

# Baş-Boyun Kanserli Hastalarda Siklin D1 G870A Polimorfizminin İncelenmesi

## Analysis of Cyclin D1 G870A Polymorphism in Patients with Head and Neck Cancers

Semra DEMOKAN,<sup>a</sup>  
Dr. Yusufhan SÜOĞLU,<sup>b</sup>  
Dr. Murat ULUSAN,<sup>b</sup>  
Dr. Nejat DALAY<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Temel Onkoloji AD,  
İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü,  
<sup>b</sup>Kulak Burun Boğaz Hastalıkları AD,  
İstanbul Üniversitesi  
İstanbul Tıp Fakültesi, İstanbul

Geliş Tarihi/Received: 25.08.2010  
Kabul Tarihi/Accepted: 21.04.2011

Yazışma Adresi/Correspondence:  
Semra DEMOKAN  
İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü,  
Temel Onkoloji AD,  
İstanbul,  
TÜRKİYE/TURKEY  
demokansema@yahoo.com

**ÖZET Amaç:** Baş-boyun kanserleri (HNC) dünyada en yaygın kanserler arasında altıncı sırada yer almaktadır. Yapılan çalışmalar genetik yatkınlığın bu kansere yakalanma riski açısından önemli bir rol oynadığını göstermekte, hücre siklusunun düzenlenmesinde görev alan Siklin D1 (CCND1) genindeki bir polimorfizmin genetik yatkınlığın altında yatan neden olduğu düşünülmektedir. Literatürde HNC'de CCND1 gen polimorfizmiyle yapılmış az sayıda çalışma bulunmaktadır. Türk HNC hastalarında bu polimorfizmi inceleyen çalışma ise mevcut değildir. Çalışmamızda, CCND1 genindeki G870A polimorfizmi incelenmiş ve allel ve genotip dağılımları ile klinik parametreler arasındaki ilişki değerlendirilmiştir.

**Gereç ve Yöntemler:** Çalışma kapsamında, baş-boyun kanserli 95 hastanın periferik kan örnekleri ile sağlıklı 40 kişiye ait periferik kan örnekleri incelenmiştir. Toplanan örneklerden DNA elde edildikten sonra CCND1 genine özgü polimorfik bölge polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltılmış, sonra uygun restriksiyon enzimi kullanılarak kesilmiş ve sonuçlar video-gel dökümantasyon sistemi yardımıyla değerlendirilmiştir. Polimorfik dağılımlar, Finetti vaka-kontrol istatistik programı kullanılarak sağlıklı kişilerdeki allel frekansları ile kıyaslanmış ve  $\chi^2$  (Ki-kare) testleri ile hastaların klinik ve patolojik bulgularıyla ilişkileri araştırılmıştır. **Bulgular:** Baş-boyun kanserli hastalarla kontrol grubu arasında allel ve genotip dağılımları açısından anlamlı bir fark gözlenmezken, yassı epitel hücreli (YEH)-dışı hastalarda GA heterozigot genotipi ile kombine GA + AA genotipleri düşük hastalık riskiyle ilişkili bulunmuştur. Ayrıca YEH kanser grubunda YEH-dışı hastalara oranla A allele anlamlı derecede sık rastlanmıştır. **Sonuç:** Baş-boyun karsinogenezinde tümörün histolojisine göre CCND1 geninin değişik varyantlarının etkili olabileceği düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Çok biçimlilik, tek nükleotid; siklin D1, baş ve boyun tümörleri

**ABSTRACT Objective:** Head and neck cancer (HNC) is the sixth leading cancer among the most frequent cancers worldwide. Studies indicate that genetic predisposition plays an important role for HNC risk and a polymorphism in cyclin D1 (CCND1) gene taking part in regulation of cell cycle is considered to be the underlying cause of genetic predisposition. A few studies are available in literature on CCND1 gene polymorphism in HNC. No studies are available in literature investigating this polymorphism in Turkish HNC patients. In our study, G870A polymorphism in CCND1 gene was analysed and the relationship between allele and genotype distributions and clinical parameters was evaluated. **Material and Methods:** Peripheral blood samples of 95 HNC patients and 40 healthy controls were analysed as part of the study. CCND1 gene-specific polymorphic region was reproduced with polymerase chain reaction after DNA was obtained from the collected samples, afterwards it was cut using a proper restriction enzyme and results were assessed with video-gel documentation system. Polymorphic distributions were compared with allele frequencies of healthy individuals using Finetti case-control statistical program and relationships with clinical and pathologic findings of the patients were analysed using  $\chi^2$  (Chi-square) tests. **Results:** While a significant difference was not found between head and neck cancer patients and control group in terms of allele and genotype distributions, GA heterozygote genotype and combined GA + AA genotypes were found associated with low disease risk in patient with non-squamous cell cancer (NSCC). Additionally, A allele was detected significantly frequent in SCC group compared to NCCC patients. **Conclusion:** Different variants of CCND1 gene are considered to be effective in head and neck carcinogenesis according to tumor histology.

**Key Words:** Polymorphism, single nucleotide; cyclin D1; head and neck neoplas

doi:10.5336/medsci.2010-20799

Copyright © 2011 by Türkiye Klinikleri

Türkiye Klinikleri J Med Sci 2011;31(6):1435-41

**B**aş-boyun kanserleri dünyada en yaygın kanserler arasında altıncı sırada, gelişmekte olan ülkelerde ise ikinci sırada yer almaktadır. Sigara ve alkol kullanımı, oral kavite, farinks ve larinks karsinomlarının gelişiminde rol oynayan başlıca etyolojik faktörlerdir. Ancak, alkol ve sigara baş-boyun kanserleri (HNC) için önemli risk faktörleri olduğu halde bu etkenlere maruz kalan bireylerin hepsinde kanser oluşmadığı da bilinmektedir.<sup>1</sup> Yapılan çalışmalar genetik yatkınlığın bu kansere yakalanma riski açısından önemli bir rol oynadığını göstermiştir. HNC gelişimi karsinogen metabolizmasında, DNA onarımında, hücre döngüsünün kontrolünde ve apoptozda meydana gelen bozukluklarla ilişkilidir.<sup>2</sup> Hücre döngüsünün denetimindeki bozukluklar tümör oluşumunda önemli rol oynar.<sup>3</sup> Siklinler hücre siklusunun düzenlenmesinde rol oynayan proteinlerdir.<sup>4</sup> Kromozom 11q13'te yer alan siklin D1 (CCND1) geninin ürünü hücre siklusunun progresyonunu başlatarak Rb'yi fosforiller. CCND1'in aktivitesi G1 fazı süresince maksimum seviyede kalır ve p16, p21 ve p27 gibi tümör baskılayıcı genler tarafından inhibe edilebilir.<sup>5</sup> Meme, baş-boyun, özofagus, larinks ve akciğer gibi çeşitli kanserlerde CCND1 aktivasyonu ya da aşırı ekspresyonunun gözlenmesi CCND1'deki değişikliklerin karsinogeneze rol oynadığını düşündürmektedir.<sup>6,7</sup> Yapılan çalışmalarda HNC'de, tümörlerin %18-%58'inde CCND1 amplifikasyonu gözlenmiş,<sup>8,9</sup> genin amplifikasyonu ya da aşırı ekspresyonu, nüks, nodal metastaz ve ölümle ilişkilendirilmiştir.<sup>5</sup> CCND1 geninin dördüncü ekzonunda gözlenen G870A polimorfizmi ise genin ekzon 4'ten ekzon 5'e doğru olan kırılma bölgesini değiştirir ve böylece iki fonksiyonel mRNA transkripti kodlayan iki farklı allel oluşur.<sup>10</sup>

CCND1 geninde polimorfik A alleli tam sentezlenmemiş, eksik bir transkript üretir.<sup>10,11</sup> Bu transkriptte beşinci ekzon bulunmadığı için proteinin yıkımını düzenleyen diziler de mevcut değildir.<sup>10,12</sup> Bu durum proteinin yarılanma ömrünün uzamasına ve CCND1'in hücrede birikmesine sebep olur. Bu yüzden hücre çoğalması uyarılır ve proliferasyonu artar.<sup>10,11,13</sup> Ayrıca, A alleleline sahip olan hücrelerde ortaya çıkan DNA hasarı G1/S

kontrol noktasında bu polimorfizmi taşımayan hücrelerdeki hasara kıyasla çok daha kolaylıkla atlanabilmektedir.<sup>14</sup>

Literatürde yapılan bazı çalışmalarda A alleli kanser riskiyle ilişkilendirilirken,<sup>12-21</sup> bazı çalışmalarda ise G alleli risk kabul edilmiştir.<sup>22,23-25</sup> Bir kısım çalışmada ise hasta ve kontrol grupları arasında allel ve genotip dağılımları açısından bir fark bildirilmemiştir.<sup>3,22,26-31</sup> Türk toplumunda CCND1 geninin varyantları ile baş boyun kanseri riski arasındaki ilişkiyi araştıran çalışma bulunmamaktadır. Bu gendeki değişikliklerin tanımlanması ve kanser riski ile ilişkilerinin anlaşılması HNC'nin tanı ve takibinde yararlı olabilecektir. Bu nedenle hücrenin siklusunun kontrolünde görev alan CCND1 geninde gözlenen G870A polimorfizminin baş-boyun kanseri riskiyle ve klinik parametrelerle ilişkisini incelemeyi amaçladık.

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurulu'nun 05.06.2003 tarih ve 337 sayılı kararı ile uygun görülen ve Helsinki Deklerasyonu 2008 prensiplerine uygun olarak yapılan çalışmamızda, 2003-2004 yıllarında İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz A.B.D.'na başvuran, ameliyat öncesi çalışma hakkında bilgilendirilerek bilgilendirilmiş olurları ve çalışmaya katılım onayları alınan ve daha önce tedavi almamış primer tümörlü baş-boyun [larinks (n= 69), parotis (n= 12), oral kavite (n= 8), nazal-paranasal sinüs (n= 4), nazofarenks (n= 1), glomus (n= 1)] kanserli 95 hasta (ortalama yaş: 58.9 ± 11.3) ile sağlıklı 40 bireyden (ortalama yaş: 47.2 ± 9.1) periferik kan örnekleri toplandı. Hastaların %83'ü yassı epitel hücreli karsinomdu. Bunun dışında parotise ait altı pleomorfik adenom, iki hemanjiopitelyoma, iki adenoid kistik karsinom, iki Whartin tümörü, nazofarenkste bir lenfoma, nazal bölgeden bir adenokarsinom, bir sarkom ve boyun bölgesinden bir glomus karotikum tümörü mevcuttu. Hastalıkların %13'ü evre 1, %32'si evre 2, %36'sı evre 3 ve %19'u evre 4 hastalıktı. Hastaların %77'sinde metastaza rastlanmadı. Hastaların %84'ü ile kontrol grubunun %40'ı sigara kullanırken, %29 hasta düzenli alkol tüketicisi idi.

Örneklerden fenol/kloroform ekstraksiyonu ile DNA elde edildi. DNA örnekleri polimorfik bölgeye özgü primerler (Forward 5'-GCAGTGCA-AGGCCTGAACCT-3' ve reverse 5'-GGGACAT-CACCCTCACTTAC-3') (Integrated DNA Technologies, Iowa, USA) yardımıyla çoğaltıldı. Polimeraz zincir reaksiyonları (PCR), 50 ml hacim içinde, 1xPCR tamponu (MBI, Fermentas), 2 mM MgCl, 0.3 mM primer, 200 mM dNTPs (MBI, Fermentas), 100 ng DNA and 2 U Taq polimeraz enzimi (MBI, Fermentas, Lithuania) ile gerçekleştirildi. Touchdown PCR yöntemi uygulanarak, 94°C'de beş dakika başlangıç denatürasyonu sonrası, ilk iki döngü 94°C'de 20 saniye denatürasyon, 65°C'de 20 saniye yapışma ve 72°C'de 40 saniye uzama, sonraki iki döngü ise 94°C'de 20 saniye denatürasyon, 60°C'de 20 saniye yapışma ve 72°C'de 40 saniye uzama şeklinde gerçekleştirildi. 94°C'de 20 saniye denatürasyon, 57°C'de 20 saniye yapışma ve 72°C'de 40 saniye uzama şeklinde uygulanan 35 döngü, 72°C'de 10 dakika son uzama ile tamamlandı. PCR ürünleri, 37°C'de 5U ScrFI (MBI, Fermentas) restriksiyon enzimi ile kesildi. Kesilen ürünler 10% gliserol, 0.5 x TEB tampon ve 1:10 TEMED/10% amonyum-persulfat içeren %8'lik poliakrilamid jel üzerinde 150 Voltta üç buçuk saat süreyle ayrıldıktan sonra etidyum bromür işlemi sonrasında video jel dökümantasyon sisteminde (Vilber Lourmat, Cedex, France) UV ışık altında görüntüldü ve DNA 1000 LabChip kullanılarak Bioanalizör sisteminde (Agilent 2100, Agilent Technologies, Inc., USA) incelenerek değerlendirildi. Her hastaya ait DNA örneklerinin PCR ve restriksiyon kesim işlemleri en az iki defa tekrarlanarak doğrulandı.

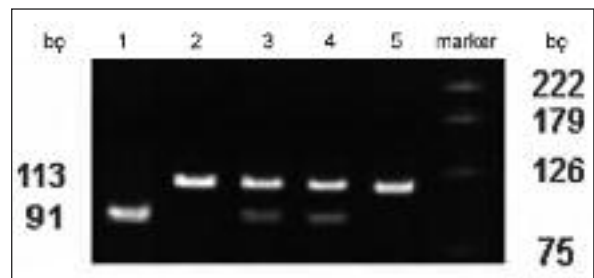
HNC hastalarında ve sağlıklı bireylerde gözlenen allel ve genotip frekansları arasındaki ilişkiler De-Finetti vaka-kontrol istatistik programı (<http://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>) ile, allel ve genotip dağılımları ve klinik parametreler arasındaki ilişki ise Ki-kare testleri (Yates, Fisher's exact) ile değerlendirildi (<http://www.unc.edu/~preacher/index.htm>). Çalışmanın güç (power) değerleri beta= 0.80 ve alfa= 0.05 idi. İstatistiksel anlamlılığın (p) değerlendirilmesinde, 0.05 sayısal değer referans olarak kullanıldı.

## BULGULAR

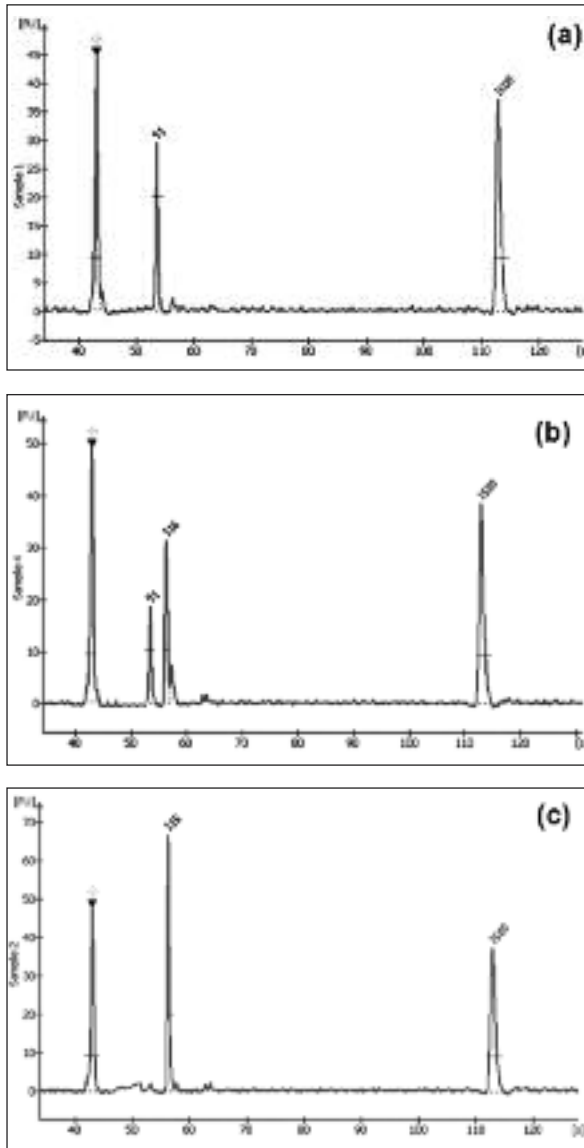
Çalışmada 95 hasta ile 40 sağlıklı bireyde CCND1 geninin dördüncü ekzonun kırılma bölgesinde bulunan G870A polimorfizmi PCR/RFLP yöntemiyle incelendi. Çoğaltılan fragmentin enzim kesimi sonuçlarını gösteren 8% poliakrilamid jel görüntüleri Şekil 1'de görülmektedir. Polimorfik değişikliği içeren bölgeden uygun primerler ile 113 bç uzunluğunda PCR ürünü elde edildi. Normal allele (G) özgü PCR ürünü ScrFI restriksiyon enzimi ile kesildiğinde 91 ve 22 bç uzunluğunda bantlar elde edilirken söz konusu polimorfizmin varlığında enzimin tanıma bölgesi kaybolduğundan varyant alleli taşıyan örneklerde ürünün kesilmediği gözlemlendi. Bu kesimlere özgü biyoanalizör görüntüleri Şekil 2 a, b ve c'de verilmiştir.

CCND1 G870A polimorfizmine ait genotiplerin dağılımı ve allel frekansları Tablo 1'de gösterilmiştir. Dağılımlar Hardy-Weinberg eşitliği ile uyumlu bulunmuştur. G870A polimorfizmi için baş-boyun kanserli hastalar ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir (GG vs GA+AA: OR(%95CI)=0.66 (0.22-1.92), p=0. 44) (Tablo 1).

Hastalar, tutulum bölgesi (Larinks, n= 69) veya histolojiye göre (YEH: yassı epitel hücreli karsinom, n =79) sınıflandırıldığında da hastalar ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farka rastlanmadı [Larinks grubunda GG vs GA+AA: OR(%95CI)= 0.75 (0.24-2.35), p= 0.62; YEH grubunda GG vs GA + AA: OR(%95CI)= 0.88 (0.28-2.74), p= 0.83].



**ŞEKİL 1:** CCND1 geninde G870A polimorfizminin agaroz jel'de analizi. 1. sıradaki örnek, homozigot normal-tip (GG), 3. ve 4. sıradaki örnekler heterozigot (GA) ve 2 ile 5. sıradaki örnekler ise homozigot varyant (AA) genotipleri göstermektedir (marker: pUCMix8; bç: baz çifti).



**ŞEKİL 2:** CCND1 geninde G870A polimorfizminin biyoanalizörde analizi. **a)** homozigot normal-tip, **b)** heterozigot ve **c)** homozigot varyant genotip 'leri temsil eden örnek elektroforegram görüntüleri.

Yassı epitel hücreli dışı kanserlerde (n= 16) G870A polimorfizmine ait genotip dağılımları ve allel frekansları Tablo 2'de gösterilmiştir. Hasta grubunda heterozigot varyant genotipe anlamlı ölçüde daha düşük oranda (%65'e karşı %31.2) rastlandığı dikkat çekmektedir (GG vs GA: OR(%95CI)= 0.16 (0.035-0.74), p= 0.013) (Tablo 2). Hasta grubunda varyant alleli taşıyan bireylerin sayısı da anlamlı ölçüde daha azdır (GG vs GA + AA: OR(%95CI)= 0.24 (0.06-0.95), p= 0.033). Bu bulgular A allelinin yassı epitel hücreli dışı kanserlerde düşük hastalık riski ile ilişkili olduğu düşüncesini desteklemektedir.

G870A polimorfizminin allel ve genotip dağılımlarının klinik parametrelerle ilişkisi araştırıldığı evre, lenf nodu tutulumu, sigara ve/veya alkol kullanımı, aile hikayesi, yaş, cinsiyet, metastaz ve tümör boyutu açısından anlamlı bir fark bulunamamış, buna karşılık yassı epitel hücreli baş-boyun kanserli hastalarda A (homozigot varyant) alleleline YEH-dışı kanserlere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek oranda rastlanmıştır (p= 0.036) (Tablo 3).

## TARTIŞMA

Hücre çoğalmasını düzenleyen mekanizmaların bozulması ve genomik bütünlüğün kaybı, neoplastik transformasyonun en iyi bilinen özelliklerindedir.<sup>15</sup> Hücre döngüsünün düzenlenmesinde rol oynayan siklin ailesinin üyesi olan CCND1 geninde gözlenen G870A polimorfizmi dördüncü ekzonun kırılma bölgesini değiştirerek varyant

**TABLO 1:** CCND1 G870A polimorfizminin baş-boyun kanserli hasta ve kontrol gruplarında dağılımı.

CCND1 (G870A)	YEH (n= 95)	Kontrol (n= 40)	OR (%95 CI)	p (χ <sup>2</sup> )
G→ A	n (%)	n (%)		
GG	17 (18)	5 (12.5)	1 (referans)	-----
GA	49 (52)	26 (65)	0.55 (0.18-1.67)	0.3 (1.12)
AA	29(30)	9 (22.5)	0.95 (0.27-3.3)	0.93 (0.01)
GA+AA	78(82)	35(87.5)	0.66 (0.22-1.92)	0.44 (0.6)
<u>Alleller</u>				
A	107 (56)	44 (55)	1.06 (0.62-1.78)	0.84 (0.04)
G	83 (44)	36 (45)	1 (referans)	-----

YEH: Yassı epitel hücreli karsinom.

**TABLO 2:** CCND1 G870A polimorfizminin YEH-dışı kanserli hasta ve kontrol gruplarında dağılımı.

CCND1 (G870A)	*YEH-dışı (n= 16) n (%)	Kontrol (n= 40) n (%)	OR (%95 CI)	p( $\chi^2$ )
<b>G→ A</b>				
GG	6 (37.5)	5 (12.5)	1 (referans)	-----
GA	5 (31.25)	26 (65)	0.16 (0.035-0.74)	0.013 (6.2)
AA	5 (31.25)	9 (22.5)	0.46 (0.092-2.32)	0.35 (0.89)
GA+AA	10 (62.5)	35 (87.5)	0.24 (0.06-0.95)	0.33 (4.53)
<b>Allerler</b>				
A	15 (47)	44 (55)	0.72 (0.32-1.64)	0.43 (0.61)
G	17 (53)	36 (45)	1 (referans)	-----

\*YEH-dışı (Diğer): yassı epitel hücreli karsinom dışı kanserler [parotis (n= 12), nazal (n= 2), nazofarenks (n= 1), glomus (n= 1)]

**TABLO 3:** Baş-boyun kanserli hastaların (n= 95) genotip frekanslarının demografik parametrelerine göre dağılımı.

Klinik Parametreler	GG n(%)	GA + AA n(%)	GG vs GA + AA p
<b>Sigara</b>			
(+)		13 (16)	66 (84)
(-)		4 (25)	12 (75)
<b>Alkol</b>			
(+)		5 (18)	23 (82)
(-)		12 (15)	66 (85)
<b>Lenf nodu tutulumu</b>			
(+)		5 (33)	10 (67)
(-)		12 (15)	68 (85)
<b>Klinik evre</b>			
I + II		7 (16)	36 (84)
III + IV		10 (19)	42 (81)
<b>Tümör boyutu</b>			
≤ 2 cm.		7 (15)	40 (85)
> 2 cm.		10 (21)	38 (79)
<b>Histopatoloji</b>			
YEH		11 (14)	68 (86)
YEH-dışı		6 (37.5)	10 (62.5)
<b>Aile hikayesi</b>			
(+)		6 (19)	26 (81)
(-)		11 (18)	51 (82)
<b>Yaş</b>			
≤ 50		5 (26)	14 (74)
> 50		12 (16)	64 (84)
<b>Cinsiyet</b>			
Kadın		3 (25)	9 (75)
Erkek		14 (17)	69 (83)

allel ürününün yarı ömrünü uzatmakta ve kanser oluşumu için zemin hazırlamaktadır.<sup>3,10,11,13</sup> Bu değişiklikler çeşitli kanser türleri ile ilişkili bulunmuştur.<sup>12-34</sup>

CCND1 geninin bu polimorfizmi ile ilgili olarak henüz hangi allelin kanser riskini etkilediği konusunda bir fikir birliğine varılmamıştır. Literatürdeki çalışmaların bir bölümü A,

bir kısmı da G allelini risk alleli kabul etmektedir.<sup>22-25</sup>

Çalışmamızda CCND1 G870A polimorfizmi incelendiğinde, baş-boyun kanserli hastalar ile kontrol grubu arasında risk alleli olarak kabul edilen A allelinin dağılımı açısından önemli bir fark gözlenmemiştir. Hasta ve kontrol grupları arasında genotip ve allel dağılımları açısından fark bulunmaması mide kanseri,<sup>26</sup> hepatosellüler kanser,<sup>22</sup> üst solunum ve sindirim sisteminin yassı epitel hücreli kanserleri,<sup>27</sup> hipofiz adenomu,<sup>15</sup> özofagus,<sup>28</sup> meme,<sup>29</sup> kolon<sup>3,29</sup> ve serviks<sup>30</sup> kanserinde elde edilen sonuçlar ile uyumludur. Buna karşılık baş-boyun kanserinde homozigot varyant genotipe sahip bireylerde riskin arttığını<sup>12</sup> ve değişmediğini<sup>31</sup> bildiren çalışmalar vardır. Diğer yandan kolorektal<sup>32</sup> ve HNPCC<sup>14</sup> hastalarını kapsayan iki çalışma da yüksek hastalık riski ile homozigot varyant genotip (AA) arasında, üst aerodigestive sistemin yassı epitel hücreli kanserleri,<sup>16</sup> kolorektal kanser,<sup>177</sup> sporadik kolorektal adenom<sup>13</sup> ve nazofarenks kanserli<sup>18</sup> hastalarda A alleli, mesane<sup>19</sup> ve hepatosellüler kanser<sup>20</sup> olgularında ise hem A alleli, hem de AA genotipi arasında anlamlı ilişki bulunmuştur. Mesane<sup>33</sup> ve özofagus kanserli<sup>34</sup> hastalarda kombine GA+AA genotipi artmış hastalık riskiyle ilişkili bulunurken, larinks<sup>21</sup> kanserinde hem GA genotipi, hem de kombine GA + AA genotipi artmış hastalık riskiyle ilişkilendirilmiştir.

Çalışmamızda yassı epitel hücreli dışı kanserlerde hasta ve kontrol grubunda allel dağılımları açısından bir farklılık görülmezken, GA genotipi ve kombine GA + AA genotipleri düşük hastalık riskiyle ilişkili bulunmuş ve GG genotipi risk alleli olarak ortaya çıkmıştır. Literatürde nazofarenks kanserinde G allelini risk ile ilişkilendiren, oral squamöz hücreli kanserlerde ise hem G allelini, hem de GG genotipini yüksek hastalık riski ile ilişkilendiren çalışmalar mevcuttur.<sup>23,24</sup>

Bizim çalışmamızda genel hasta grubunda polimorfizmin klinik bulgularla ilişkisi araştırıldığında sadece tümörün histopatolojisi arasında ilişkiye rastlanmış ve YEH-dışı kanserlere kıyasla, baş-boyunun yassı epitel hücreli olgularında var-

yant A alleleline anlamlı biçimde sık rastlanmıştır. Literatürde sigara kullananlarda nazofarinks<sup>18</sup> ve özofagus kanserinde,<sup>34</sup> sigara kullanmayanlar da ise mesane<sup>19</sup> ve baş-boyun kanserinde<sup>12</sup> A alleli ile hastalık riski arasında ilişki bildirilmektedir. Ayrıca üst aerodigestive sistemin alkol kullanmayan yassı epitel kanserli hastalarında<sup>27</sup> da A alleli risk faktörü olarak bildirilmiş ve 50 yaş altı veya kadın baş-boyun kanserli hastalarda aynı allele bağlı olarak üç kat artmış hastalık riski gözlenmiştir.<sup>12</sup> A allelinin mesane<sup>33</sup> ve serviks<sup>30</sup> kanserinde etnik köken (Asyalılarda daha sık) ve risk ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Larinks<sup>21</sup> kanserli hastalarda ise AA genotipi ile lenf nodu metastazı arasında anlamlı ilişkiye rastlanmıştır. Buna karşılık, GG genotipini kısa hastalıklı sağkalım ve genel düşük sağkalımla ilişkilendiren larinks<sup>25</sup> ve indifferansiye tümör ile düşük hastalıklı sağkalımı ilişkilendiren yassı epitel hücreli baş-boyun<sup>31</sup> kanser çalışmaları da mevcuttur. Benzer şekilde indifferansiye hepatosellüler kanserlerde G allelinin sıklıkla gözlemlendiği bildirilmiştir.<sup>22</sup>

## SONUÇ

Baş-boyun karsinogenezinde tümörün histolojisine göre CCND1 geninin değişik varyantlarının etkili olabileceği düşünülmektedir. Farklı etnik gruplarla yapılan polimorfizm çalışmalarından elde edilen çelişkili sonuçlar, değişik populasyonlarda farklı karsinojenlerin etkisi, genetik faktörler, seçici biçimde örnek toplanması, varyant genotiplerin DNA onarım fonksiyonlarıyla ilişkili bilgi eksikliği ve düşük denek sayısı gibi faktörlerden kaynaklanabilmektedir. Bu sebeple çok daha geniş hasta gruplarında hastalara ait detaylı klinik ve epidemiyolojik verilerin birikmesi ve bunların hücre siklusunda rol oynayan diğer genlerdeki değişikliklerle birlikte değerlendirilmesi gerekmektedir.

## Teşekkür

*Bu çalışma İstanbul Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) tarafından desteklenmiştir (T-149/06032003). Prof. Dr. Thomas F. Wienker'e De-Finetti vaka-kontrol istatistik programı için teşekkür ederiz.*

## KAYNAKLAR

1. Landis SH, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics, 1998. *CA Cancer J Clin* 1998;48(1):6-29.
2. Scully C, Field JK, Tanzawa H. Genetic aberrations in oral or head and neck squamous cell carcinoma (SCCHN): 1. carcinogen metabolism, DNA repair and cell cycle control. *Oral Oncol* 2000;36(3):256-63.
3. McKay JA, Douglas JJ, Ross VG, Curran S, Murray GI, Cassidy J, et al. Cyclin D1 protein expression and gene polymorphism in colorectal cancer. *Int J Cancer* 2000;88(1):77-81.
4. Sherr CJ. D-type cyclins. *Trends Biochem Sci* 1995;20(5):187-90.
5. Gleich LL, Salamone FN. Molecular genetics of head and neck cancer. *Cancer Control* 2002;9(5):369-78.
6. Nakahara Y, Shintani S, Mihara M, Kiyota A, Ueyama Y, Matsumura T. Alterations of Rb, p16(INK4A) and Cyclin D1 in the tumorigenesis of oral squamous cell carcinomas. *Cancer Lett* 2000;160(1):3-8.
7. Toyoda H, Nakamura T, Shinoda M, Suzuki T, Hatooka S, Kobayashi S, et al. Cyclin D1 expression is useful as a prognostic indicator for advanced esophageal carcinomas, but not for superficial tumors. *Dig Dis Sci* 2000;45(5):864-9.
8. Okami K, Reed AL, Cairns P, Koch WM, Westra WH, Wehage S, et al. Cyclin D1 amplification is independent of p16 inactivation in head and neck squamous cell carcinoma. *Oncogene* 1999;18(23):3541-5.
9. Muller D, Millon R, Velten M, Bronner G, Jung G, Engelmann A, et al. Amplification of 11q13 DNA markers in head and neck squamous cell carcinomas: correlation with clinical outcome. *Eur J Cancer* 1997;33(13):2203-10.
10. Betticher DC, Thatcher N, Altermatt HJ, Hoban P, Ryder WD, Heighway J. Alternate splicing produces a novel Cyclin D1 transcript. *Oncogene* 1995;11(5):1005-11.
11. Sawa H, Ohshima TA, Ukita H, Murakami H, Chiba Y, Kamada H, et al. Alternatively spliced forms of Cyclin D1 modulate entry into the cell cycle in an inverse manner. *Oncogene* 1998;16(13):1701-12.
12. Zheng Y, Shen H, Sturgis EM, Wang LE, Eicher SA, Strom SS, et al. Cyclin D1 polymorphism and risk for squamous cell carcinoma of the head and neck: a case control study. *Carcinogenesis* 2001;22(8):1195-9.
13. Lewis RC, Bostick RM, Xie D, Deng Z, Wangovich MJ, Fina MF, et al. Polymorphisms of the Cyclin D1 gene, CCND1, and risk for incident sporadic colorectal adenomas. *Cancer Res* 2003;63(23):8549-53.
14. Kong S, Amos CI, Luthra R, Lynch PM, Levin B, Frazier ML. Effects of Cyclin D1 polymorphism on age onset of hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Cancer Res* 2000;60(2):249-52.
15. Simpson DJ, Fryer AA, Grossman AB, Wass JAH, Pfeifer M, Kros JM, et al. Cyclin D1 (CCND1) genotype is associated with tumour grade in sporadic pituitary adenomas. *Carcinogenesis* 2001;22(11):1801-7.
16. Izzo JG, Papadimitrakopoulou VA, Liu DD, den Hollander PL, Babenko IM, Keck J, et al. Cyclin D1 genotype, response to biochemical prevention, and progression rate to upper aerodigestive tract cancer. *J Natl Cancer Inst* 2003;95(3):198-205.
17. Porter TR, Richards FM, Houlston RS, Evans DG, Jankowski JA, Macdonald F, et al. Contribution of cyclin d1 (CCND1) and E-cadherin (CDH1) polymorphisms to familial and sporadic colorectal cancer. *Oncogene* 2002;21(12):1928-33.
18. Sui J, Gao W, Li XJ, Ma J, Ren YX, Song X, et al. Cyclin D1 gene G870A polymorphism and susceptibility to nasopharyngeal carcinoma. *Zhonghua Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi* 2009;44(3):227-31.
19. Wang L, Habuchi T, Takahashi T, Mitsumori K, Kamoto T, Kakehi Y, et al. Cyclin D1 gene polymorphism is associated with an increased risk of urinary bladder cancer. *Carcinogenesis* 2002;23(2):257-64.
20. Akkiz H, Bayram S, Bekar A, Akgöllü E, Ozdil B. Cyclin D1 G870A polymorphism is associated with an increased risk of hepatocellular carcinoma in the Turkish population: case-control study. *Cancer Epidemiol* 2010;34(3):298-302.
21. Rydzanicz M, Golusinski P, Mielcarek-Kuchta D, Golusinski W, Szyfter K. Cyclin D1 gene (CCND1) polymorphism and the risk of squamous cell carcinoma of the larynx. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2006;263(1):43-8.
22. Zhang YJ, Chen SY, Chen CJ, Santella RM. Polymorphisms in Cyclin D1 gene and hepatocellular carcinoma. *Mol Carcinog* 2002;33(2):125-9.
23. Catarino RJ, Breda E, Coelho V, Pinto D, Sousa H, Lopes C, et al. Association of the A870G cyclin D1 gene polymorphism with genetic susceptibility to nasopharyngeal carcinoma. *Head Neck* 2006;28(7):603-8.
24. Holley SL, Matthias C, Jahnke V, Fryer AA, Strange RC, Hoban PR. Association of cyclin D1 polymorphism with increased susceptibility to oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 2005;41(2):156-60.
25. Monteiro E, Varzim G, Pires AM, Teixeira M, Lopes C. Cyclin D1 A870G polymorphism and amplification in laryngeal squamous cell carcinoma: implications of tumor localization and tobacco exposure. *Cancer Detect Prev* 2004;28(4):237-43.
26. Tahara T, Arisawa T, Shibata T, Yamashita H, Hirata I. Association between cyclin D1 (CCND1) polymorphism and gastric cancer risk in Japanese population. *Hepatogastroenterology* 2009;56(93):1232-5.
27. Nishimoto IN, Pinheiro NA, Rogatto SR, Carvalho AL, Simpson AJ, Caballero OL, et al. Cyclin D1 gene polymorphism as a risk factor for squamous cell carcinoma of the upper aerodigestive system in non-alcoholics. *Oral Oncol* 2004;40(6):604-10.
28. Yu C, Lu W, Tan W, Xing D, Liang G, Miao X, et al. Lack of association between CCND1 G870A polymorphism and risk of esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003;12(2):176.
29. Grieu F, Malaney S, Ward R, Joseph D, Iacopetta B. Lack of association between CCND1 G870A polymorphism and the risk of breast and colorectal cancers. *Anticancer Res* 2003;23(5b):4257-9.
30. Ni J, Wang M, Wang M, Fu S, Zhou D, Zhang Z, et al. CCND1 G870A polymorphism and cervical cancer risk: a case-control study and meta-analysis. *J Cancer Res Clin Oncol* 2011;137(3):489-94.
31. Matthias C, Branigan K, Jahnke V, Leder K, Haas J, Heighway J, et al. Polymorphism within the cyclin D1 gene is associated with prognosis in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck. *Clin Cancer Res* 1998;4(10):2411-8.
32. Kong S, Wei Q, Amos CI, Lynch PM, Levin B, Zong J, et al. Cyclin D1 polymorphism and increased risk of colorectal cancer at young age. *J Natl Cancer Inst* 2001;93(14):1106-8.
33. Yuan L, Gu X, Shao J, Wang M, Wang M, Zhu Q, et al. Cyclin D1 G870A polymorphism is associated with risk and clinicopathologic characteristics of bladder cancer. *DNA Cell Biol* 2010;29(10):611-7.
34. Zhang J, Li Y, Wang R, Wen D, Sarbia M, Kuang G, 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(2):281-4.