dizi değişiklikleri genin ifade edilme düzeyini, bir başka deyişle ürün oluşumu ve miktarını etkiler. Böylece bir genin ifade edilme düzeyi, hem genin kontrol bölgesindeki DNA diziliminin hem de bu bölgeye bağlanan düzenleyici transkripsiyon faktörlerinin farklılığından dolayı kişiden kişiye değişebilir.

Hücre döngüsü denetim noktasında DNA onarımından sorumlu bir kinaz geni olan CHEK2 (CHK2 olarak da bilinir), meme kanser riskinin artmasında rolü olan bir başka döngü düzenleyici gendir. CHEK2 1100delC varyantının, kadınlarda meme kanser riskinin yaklaşık 2 kat, erkeklerde ise 10 kat artmasına neden olduğu gösterilmiştir[30]. p53 genindeki Pro72 polimorfizminin over kanseri için



Şekil 1. GI ve S evresi siklin molekülleri ile büyüme faktörü (bölünme uyarısı) ve döngü engelleyicileri arasındaki ilişkiler



Şekil 2. Karsinogenezis'de apoptozis ile ilgili olabilecek genler/proteinler

moleküler belirteç olabileceği belirtilirken, bu allele sahip olmayan meme kanserli hastaların tedavisinde tamoksifenden değil diğer tedavilerden sonuç alınabileceği önerilmektedir[31]. Siklin D1 geninin 4. ekzonunda tanımlanan A870G tek nükleotit polimorfizmi (SNP) farklı bir mRNA ve farklı bir proteinin oluşmasına neden olabilir[32]. Bu polimorfizmin, protein ifade edilme düzeyini değiştirerek özefagus kanserlerinde genomu kararsızlığa götürerek agresif bir klinik sürece götürdüğü gösterilmiştir[33]. Bir başka

çalışmada ise bu polimorfizm bakımından AA genotipine sahip olan bireylerin, kolorektal kansere yakanma riskinde artış olduğu gösterilmiştir[34,35]. Ayrıca, endometriyum[36], özefagus ve kardiyak kökenli[37,38] kanser hastalarında yapılan çalışmalarda, siklin D1 geninin A870G polimorfizmi bakımından araştırıldığında, AA genotipi ve kanser gelişim riski arasında ilişki olduğu belirlenmiştir. Bunlara ek olarak siklin D1 A870G gen polimorfizmi sigaranın indüklediği akciğer kanser riskini de etkileyebilmektedir[39]. Buna karşın, östrojen/progesteron reseptör negatif ve ileri evre (III ve IV) meme kanserli hastalarda ise, 870 A allelinin sağkalım ile pozitif ilişkisi olduğu gösterilmiştir[40]. McKay ve arkadaşları[41] yüksek düzeyde siklin D1 protein ifade edilmesi ile kolorektal kanser arasında pozitif ilişkili olduğunu, ancak, A870G polimorfizminin siklin D1 protein ifadesi ve sağkalım ile ilişkisi olmadığını göstermişlerdir.

CDKI ailesi üyelerinden $p16^{INK4A}$ (CDKN2A) geninde tanımlanan A148T varyantı erken yaşta gelişen meme[42], malign melanom ve akciğer[43] kanserleri ile ilişkilendirilmiştir. Cip/Kip aile üyesinden biri olan $p21^{CIP1/WAF1}$ (CDKN1A) geninin 31. kodonundaki C/A transversiyonu sonucu serin yerine arjinin aminoasitinin kodlanmasıyla sonuçlanan bir polimorfizm tanımlanmıştır[44]. AA genotipinin akciğer[45], mesane[46] kanser gelişimi ile, CC genotipinin ise özeferangal kanser oluşumu ile ilişkisi gösterilmiştir[47]. Genin 3′ translasyona uğramayan bölgesinde yer alan (stop kodonunun 20 bazçift aşağısında) ve 31. kodon polimorfizmi ile bağlantı gösteren C/T polimorfizmi tanımlanmıştır[48]. Bir çalışmada, CC genotipi ile karşılaştırıldığında, T alleli taşıyıcılarında (CT+TT genotipleri) prostat kanseri gelişim riskinin 2 kat arttığı gösterilmiştir[49]. Cip/Kip aile üyesinden biri olan $p27^{KIP1}$ (CDKN1B) geninin 109. kodonunda T/G değişimi sonucu glisin amino asiti yerine valin amino asiti kodlanmasıyla sonuçlanan bir polimorfizm tanımlanmıştır[50]. VV (çalışmada, CDKN1B geni kesim ürünlerine göre sınıflandırılmış) genotipi ile ileri evre prostat kanseri arasındaki ilişki gösterilmiştir[49]. Bir başka çalışmada ise, oral kanserli erkek hastalarda VV genotipinin kanser gelişimi ile bağlantısı belirlenmiştir[51]. Meme kanserli hastalarda GG genotipi ile lenf nodu metastazı arasında ilişki olduğu gösterilmiş ve bu polimorfizmin tumör prognoz belirteci olabileceği önerilmiştir[52]. Bir başka çalışmada ise, CDKN2A, $p15^{INK4B}$ (CDKN2B), CDKN1B genlerinin kontrol bölgelerinde yeni polimorfizmler tanımlanmıştır. CDKN2A -222A, CDKN2B -593A, CDKN1B -1608A varyantları ile çocukluk çağı pre-B akut lenfoblastik lösemi (ALL) gelişimi arasındaki bağlantı gösterilmiştir[53].

Özetlersek, siklinler, CDK kompleksleri ve CDKI molekülleri, hücre döngüsü, farklılaşma, DNA onarımı ve apoptozis sistemlerinin düzenlenmesiyle ilgili genlerin ifade edilmesini denetlemektedir. Hücre döngüsünün denetim noktalarını oluşturan sistemler, kromozomların doğru düzenlenme-ayrılmalarından ve genomun bütünlüğünün sürdürülmesinden sorumlu olduğundan bu sistemlerdeki hatalar kanser hücrelerindeki aneuploidilerin ve genomik kararsızlığın asıl nedeni olabilmekte bu nedenle de tedavide ilaç hedefleri arasında yer almaktadır.

2. Farklılaşma ve Polimorfizm

Kanser; hücre çoğalması, farklılaşması ve ölümü arasındaki dengenin bozulmasıyla oluşur. Hücrede son farklılaşma; hücre döngüsünün durması ve hücreye özgü genlerin ifade edilmesiyle ilgili programının aktivasyonuyla sağlanır. Birbiriyle zıt bir program ilişkisi içinde olan hücresel büyüme ve farklılaşmanın genetik programı bağlaşıktır[54]. Örneğin kas hücrelerinin oluşması sırasında, çoğalan myoblastlar MyoD genini ifade eder, ancak büyüme faktörlerince zengin ortamda farklılaşma yoktur. Ortamdan büyüme faktörleri uzaklaştırılınca myojenik farklılaşma başlar. p21 ve p16 gibi negatif hücre döngüsü düzenleyicileri MyoD transkripsiyon aktivitesini sağlarken, büyüme faktörlerinin varlığında pozitif düzenleyici siklin D1'in aşırı ifade edilmesi MyoD aktivitesini engeller[6]. mRNA'sı kesim sonrası beş ekzondan oluşan siklin D1'in, intron kesim bölgesindeki SNP'den dolayı dört ekzondan

oluşan polimorfik varyantı siklin D1b, bazı farklı işlevlere sahip olabilmektedir[55]. Siklin D1'in androjen reseptör işlevini etkilediği ve prostat kanserinde epitel hücrelerin transformasyonuna neden olan bazı transkripsiyonel düzenlemelerin ve hücresel çoğalmanın kontrolünü elde tuttuğu gösterilmiştir[56]. Melanokortin-1 reseptörü (MC1R)'in bazı varyantlarının melanozom olgunlaşmasının tamamlanamamasına neden olduğu ve deri kanser riskini arttırdığı öne sürülmektedir[57].

Yeni hipotezlerle en azından bazı kanserlerin, normal dokulardaki farklılaşmaya benzer şekilde, farklılaşma yeteneğini sürdüren kök hücrelerin neoplastik transformasyonundan oluşabileceği öne sürülmekte ve bu hücreler "kanser kök hücreleri" olarak isimlendirilmektedir. Buna alternatif bir hipotezle de kanser kök hücrelerinin, farklılaşması geriye dönmüş (de-differansiyasyon) ve kök hücre özelliğini yeniden kazanmış hücrelerden ya da asıl kökenden değil farklı embriyonal kökenden gelerek transformasyona uğramış hücrelerden (trans-differansiyasyon) geliştiği öne sürülmektedir[58,59]. Kök hücre farklılaşmasının son aşaması, olgunlaşma işleviyle ilgili sürecin son bölümünü kapsar. Farklılaşma tamamlanamamışsa ya da hatalı farklılaşma olmuşsa hücre, apoptozisle ortadan kaldırılır. Apoptozisin gerçekleşmediği durumlarda ise bu hücrelerin neoplastik dönüşüme uğraması olasılığı vardır. Retinoik asit (RA) ve reseptörleri (RAR), akciğerde hücre çoğalması[60] ve normal epitelyal farklılaşmanın devamlılığı için gereklidir. RA etkisini, asıl olarak çekirdek reseptör gen ailesinin üyeleri - RAR ve retinoid X reseptörleri - aracılığıyla ortaya koyar[61]. RA, insan akut promyelositik lösemi hücrelerinin de terminal farklılaşmasını sağlar ve bu hastalığın tedavisinde kullanılır[62]. RAR, ligand-bağlı transkripsiyon faktörü olarak işlev yapar. RAR'ın birden fazla promotörü kullanabilen ve alternatif intron kesimiyle oluşturduğu ve her biri farklı genden ifade edilen α, β, and γ izotipleri ve bunların da birkaç izoformları bulunur. Diğer çekirdek reseptörleriyle de heterodimerler oluşturarak DNA'ya bağlanabilirler. Bu sinyal moleküllerindeki çeşitlilik ve bunların DNA'ya bağlandıkları özel hedef bölge polimorfizmleri, denetledikleri genlerin ifade edilmelerinde de rol oynayabilmektedir[61,63]. Örneğin RAR genlerinin epigenetik metilasyonla ifade edilmesinin engellenmesi bazı karsinomların oluşmasında etkili olabilmektedir[64-66].

Bazı çevresel kimyasal maddeler (organoklorürlü kimyasallar, klorürlü pestisitler, poliklorürlü bifenil ve dibenzo bileşikleri), meme kanserinin başlamasında rol oynayabilmektedir. Bu bileşikler hücre farklılaşmasında rolü olan östrojenin özelliklerini taklit etmektedir[67,68].

3. DNA Onarımı ve Polimorfizm

DNA onarımında görev alan OGG1, ERCC1, XRCC1, XRCC2, XRCC3, XPC, XPD, XPF, BRCA2, MRE11, NBS1, Ku70/80, LIG4, RAD…vb. genlerin polimorfizmleri, proteinlerin işlevini ve bireylerin hasarlı DNA'yı onarma kapasitesini değiştirebilmektedir. Eksik onarım kapasitesi de genetik kararsızlığa ve dolayısıyla kanser oluşumuna neden olabilmektedir[69]. Ancak, DNA onarım genlerindeki polimorfizmler tek başlarına kanser risk çeşitliliğini açıklamak için yeterli değildir. Kanserle ilişkili somatik mutasyonların birikimi sadece DNA onarımındaki kusurdan değil, hücre ölüm mekanizmasının hasarlı hücreleri elimine etme yeteneğinin azalmasından da kaynaklanır[70]. DNA onarımı, genomik kararsızlık ve apoptozis birbirleriyle etkileşen olaylar olduğundan, her biri kanserin patofizyolojisinde çok önemli role sahiptir.

Bir çalışmada DNA onarım mekanizmalarından (işlergelerinden) biri olan nükleotit kesme-çıkarma onarımında görev alan XPC (Asp312Asn) ve XPD (Lys751Gln) genlerinin polimorfizmleri ile akciğer kanseri arasında bir ilişki bulunurken, baz kesme-çıkarma ve çift zincir kırıklarının tamirlerinde görev alan XRCC1 (Arg399Gln) ve XRCC3 (Thr241Met) gen polimorfizmleri ile hastalık arasında ilişki bulunmamıştır[71]. Diğer bir çalışmada, XPD kodon 312 heterozigot ve homozigot A

allelinin prostat kanseri için belirteç olabileceği önerilmiştir[72]. Bir başka çalışmada, XRCC1 ve XPD genlerindeki polimorfizmlerin kolorektal kanser ile ilişkili olduğu bulunmuştur[73]. 507 meme kanserli hastada XRCC3 Thr241Met polimorfizmini araştıran bir çalışmada, 241Met taşıyıcılarında meme kanserine yakalanma riskinde artış olduğu belirlenmiştir[74]. Yeni tanı almış mesane kanserli 215 hasta ile yapılan bir araştırmada, XPD 156-22541C>A ve 751-35931A>C polimorfizmlerinin mesane kanserinin etiyolojisinde önemli rolü olduğu ortaya konmuştur[75]. Hepatosellüler karsinomlu hastalarda, XRCC1 AG ve GG genotiplerinin homozigot olan AA genotipli hastalara göre, p53 geninin 249. kodonundaki (hot spot) mutasyon frekansında artışa neden olabileceği gösterilmiştir[76]. Diğer bir çalışmada da, XPC 499val alleli taşıyıcılarının, nazofarengeal karsinoma yakalanma riskinde artış olduğu belirlenmiştir[77]. RAD51 135G>C polimorfizminin özellikle 50 yaş altındaki kadınlarda ailesel meme kanseri riskini arttırabileceği saptanmıştır[78].

DNA onarım genlerindeki genetik polimorfizmlerin kanser gelişimde etkin rolü olduğu bilinmesine rağmen, bu polimorfizmlerin infertiliteyi de etkileyebileceğine ilişkin bilgiler de vardır. Yapılan bir çalışmada, XPD 751 glutamin allelinin azospermi için risk alleli olduğu ve XRCC1 194 Arg/Arg ve 399 Arg/Arg genotipleri ile beraber değerlendirildiğinde de azospermiyi 5.100 - 3.064 kat arttırdığı belirlenmiştir[79].

4. Apoptozis ve Polimorfizm

Programlı hücre ölümü olan "apoptozis", hem hücresel homeostazisin devamlılığı hem de hücre çoğalması ve farklılaşmasında çok önemli olan hücre eliminasyonu için gerekli fizyolojik bir işlemdir. Apoptozis, nekrozis, otofaji, anoikis ve mitotik katastrof gibi programlı veya indüklenen hücre ölümleri tanımlanmış olmasına rağmen, içlerinde sistematik olarak en çok ve en iyi çalışılanı, apoptozisin moleküler işlergesi olmuştur. Apoptozis, genetik işlergelerle düzenlenmekte ve malign hücrelerde bu işlergelerin denetimi bozulabilmektedir. Bu da kontrolsüz hücre büyümesine ve tümör gelişimine neden olmaktadır. Apoptotik işlergelerde rolü olan pro-apoptotik ve anti-apoptotik genlerin klonlanmış olmasına ve apoptotik yolaktaki olası fonksiyonlarının araştırılmasına rağmen[80] bu genlerin önemi ve kanser gelişimindeki ürünleri halen tam olarak ortaya konamamıştır[81]. Apoptozis; iyonlar (Ca^{+2}), moleküller (seramid), genler (c-myc), proteinler (p53) hatta organeller (mitokondri) gibi çok sayıda aracıyla düzenlenir[82].

Normal hücre ve tümör hücresi arasındaki gen ve protein ifade edilmesindeki artış veya azalışların (ifade farklılıklarının), tümörün başlangıç aşamasında mı yoksa ilerleyen evrelerinde mi gerekliliği halen bilinmemektedir[81]. Apoptozisin azalması tümörigenezis ile ilişkilendirildiği için, apoptozisin negatif düzenleyici genlerinin onkogenik potansiyeli olabileceği, pozitif düzenleyici genlerinin de tümör baskılayıcı genler gibi davranabileceği öngörülmektedir. Birçok tümörde anti-apoptotik proteinler, yüksek düzeyde pro-apoptotik moleküllerle beraber bulunur (aktif kaspaz-3 ve kaspaz-7 gibi)[81]. İlk bakışta çelişkili görünen bu durum 30'dan fazla proteini içeren ve bir kısmı apoptozisi indükleyen bir kısmı da baskılayan Bcl-2 ailesi ile açıklanabilir. Bu ailenin üyeleri kendi aralarında homo veya hetero-dimerler oluştururlar. Hücrenin sağkalım durumu bu ailenin pro-apoptotik ve anti-apoptotik üyelerinin göreceli oranına bağlıdır. Bu heterodimerlerden biri olan Bcl-2/Bax'ın birbirine oranının bazı hematolojik malignensilerde prognostik değer taşıdığı rapor edilmiştir[83,84]. Bu oranın azalması apoptozisin aktivasyonu, artması ise apoptozisin inhibisyonu ile sonuçlanmaktadır.

p53 geninin Pro72 polimorfizmi, apoptozis-ilişkili SNP'dir. Ancak, karsinogenezisde apoptozis ile ilgili olabileceği düşünülen genler/proteinler de vardır (Şekil 2).

Tümör nekroz faktörü- α (TNF-α), en çok çalışılan ve bazı önemli kanser tipleri ile ilişkili olduğu belirlenen sitokinlerden biridir[85]. FAS, TNFRSF6/CD95/APO-1

olarak bilinen apoptotik sinyal yolağında yer alan hücre yüzey reseptörü, promotör bölgesinde yer alan SNP'lerin kanser duyarlılığında rolü olabileceği belirtilmiştir[86,87]. FAS -1377 G/A, -670A/G ve FAS ligand (FASL) -844T/C polimorfizmleri bu genlerdeki transkripsiyonel aktiviteyi değiştirebilmektedir. Ölüm yolağındaki FAS ve FASL genlerindeki polimorfizmlerin özefagus skuamöz kanseri geliştirme riskini arttırdığı gösterilmiştir[87]. p73 geni, p53 geninin hücre döngüsü kontrolü, apoptozis ve hücre büyümesi gibi sahip olduğu fonksiyonları düzenleyebilir. Ekzonların bilinen kodlayıcı bölgelerinin dışında, 5′ ucunda ribozoma bağlanma işlevinden sorumlu ve 3′ ucunda da poliA kuyruğunun eklenmesinde rolü olan kodlayıcı olmayan (untranslated bölgeleri (UTR)) bulunabilmektedir[88, 89]. p73 genindeki bağlantı gösteren ve kodlayıcı olmayan 2. ekzonda bulunan G4C14-A4T14 polimorfizmleri baş-boyun skuamöz kanserlerinde genetik belirteç olabileceği belirtilmiştir[90].Tümör nekrozis faktör, apoptozis ile ilişkili- ölüm reseptörü 4 (DR4) ve 5'e bağlanarak dışarıdan apoptotik yolağı uyaran ligandı uyarır. APO2L/TRAIL, dışarıdan apoptotik yolağı uyaran, TNF reseptör gen süper ailesinin alt grubu olan bir ailedir. APO2L/TRAIL, ikisi proapoptotik reseptörler [(DR4 veya APO2L/TRAIL R1), TRAIL-reseptör 2 (APO2L/TRAIL-R2, DR5, KILLER/DR5)], diğer ikisi de (TRID ve DcR2) tuzak reseptörler- hücre ölümünü indükleyemeyen- olmak üzere dört farklı hücre yüzey reseptörlerine eşit eğilimli olarak bağlanır. APO2L/TRAIL ile indüklenen hücre ölümü, reseptör ifadelenmesi ve bağlanması ile sınırlıdır[91] Bir çalışmada, DR4 ekzon 4 G/G genotipinin mesane kanseri riskini azalabileceği öne sürülmektedir[91]. Hematolojik ve sindirim yolundaki kanserlerde kaspaz- 8, kaspaz-10 ve DR4 genlerinde mutasyonlar rapor edilmesine rağmen, kanser ile ilişkilendirilen bu apoptotik genlerdeki SNP'ler ile ilgili çalışma daha azdır[92-96]. Bu çalışmalardan birinde kaspaz-8 polimorfizminin meme kanseri yatkınlığına karşı koruyucu etkisi olduğu rapor edilmiştir[96]. DNA onarım ve polimorfizmi kısmında bahsettiğimiz, XPD'deki polimorfik değişim ilk başlarda DNA onarım çalışmalarına dahil edilip araştırılmıştır. Ancak, kodon 3122deki Asp/Asn (GAT/AAT) polimorfizmi, AAT homozigotları ultraviyole ile uyarılan apoptozisdeki artış ile karakterize edildiğinden, bu DNA onarım enzimindeki polimorfizm, apoptotik yolakla da ilişkilendirilmiştir[97].

Hücre ölüm genlerinin kodlanan bölgelerinde belirlenmiş SNP'lerin sayısının, kodlanmayan bölge ve henüz onaylanmamış gen polimorfizmleri ile artış göstereceği öngörülmektedir[70]. Çünkü, hastalıklardaki fonksiyonel anlamlılıkla ilişkilendirilmiş SNP'lerle ilgili bilgimiz, gelecekteki çok sayıda olgu-kontrol gruplarını içeren çalışmalarda uygun polimorfik aday genlerin seçiminde yol gösterici olabilecektir.

5. Metastaz ve Polimorfizm

Transformasyona uğramış hücrelerin metastatik potansiyeli bölgesel mikroçevreden, anjiyogenezisten (yeni damar oluşumu), stroma-tümör ilişkisinden ve bulunduğu bölgesel dokunun sitokin içeriğinden etkilenebilmektedir[98]. İnvazyon ve anjiyogenezis, erken olaylar olarak benzer sinyal programlarını kullanırlar[99]. Metastazın evreleri, birincil tümör kitlesinden koparak ayrılma, bazal membrandan ve intersitisiyal bağ dokudan geçerek invazyon, damara giriş ve dolaşıma katılma, endotel bazal membrana tutunma ve damardan çıkış, uzak dokularda çoğalma olarak özetlenebilir[100,101].

Solid tümör büyümesi ve metastaz gelişiminde, yeni kan damarlarının oluşumu gereklidir. Yeni damarların oluşumunun birçok düzenleyicisi vardır. Anjiyogenik düzenleyiciler içerisinde en önemlisi ve üzerinde en çok durulanı vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF)'dür. VEGF, hipoksik veya iskemik koşullardaki hücrelerden salınarak anjiyogenezisi uyarır[102]. VEGF geninin birçok polimorfizmi tanımlanmıştır[103]. VEGF geninin ifade edilmesinin hatalı düzenlenmesi, başlıca tümör büyümesi ve metastazı[104], romatoid

artrit [105] ve diabetik retinopati[106] gibi çeşitli hastalık patolojileri ile ilişkilendirilmiştir. Bir diğer anjiyogenik düzenleyici, anjiyopoietin (ANGPT) ailesidir[107]. Anjiyopoietin ailesi vasküler gelişimde, anjiyogenezisde ve özellikle kadın üreme sisteminde çok önemli ve kritik roller üstlenmektedir[108,109]. Anjiyogenik düzenleyicilerin polimorfizmlerinin tümörün gelişim ve dağılım hızını etkileyebilecek potansiyelinin olması bizi bu yeni çalışma alanına sürüklemiştir. Önceki yapmış olduğumuz bir çalışma da VEGF -460, 936 ve ANGPT-2 polimorfizmlerle over, serviks ve endometriyum kanserleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır[110]. Bir başka çalışmamızda, -460 C/T polimorfizmi ile sporadik prostat kanseri arasında anlamlı bir ilişki de belirlenememiştir[111]. İnsanlardaki tümörlerde yüksek düzeyde bulunan hipoksiyle indüklenen faktör-1 alfa (HIF-1α)'nın anaerobik enerji metabolizmasını, anjiyogenezisi, hücrelerin devamlılığını ve ilaca karşı dirençte rol oynayan hedef genleri düzenleyerek tümör gelişiminde önemli rol oynadığı belirtilmektedir[112]. Tümör hücresinin hipoksik koşullara adaptasyonunda en önemli faktörlerden biri olan bu transkripsiyon faktörü ile yaptığımız çalışmada, HIF-1 α C1772T polimorfizminin servikal ve endometriyal kanserle ilişkili olabileceğini saptadık[113].

Tümör oluşumundan asıl olarak onkogenler, tümör baskılayan genler ve genomun kararlılığında önemli rol üstlenen genlerdeki değişiklikler sorumludur[114]. Metastazla ilgili genler basitçe, metastazı baskılayanlar ve metastazı destekleyenler olarak gruplandırılabilir. İlk belirlenenlerden birkaçı metastazı aktive eden ras onkogenini baskılayan E1A, metastazı baskılayan matriks metalloproteinaz (MMP) inhibitörleri TIMP1 ve 2, yine metastazı baskılayan nm23, KiSS-1 'dir. Nm23 (Nm, non-metastatik) mikrotubul polimerizasyonunda ve hücre içi sinyal iletiminde rolü olan bir nükleozid difosfo kinazdır. Nm23'ün, melanom, meme, kolon gibi çoğu kanser metastazındaki rolü belirlenmiştir[115]. Ayrıca prostat ve over kanserlerinde MKK4, yine prostat ve memede KAI1, meme ve melanomda BRMS1, idrar kesesi kanserinde RhoGD1 ve melanomda CRSP3 metastazda tanımlanan genlerdendir [116,101].

Ekstrasellular matriksi parçalayarak bazı tümörlerin invazyonu ve metastazında rol oynayabilen MMP varyasyonları, MMP miktarı ve aktivitesini dolayısıyla da metastaz riskini arttırabilmektedir. Örneğin MMP-3 promotör bölgesinde 5A polimorfizmi, daha invaziv meme kanser riskiyle bağlantılıdır[117]. MMP-7 181G promotör polimorfizminin kolorektal kanser invazyon ve metastazında etkili olduğu gösterilmiştir[118]. Plazminojen aktivasyon inhibitörü (PAI-1) -675 4G5G polimorfik geninin meme kanserinin prognozunda belirteç olarak yardımcı olabileceği önerilmektedir[119, 120].

Vitamin D ve aktif metaboliti 1,25-dihidroksivitamin D3 $1,25(OH)_2D_3$ hücre büyümesi ve farklılaşmasının iyi bilinen düzenleyicilerinden biridir[121]. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, vitamin D'nin kemik ve kalsiyum metabolizmasının kontrolünün[122] yanısıra, immun cevap oluşumu, metastaz, anjiyogenez ve apoptozis gibi birçok biyolojik süreçle ilişkisi gösterilmiştir[121]. Ayrıca $1,25(OH)_2D_3$'ün, sitokrom P450 aile üyesi olan oksidatif enzimlerin ifade edilmesini de uyardığı bilinmektedir[123]. Vitamin D etkisini çekirdek reseptör gen ailesinin bir üyesi olan vitamin D reseptörü (VDR) ile etkileşerek gösterir[124]. VDR'nin etnik gruplar ve ırklar arasında farklılık gösteren çeşitli allel varyantları tanımlanmıştır[125]. Bu polimorfizmler ile farklı kanserlerin gelişimi[126-128] ve metastazı arasında ilişki gösterilmiştir[129,130]. Bu bulgulardan yola çıkarak, Türk Toplumunda, VDR geninde daha önce tanımlanmış olan 8. introndaki *BsmI*[131] ve *ApaI*[132] ve 9. ekzondaki *TaqI*[133] polimorfizmleri ile sporadik prostat kanserinin gelişimi arasındaki ilişkiyi belirlemek için yaptığımız çalışmada, *ApaI* "a" allelinin risk faktörü olabileceği bulunmuştur[134].

SONUÇ

Genetik polimorfizmler, tıpta bazı hastalıklara karşı duyarlılıkta kişisel farklılıkları

belirlememizi sağlar. Bazı gen polimorfizmleri (alleller) bir hastalık riskini arttırırken bazıları azaltabilmekte (koruyucu allel), bazı polimorfik alleller ise yalnızca çevresel bir faktörün etkisi altındayken riski etkileyebilmektedir. Örneğin, kalıtsal kanserlerde bazı genetik faktörler riski arttırırken, kalıtsal olmayan (sporadik) kanserlerde çevresel faktörler daha belirleyici olabilmektedir. Çünkü çevredeki bir risk faktörü bir ya da daha fazla genin ifade edilmesini etkileyerek, ya da bir polimorfik gen ürünü bir çevresel faktörün etkisini değiştirerek kansere neden olabilmektedir. Sonuç olarak denilebilir ki, kanser gelişiminde genlerin ve varyasyonlarının, çevresel risk faktörleriyle birlikte etkisi, tek tek göstermiş oldukları etkinin toplamından daha fazla olabilmektedir. Kanser gelişimi ya da kansere yatkınlıkla ilgili genlerin ve polimorfizmlerin bilinmesi, hiç şüphesiz pek çok kanserin erken tanısı ve tedavisinde yararlı olabilecektir.

KAYNAKLAR

1. Engelsen IB, Stefansson IM, Beroukhim R, et al. HER-2/neu expression is associated with high tumor cell proliferation and aggressive phenotype in a population based patient series of endometrial carcinomas. Int J Oncol 2008; 32 (2): 307-316.
2. Massagué J. G1 cell-cycle control and cancer. Nature 2004; 432: 298-306.
3. Caldon CE, Daly RJ, Sutherland RL, Musgrove EA. Cell cycle control in breast cancer cells. J Cell Biochem 2006; 97 (2): 261-274.
4. Malumbres M. Cyclins and related kinases in cancer cells. J BUON 2007; Suppl 1: S45-52.
5. Meeran SM, Katiyar SK. Cell cycle control as a basis for cancer chemoprevention through dietary agents. Front Biosci 2008; 13: 2191-2202.
6. Sherr CJ, Roberts JM. CDK inhibitors: positive and negative regulators of G1-phase progression. Genes Dev 1999; 13: 1501-1512.
7. Johnson DG, Walker CL. Cyclins and cell cycle checkpoints. Annu Rev Pharmacol Toxicol 1999; 39: 295-312.
8. Bélanger H, Beaulieu P, Moreau C, Labuda D, Hudson TJ, Sinnett D. Functional promoter SNPs in cell cycle checkpoint genes. Hum Mol Genet 2005; 14: 2641-2648.
9. Sancar A, Lindsey-Boltz LA, Unsal-Kacmaz K, Linn S. Molecular mechanisms of mammalian DNA repair and the DNA damage checkpoints. Annu Rev Biochem 2004; 73: 39–85.
10. Greenblatt MS, Bennett WP, Hollstein M, Harris CC. Mutations in the p53 tumor suppressor gene: clues to cancer etiology and molecular pathogenesis. Cancer Res 1994; 54 (18) :4855-4878.
11. Harper JW, Adami GR, Wei N, Keyomarsi K, Elledge SJ. The p21 Cdk-interacting protein Cip1 is a potent inhibitor of G1 cyclin-dependent kinases. Cell 1993; 75 (4): 805-816.
12. de Cárcer G, de Castro IP, Malumbres M. Targeting cell cycle kinases for cancer therapy. Curr Med Chem 2007;14 (9): 969-985.
13. Sherr CJ. The INK4a/ARF network in tumour suppression. Nat Rev Mol Cell Biol 2001; 2 (10): 731-737.
14. D'Andrilli G, Kumar C, Scambia G, Giordano A. Cell cycle genes in ovarian cancer. Clin Can Res 2004; 10: 8132-8141.
15. Zhao J, Pestell R, Guan JL. Transcriptional activation of cyclin D1 promoter by FAK contributes to cell cycle progression. Mol Biol Cell 2001; 12: 4066-4077.
16. Jiang W, Kahn SM, Tomita N, Zhang YJ, Lu SH, Weinstein IB. Amplification and expression of the human cyclin D gene in esophageal cancer. Cancer Res 1992; 52 (10): 2980-2983.
17. Schuuring E, Verhoeven E, van Tinteren H, et al. Amplification of genes within the chromosome 11q13 region is indicative of poor prognosis in patients with operable breast cancer. Cancer Res 1992; 52 (19): 5229-5234.
18. Zhou DJ, Casey G, Cline MJ. Amplification of human int-2 in breast cancers and squamous carcinomas. Oncogene 1988; 2 (3): 279-282.
19. Lammie GA, Fantl V, Smith R, et al. D11S287, a putative oncogene on chromosome 11q13, is amplified and expressed in squamous cell and mammary carcinomas and linked to BCL-1. Oncogene 1991; 6 (3): 439-444.
20. Proctor AJ, Coombs LM, Cairns JP, Knowles MA. Amplification at chromosome 11q13 in transitional cell tumours of the bladder. Oncogene 1991; 6 (5): 789-795.
21. Leach FS, Elledge SJ, Sherr CJ, et al. Amplification of cyclin genes in colorectal carcinomas. Cancer Res 1993; 53: 1986-1989.
22. Keyomarsi K, Pardee AB. Redundant cyclin overexpression and gene amplification in breast cancer cells. Proc Natl Acad Sci USA 1993; 90 (3): 1112-1116.
23. Buckley MF, Sweeney KJ, Hamilton JA, et al. Expression and amplification of cyclin genes in human breast cancer. Oncogene 1993; 8 (8): 2127-2133.
24. Keyomarsi K, Conte D Jr, Toyofuku W, Fox MP. Deregulation of cyclin E in breast cancer. Oncogene 1995; 11 (5): 941-950.
25. Risch NJ. Searching for genetic determinants in the new millennium. Nature 2000; 405: 847-856.

26. Lander ES, Linton LM, Birren B, et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. Nature 2001; 409: 860-921.

27. Carlson CS, Eberle MA, Rieder MJ, Smith JD, Kruglyak L, Nickerson DA. Additional SNPs and linkage-disequilibrium analyses are necessary for whole-genome association studies in humans. Nat Genet 2003; 33: 518-521.

28. Cariou A, Chiche JD, Charpentier J, Dhainaut JF, Mira JP. The era of genomics: Impact on sepsis clinical trial design. Crit Care Med 2002; 30 (5 Suppl): S341-348.

29. Sefton BM. Overview of protein phosphorylation. Curr Protoc Cell Biol 2001; Chapter 14: Unit14.1.

30. Meijers-Heijboer H, van den Ouweland A, Klijn J, et al. Low-penetrance susceptibility to breast cancer due to CHEK2*1100delC in noncarriers of BRCA1 or BRCA2 mutations, Nat Genet 2002; 31: 55-59.

31. Wegman P, Stal O, Askmalm MS, Nordenskjöld B, Rutqvist LE, Wingren S. p53 polymorphic variants at codon 72 and the outcome of therapy in randomized breast cancer patients. Pharmacogenet Genomics 2006; 16: 347-351.

32. Betticher DC, Thatcher N, Altermatt HJ, Hoban P, Ryder WD, Heighway J. Alternate splicing produces a novel cyclin D1 transcript. Oncogene 1995; 11: 1005-1011.

33. Izzo JG, Wu TT, Wu X, et al. Cyclin D1 guanine/adenine 870 polymorphism with altered protein expression is associated with genomic instability and aggressive clinical biology of esophageal adenocarcinoma. J Clin Oncol 2007; 25 (6): 698-707.

34. Jiang J, Wang J, Suzuki S, et al. Elevated risk of colorectal cancer associated with the AA genotype of the cyclin D1 A870G polymorphism in an Indian population. J Cancer Res Clin Oncol 2006; 132 (3): 193-199.

35. Le Marchand L, Seifried A, Lum-Jones A, Donlon T, Wilkens LR. Association of the cyclin D1 A870G polymorphism with advanced colorectal cancer. JAMA 2003; 290 (21): 2843-2848.

36. Kang S, Kim JW, Park NH, Song YS, Kang SB, Lee HP. Cyclin D1 polymorphism and the risk of endometrial cancer. Gynecol Oncol 2005; 97: 431-435.

37. Wang R, Zhang JH, Li Y, Wen DG, He M, Wei LZ. The association of cyclin D1 (A870G) polymorphism with susceptibility to esophageal and cardiac cancer in north Chinese population. Zhonghua Yi Xue Za Zhi 2003; 83 (12): 1089-1092.

38. Zhang J, Li Y, Wang R, Wen D, et al. Association of cyclin D1 (G870A) polymorphism with susceptibility to esophageal and gastric cardiac carcinoma in a northern Chinese population. Int J Cancer 2003; 105: 281-284.

39. Gautschi O, Hugli B, Ziegler A, et al. Cyclin D1 (CCND1) A870G gene polymorphism modulates smoking-induced lung cancer risk and response to platinum-based chemotherapy in non-small cell lung cancer (NSCLC) patients. Lung Cancer 2006; 51: 303-311.

40. Shu XO, Moore DB, Cai Q, et al. Association of cyclin D1 genotype with breast cancer risk and survival. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2005; 14: 91-97.

41. McKay JA, Douglas JJ, Ross VG, et al. Cyclin D1 protein expression and gene polymorphism in colorectal cancer. Aberdeen Colorectal Initiative. Int J Cancer 2000; 88 (1): 77-81.

42. Debniak T, Cybulski C, Górski B, et al. CDKN2A-positive breast cancers in young women from Poland. Breast Cancer Res Treat 2007; 103: 355-359.

43. Debniak T, Scott RJ, Huzarski T, et al. CDKN2A common variant and multi-organ cancer risk-a population-based study. Int J Cancer 2006; 118: 3180-3182.

44. Li YJ, Laurent-Puig P, Salmon RJ, Thomas G, Hamelin R. Polymorphisms and probable lack of mutation in the WAF1-CIP1 gene in colorectal cancer. Oncogene 1995; 10: 599-601.

45. Själander A, Birgander R, Rannug A, Alexandrie AK, Tornling G, Beckman G. Association between the p21 codon 31 A1 (arg) allele and lung cancer. Hum Hered 1996; 46: 221-225.

46. Chen WC, Wu HC, Hsu CD, Chen HY, Tsai FJ. p21 gene codon 31 polymorphism is associated with bladder cancer. Urol Oncol 2002; 7: 63-66.

47. Wu MT, Wu DC, Hsu HK, Kao EL, Yang CH, Lee JM. Association between p21 codon 31 polymorphism and esophageal cancer risk in a Taiwanese population. Cancer Lett 2003; 201: 175-180.

48. Mousses S, Ozcelik H, Lee PD, Malkin D, Bull SB, Andrulis IL. Two variants of the CIP1/WAF1 gene occur together and areassociated with human cancer. Hum Mol Genet 1995; 4: 1089-1092.

49. Kibel AS, Suarez BK, Belani J, et al. CDKN1A and CDKN1B polymorphisms and risk of advanced prostate carcinoma. Cancer Res 2003; 63: 2033-2036.

50. Cave H, Martin E, Devaux I, Grandchamp B. Identification of a polymorphism in the coding region of the p27Kip1 gene. Ann Genet 1995; 38 (2): 108.

51. Li G, Sturgis EM, Wang LE, et al. Association between the V109G polymorphism of the p27 gene and the risk and progression of oral squamous cell carcinoma. Clin Cancer Res 2004; 10: 3996-4002.

52. Naidu R, Har YC, Taib NA. P27 V109G Polymorphism is associated with lymph node metastases but not with increased risk of breast cancer. J Exp Clin Cancer Res 2007; 26: 133-140.

53. Healy J, Bélanger H, Beaulieu P, Larivière M, Labuda D, Sinnett D. Promoter SNPs in G1/S checkpoint regulators and their impact on the susceptibility to childhood leukemia. Blood 2007; 109: 683-692.

54. Zhu L, Skoutchi AI. Coordinating cell proliferation and differentiation. Curr Opin Genet Dev 2001; 11: 91-97.

55. Knudsen KE, Diehl JA, Haiman CA, Knudsen ES. Cyclin D1: polymorphism, aberrant splicing and cancer risk. Oncogene 2006; 25: 1620-1628.

56. Burd CJ, Petre CE, Morey LM, et al. Cyclin D1b variant influences prostate cancer growth through aberrant androgen receptor regulation. Proc Natl Acad Sci USA 2006; 103: 2190-2195.

57. Sturm RA, Duffy DL, Box NF, et al. The role of melanocortin 1-receptor polymorphism in skin cancer risk phenotypes. Pigment Cell Res 2003; 16: 266-272.

58. Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. Nature 2001; 414: 105–111.

59. Signoretti S, Loda M. Prostate stem cells: from to cancer. Semin Cancer Biol 2007; 17: 219-224.

60. Kastner P, Mark M, Chambon P. Nonsteroid nuclear receptors: what are genetic studies telling us about their role in real life? Cell 1995; 83: 859-869.

61. Chambon P. A decade of molecular biology of retinoic acid receptors, FASEB J 1996; 10: 940–954.

62. Si J, Mueller L, Collins S. CaMKII regulates retinoic acid receptor transcriptional activity and the differentiation of myeloid leukemia cells. J Clin Invest 2007; 117: 1412-1421.

63. Wang J, Yen A. A novel retinoic acid-responsive element regulates retinoic acid-induced BLR1 expression. Mol Cell Biol 2004; 24: 2423-2443.

64. Hu L, Crowe DL, Rheinwald JG, Chambon P, Gudas LJ. Abnormal expression of retinoic acid receptors and keratin 19 by human oral and epidermal squamous cell carcinoma cell lines. Cancer Res 1991; 51: 3972–3981.

65. Haugen BR, Larson LL, Pugazhenthi U, et al. Retinoic acid and retinoid X receptors are differentially expressed in thyroid cancer and thyroid carcinoma cell lines and predict response to treatment with retinoids. J Clin Endocrinol Metab 2004; 89 (1): 272-280.

66. Zhang Z, Joh K, Yatsuki H, et al. Retinoic acid receptor β2 is epigenetically silenced either by DNA methylation or repressive histone modifications at the promoter in cervical cancer cells. Cancer Lett 2007; 247 (2): 318-327.

67. Woolcott CG, Aronson KJ, Hanna WM, et al. Organochlorines and breast cancer risk by receptor status, tumor size, and grade (Canada). Cancer Cause Control 2001; 12 (5): 395-404.

68. Hoyer AP, Jorgensen T, Rank F, Grandjean P. Organochlorine exposures influence on breast cancer risk and survival according to estrogen receptor status: a Danish cohort-nested case-control study. BMC Cancer 2001; 1: 8.

69. Goode EL, Ulrich CM, Potter JD. Polymorphisms in DNA repair genes and associations with cancer risk. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2002; 11:1513-1530.

70. Imyanitov E, Hanson K, Zhivotovsky B. Polymorphic variations in apoptotic genes and cancer predisposition. Cell Death Differ 2005; 12: 1004–1007.

71. López-Cima MF, González-Arriaga P, García-Castro L, et al. Polymorphisms in XPC, XPD, XRCC1, and XRCC3 DNA repair genes and lung cancer risk in a population of Northern Spain. BMC Cancer 2007; 7: 162.

72. Bau DT, Wu HC, Chiu CF, et al. Association of XPD polymorphisms with prostate cancer in Taiwanese patients. Anticancer Res 2007; 27 (4C): 2893-2896.

73. Naccarati A, Pardini B, Hemminki K, Vodicka P. Sporadic colorectal cancer and individual susceptibility: a review of the association studies investigating the role of DNA repair genetic polymorphisms. Mutat Res 2007; 635: 118-145.

74. Sangrajrang S, Schmezer P, Burkholder I, et al. The XRCC3 Thr241Met polymorphism and breast cancer risk: a case-control study in a Thai population. Biomarkers 2007; 12: 523-532.

75. Shao J, Gu M, Xu Z, Hu Q, Qian L. Polymorphisms of the DNA gene XPD and risk of bladder cancer in a Southeastern Chinese population. Cancer Genet Cytogenet 2007; 177: 30-36.

76. Long XD, Ma Y, Huang HD, Yao JG, Qu DY, Lu YL. Polymorphism of XRCC1 and the frequency of mutation in codon 249 of the p53 gene in hepatocellular carcinoma among guangxi population, China. Mol Carcinog 2007; 47(4): 295-300.

77. Yang ZH, Liang WB, Jia J, Wei YS, Zhou B, Zhang L. The xeroderma pigmentosum group C gene polymorphisms and genetic susceptibility of nasopharyngeal carcinoma. Acta Oncol 2007; 47(3): 379-384.

78. Jara L, Acevedo ML, Blanco R, et al. RAD51 135G>C polymorphism and risk of familial breast cancer in a South American population. Cancer Genet Cytogenet 2007; 178: 65-69.

79. Gu A, Ji G, Liang J, et al. DNA repair gene XRCC1 and XPD polymorphisms and the risk of idiopathic azoospermia in a Chinese population. Int J Mol Med 2007; 20 (5): 743-747.

80. Gerl R, Vaux DL. Apoptosis in the development and treatment of cancer. Carcinogenesis 2005; 26: 263–270.

81. Zhivotovsky B, Orrenius S. Carcinogenesis and apoptosis: paradigms and paradoxes. Carcinogenesis 2006; 27: 1939-1945.

82. Kadenbach B, Arnold S, Lee I, Hüttemann M. The possible role of cytochrome c oxidase in stress-induced apoptosis and degenerative diseases. Biochim Biophys Acta 2004; 1655 (1-3): 400-408.

83. Dabrowska M, Pietruczuk M, Kostecka I, et al. The rate of apoptosis and expression of Bcl-2 and Bax in leukocytes of acute myeloblastic leukemia patients. Neoplasma 2003; 50 (5): 339-344.

84. Yang X, Sit WH, Chan DK, Wan JM. The cell death process of the anticancer agent polysaccharide-peptide (PSP) in human promyelocytic leukemic HL-60 cells. Oncol Rep 2005; 13: 1201-1210.

85. Balkwill F. Tumor necrosis factor or tumor promoting factor? Cytokine Growth Factor Rev 2002; 13: 135–141.

86. Lai HC, Sytwu HK, Sun CA, et al. Single nucleotide polymorphism at Fas promoter is associated with cervical carcinogenesis. Int J Cancer 2003; 103 (2): 221–225.

87. Sun T, Miao X, Zhang X, Tan W, Xiong P, Lin D. Polymorphisms of death pathway genes FAS and FASL in esophageal squamous-cell carcinoma. J Natl Cancer Inst 2004; 96: 1030–1036.

88. Shepelev V, Fedorov A. Advances in the Exon-Intron Database (EID). Brief Bioinform 2006; 7 (2): 178-185.

89. Brent MR. Steady progress and recent breakthroughs in the accuracy of automated genome annotation. Nat Rev Genet 2008; 9 (1): 62-73.

90. Li G, Sturgis EM, Wang LE, et al. Association of a p73 exon 2 G4C14-to-A4T14 polymorphism with risk of squamous cell carcinoma of the head and neck. Carcinogenesis 2004; 25 (10): 1911–1916.

91. Hazra A, Chamberlain RM, Grossman HB, Zhu Y, Spitz MR, Wu Xl. Death receptor 4 and bladder cancer risk. Cancer Res 2003; 63: 1157–1159.

92. Shin MS, Kim HS, Kang CS, et al. Inactivating mutations of CASP10 gene in non-Hodgkin lymphomas. Blood 2002; 99 (11): 4094–4099.

93. Park WS, Lee JH, Shin MS, et al. Inactivating mutations of the caspase-10 gene in gastric cancer. Oncogene 2002; 21 (18): 2919–2925.

94. Kim HS, Lee JW, Soung YH, et al. Inactivating mutations of caspase-8 gene in colorectal carcinomas. Gastroenterology 2003; 125 (3): 708–715.

95. Lee SH, Shin MS, Kim HS, et al. Somatic mutations of TRAIL-receptor 1 and TRAIL-receptor 2 genes in non-Hodgkin's lymphoma. Oncogene 2001; 20 (3): 399–403.

96. MacPherson G, Healey CS, Teare MD, et al. Association of a common variant of the CASP8 gene with reduced risk of breast cancer. J Natl Cancer Inst 2004; 96 (24): 1866–1869.

97. Seker H, Butkiewicz D, Bowman ED, et al. Functional significance of XPD polymorphic variants: attenuated apoptosis in human lymphoblastoid cells with the XPD 312 Asp/Asp genotype. Cancer Res 2001; 61 (20): 7430- 7434.

98. Fidler IJ. Critical determinants of metastasis. Semin Cancer Biol 2002; 12: 89−96.

99. Hunter KW. Host genetics and tumour metastasis. Br J Cancer 2004; 90: 752−755.

100. Woodhouse EC, Chuaqui RF, Liotta LA. General mechanisms of metastasis. Cancer 1997; 80 (8 Suppl): 1529-1537.

101. Ekmekci A. Gen, Genetik Değişim ve Hastalıklar, Gazi Kitabevi. Ankara, Turkiye, 1st ed., 2006; 217-245.

102. Risau W. Mechanisms of Angiogenesis. Nature 1997; 386: 671-674.

103. Watson CJ, Webb NJ, Bottomley MJ, Brenchley PE. Identification of polymorphisms within the vascular endothelial growth factor (VEGF) Gene: correlation with variation in VEGF protein production. Cytokine 2000; 12: 1232-1235.

104. Claffey KP, Robinson GS. Regulation of VEGF/ VPF expression in tumour cells: consequences for tumour growth and metastasis. Cancer Metastasis Rev 1996; 15: 165-176.

105. Koch AE, Harlow LA, Haines GK, et al. Vascular endothelial growth factor. A cytokine modulating endothelial function in reumatoid arthritis, J Immunol 1994; 152 (8): 4149-4156.

106. Miller JW, Adamis AP, Aiello LP. Vascular endothelial growth factor in ocular neovascularization and proliferative diabetic retinopathy. Diabetes Metab Rev 1997; 13; 37-50.

107. Saaristo A, Karpanen T, Alitalo K. Mechanisms of angiogenesis and their use in the ınhibition of tumor growth and metastasis. Oncogene 2000; 19: 6122-6129.

108. Davis S, Aldrich TH, Jones PF, Acheson A, Compton DL, Jain V, et al. Isolation of angiopoietin-1, a ligand for the tie2 receptor, by secretion-trap expression cloning. Cell 1996; 87 (7): 1161-1169.

109. Maisonpierre PC, Suri C, Jones PF, et al. Angiopoietin-2, a natural antagonist for Tie2 that disrupts in vivo angiogenesis. Science 1997; 277 (5322): 55-60.

110. Konac E, Onen HI, Metindir J, Alp E, Biri AA, Ekmekci A. Lack of association between -460 C/T and 936 C/T of the vascular endothelial growth factor and angiopoietin-2 exon 4 G/A polymorphisms and ovarian, cervical, and endometrial cancers. DNA Cell Biol 2007; 26: 453-463.

111. Onen IH, Konac E, Eroglu M, Guneri C, Biri H, Ekmekci A. No association between polymorphism in the vascular endothelial growth factor gene at position-460 and sporadic prostate cancer in the Turkish population. Mol Biol Rep 2008; 1: 17-22.

112. Wang GL, Semenza GL. Purification and characterization of hypoxia-inducible factor 1. J Biol Chem 1995; 270: 1230–1237.

113. Konac E, Onen HI, Metindir J, Alp E, Biri AA, Ekmekci A. An investigation of relationships between hypoxia-inducible factor-1 alpha gene polymorphisms and ovarian, cervical and endometrial cancers. Cancer Detect Prev 2007; 31: 102-109.

114. Vogelstein B, Kinzler KW. Cancer genes and the pathways they control. Nat Med 2004; 10: 789–799.

115. Hartsough MT, Steeg PS. Nm23/nucleoside diphosphate kinase in human cancers. J Bioenerg Biomembr 2000; 32 (3): 301-308.

116. Fearon ER. Human cancer syndromes: clues to the origin and nature of cancer. Science 1997; 278: 1043-1050.

117. Ghilardi G, Biondi ML, Caputo M, et al. A single nucleotide polymorphism in the matrix metalloproteinase-3 promoter enhances breast cancer

susceptibility. Clinical Cancer Res 2002; 8 (12): 3820-3823.

118. Ghilardi G, Biondi ML, Erario M, Guagnellini E, Scorza R. Colorectal carcinoma susceptibility and metastases are associated with matrix metalloproteinase-7 promoter polymorphisms. Clinic Chem 2003; 49: 1940-1942.

119. Eroglu A, Ulu A, Cam R, Akar N. Plasminogen activator inhibitor-1 gene 4G/5G polymorphism in patients with breast cancer. J BUON 2006; 11: 481-484.

120. Lei H, Hemminki K, Johansson R, Altieri A, Enquist K, Henriksson R, et al. PAI-1 -675 4G/5G polymorphism as a prognostic biomarker in breast cancer, Breast Cancer Res Treat, DOI: 10.1007/s10549-007-9635-3 July 7; 2007.

121. van den Bemd GJ, Pols HA, van Leeuwen JP. Anti-tumor effects of 1,25-dihydroxyvitamin D3 and vitamin D analogs. Curr Pharm Des 2000; 6: 717-732.

122. Haussler MR, Whitfield GK, Haussler CA. The nuclear vitamin D receptor: biological and molecular regulatory properties revealed. J Bone Miner Res 1998; 1: 325– 349.

123. Drocourt L, Ourlin JC, Pascussi JM, Maurel P, Vilarem MJ. Expression of CYP3A4, CYP2B6, and CYP2C9 is regulated by the vitamin D receptor pathway in primary human hepatocytes. J Biol Chem 2002; 277: 25125–25132.

124. Brown AJ, Dusso A, Slatopolsky E. Vitamin D. Am J Physiol Renal Physiol 1999; 277: F157–175.

125. Uitterlinden AG, Fang Y, Van Meurs JB, Pols HA, Van Leeuwen JP. Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. Gene 2004; 338: 143–156.

126. Obara W, Suzuki Y, Kato K, Tanji S, Konda R, Fujioka T. Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with increased risk and progression of renal cell carcinoma in a Japanese population. Int J Urol 2007; 14: 483-487.

127. Taylor JA, Hirvonen A, Watson M, Pittman G, Mohler JL, Bell DA. Association of prostate cancer with vitamin D receptor gene polymorphism. Cancer Res 1996; 56: 4108-4110.

128. Kadiyska T, Yakulov T, Kaneva R, Nedin D, Alexandrova A, Gegova A, et al. Vitamin D and estrogen receptor gene polymorphisms and the risk of colorectal cancer in Bulgaria. Int J Colorectal Dis 2007; 22 (4): 395-400.

129. Lundin AC, Söderkvist P, Eriksson B, Bergman-Jungeström M, Wingren S. Association of breast cancer progression with a vitamin D receptor gene polymorphism. South-East Sweden Breast Cancer Group. Cancer Res 1999; 59: 2332-2334.

130. Oakley-Girvan I, Feldman D, Eccleshall TR, Gallagher RP, Wu AH, Kolonel LN, et al. Risk of early-onset prostate cancer in relation to germ line polymorphisms of the vitamin D receptor. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2004; 13 (8): 1325-1330.

131. Morrison NA, Yeoman R, Kelly PJ, Eisman JA. Contribution of trans-acting factor alleles to normal physiological variability: vitamin D receptor gene polymorphism and circulating osteocalcin. Proc Natl Acad Sci USA 1992; 89: 6665-6669.

132. Faraco JH, Morrison NA, Baker A, Shine J, Frossard PM. ApaI dimorphism at the human vitamin D receptor gene locus. Nucleic Acids Res 1989; 17: 2150.

133. Morrison NA, Qi JC, Tokita A, Kelly PJ, Crofts L, Nguyen TV, et al. Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. Nature 1994; 367 (6460): 284-287.

134. Onen HI, Ekmekci A, Eroğlu M, Konac E, Yeşil S, Biri H: Association of genetic polymorphisms in vitamin D receptor gene and susceptibility to sporadic prostate cancer. Exp Biol Med 2008; 233 (12): *In Press*.