

~~1718~~

T1751

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
MERKEZ KÜTÜPHANESİ

+

**İNSAN MEME KARSİNOMALARI VE JİNEKOLOJİK TÜMÖRLERİNDE
IRF-1, IRF-2 (INTERFERON REGULATORY
FACTOR 1,2) VE p53 EKSPRESYONLARININ KARŞILAŞTIRILMASI**

Nilüfer GÜLMEN İMİR

DOKTORA TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**Bu tez 99.02.0121.09 proje numarası ile, Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Arastırma
Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.**

Aralık, 2003

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İNSAN MEME KARSİNOMALARI VE JİNEKOLOJİK TÜMÖRLERİNDE
IRF-1, IRF-2 (INTERFERON REGULATORY
FACTOR 1,2) VE p53 EKSPRESYONLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

Nilüfer GÜLMEN İMİR

DOKTORA TEZİ

BIYOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu tez .../.../ 2003 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Oybirliği/Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Kayahan FIŞKIN (Danışman)

Prof. Dr. Mustafa AKAYDIN

Prof. Dr. Atila YANIKOĞLU

Prof. Dr. Zafer EREN

Prof. Dr. Tümer VURAL

ÖNSÖZ

İnsan meme tümörleri ve jinekolojik tümörler özellikle 30 yaş ve üstü kadınlarda sıklıkla rastlanan tümörler olması nedeniyle oldukça önemlidir.

Tümörojenesinde rol oynadığı söylenen mekanizmalar arasında apoptosisi düzenleyen mekanizmalarda meydana gelen defektler ve hücre siklusunun kontrolünün kaybı nedeniyle hücrenin kontrolsüz proliferasyonu sayılabilir. Apoptosisin ve hücre siklusunun kontrolünde önemli role sahip faktörlerden ikisi de tümör baskılayıcı genlerden olan p53 ve IRF-1'dir. IRF-2 ise onkogenik potansiyele sahip ve IRF-1'in antagonistliği olan bir transkripsiyon faktörüdür. Bu faktörlerin ekspresyonlarının insan kanserleri açısından önemi düşünüldüğünde bu çalışmamızın onkoloji ve patoloji bilim dallarına ileriki çalışmalarda ışık tutacağını ummaktayız.

Bu konuda bana çalışma olanağı veren ve beni yönlendiren danışmanım Sayın Prof. Dr. Kayahan FIŞKIN'a teşekkür ederim.

İmmünohistokimyasal boyama çalışmalarımın sonuçlarını değerlendiren Patoloji Anabilim Dalından Sayın Prof.Dr. Şeyda KARAVELİ'ye ve Doç.Dr. Elif PEŞTERELİ'ye, immünopatoloji laboratuvar teknisyeni Biyolog Nuran KELEŞ'e, istatistiksel analizleri yapan Sayın Prof. Dr. Osman SAKA beye tüm yardım ve destekleri için teşekkür ederim.

Antikorların sağlanmasında yardımlarını gördüğüm değerli hocam Osman Nidai ÖZEŞ'e teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Ayrıca çalışmalarım boyunca her zaman manevi desteklerini benden esirgemeyen arkadaşlarım Ayşegül NASIRCILAR'a, Esra ARSLAN'a, Ece ŞİMŞEK'e, Serap KOCAOĞLU'NA ve Elif ODABAŞ KÖSE'ye teşekkürlerimi sunarım.

Desteklerini benden hiçbir zaman eksik etmeyen ve her zaman yanımda hissettiğim sevgili aileme, eşime ve biricik oğluma teşekkür ederim.

ÖZET

İNSAN MEME KARSİNOMALARI VE JİNEKOLOJİK TÜMÖRLERİNDE IRF-1, IRF-2 (INTERFERON REGULATORY FACTOR-1,2) VE p53 EKSPRESYONLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

Nilüfer Gülmen İMİR

Doktora Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Kayahan FIŞKIN

Aralık 2003, 64 Sayfa

Bu çalışmada, 45'i meme kanserli ve 23'i jinekolojik tümörlü hastalardan alınan toplam 68 doku örneği kullanılmıştır. Bu örnekler IRF-1, IRF-2 ve p53 antikolarıyla immünohistokimyasal yöntemle boyanmıştır.

IRF-1 ve p53 tümör baskılayıcı, IRF-2 ise onkogenik aktiviteye sahiptir. Bu araştırmamızda, çalışmada kullanılan meme ve jinekolojik tümör tiplerinde (n=54) IRF-1 ve IRF-2 ekspresyonları arasındaki ilişki istatistiksel olarak oldukça anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Yine her iki tümör grubunda (n=54) IRF-1 ve p53 ekspresyonları arasında istatistiksel olarak önemli derecede bir ilişki bulunmuştur ($p<0.05$). Fakat bu tümör tiplerinde (n=54) için IRF-2 ve p53 ekspresyonları arasında istatistiksel olarak

anlamli bir iliŒki bulunmamıŒtır ($p>0.05$). Aynı karŒılaŒtırmalar meme ve jinekolojik tümör grupları için ayrı ayrı da yapılmıŒtır. Meme tümörlerinde ($n=37$) ve jinekolojik tümörlerde ($n=17$) IRF-1 ve IRF-2 ekspresyonları arasında istatistiksel olarak önemli derecede bir korelasyon bulunmuŒtur ($p<0.05$). Daha sonra meme karsinomlarının  farklı tipinde IRF-1, IRF-2 ve p53 arasında iliŒki olup olmadığını belirlemek için yapılan istatistiksel testte invaziv duktal karsinomlarda ($n=24$) IRF-1 ve IRF-2 arasında anlamli bir korelasyon olduğu ($p<0.05$), IRF1 ile p53 ekspresyonları veya IRF-2 ile p53 ekspresyonları arasında ise istatistiksel olarak anlamli bir iliŒki olmadığı ($p>0.05$) bulunmuŒtur. Meme karsinomlarının diğer iki tipi olan intraduktal komponenti baskın invaziv duktal karsinomlarda ($n=9$) ve invaziv lobüler karsinomlarda ($n=5$) ise her  proteinin ekspresyonları arasında istatistiksel açıdan anlamli bir iliŒki bulunmamıŒtır ($p>0.05$). Aynı karŒılaŒtırmalar bu kez jinekolojik tümör tiplerinde yapılmıŒ ve deėiŒik sonuçlar elde edilmiŒtir. Jinekolojik tümörlerden endometrium tümörlerinde ($n=9$) ve over tümörlerinde ($n=3$) her  proteinin ekspresyonları arasında istatistiksel olarak önemli bir iliŒki bulunmazken ($p>0.05$), serviks tümörlerinde ($n=5$) IRF-1 ve p53 ekspresyonları arasında istatistiksel olarak anlamli bir korelasyon bulunmuŒtur ($p<0.05$).

Bu alıŒmada, ayrıca, IRF-1 ve IRF-2 ekspresyonlarının, hastanın yaŒı ve tümörün çapı parametreleriyle de istatistiksel olarak karŒılaŒtırılması yapılmıŒtır, ancak her iki proteinin de bu faktörlerle arasında istatistiksel olarak önemli derecede iliŒki olmadığı bulunmuŒtur ($p>0.05$).

Bu alıŒmanın diğer kısmındaki amaç, hem IRF-1 hem de p53 bakımından pozitif olgulardaki apoptosis indüksiyonu ile IRF-1 negatif / p53 pozitif veya IRF-1 pozitif / p53 negatif olgulardaki apoptosis indüksiyonu arasında bir deėiŒiklik olup olmadığının belirlenebilmesiydi. Ancak yukarıda bahsedilen olgularda gözlenen DNA fragmentasyonunun birbirine benzer düzeylerde olması bu tümör tiplerinde farklı genlerin de iŒe karıŒmıŒ olabileceğini dŒndrmektedir

ANAHTAR KELİMELEER: p53, IRF-1, IRF-2, immünohistokimya, apoptosis

Jüri: Prof. Dr. Kayahan FIŞKIN (Danışman)
Prof. Dr. Atila YANIKOĞLU
Prof. Dr. Tümer VURAL
Prof. Dr. Mustafa AKAYDIN
Prof. Dr. Zafer EREN

ABSTRACT

CORRELATIONS OF IRF-1, IRF-2 (INTERFERON REGULATORY FACTOR-1,2) AND p53 ON HUMAN BREAST CARCINOMAS AND GYNAECOLOGIC TUMORS

Nilüfer Gülmen İMİR

Ph.D. Student, Biology

Adviser: Prof. Dr. Kayahan FIŞKIN

Dec 2003, 64 pages

In this study, totally 54 human tissue specimens were obtained from 37 patients with breast carcinomas and 17 women with gynaecologic tumors. These specimens were stained with IRF-1, IRF-2 and p53 antibodies using the immunohistochemical method.

While both IRF-1 and p53 have tumor suppressor activity, IRF-2 transcription factor has oncogenic activity. In this investigation, in all types of human tumors (n=54) used in this study, correlation between expressions of IRF-1 and IRF-2 was found to be significant statistically ($p < 0.05$). Also, in all types of human tumors (n=54) used in this study, there were statistical significant correlation between IRF-1 and p53 expressions ($p < 0.05$), but there were not statistical differences between expressions of IRF-2 and p53 ($p > 0.05$). In human breast carcinomas (n=37) and gynaecologic tumors (n=17), independently, correlation between expressions of IRF-1 and IRF-2 was found to be

important statistically ($p < 0.05$). In the invasive ductal carcinomas, a kind of human breast carcinomas, there were no statistical differences between expressions of either IRF-1 and p53 or IRF-2 and p53 ($p > 0.05$), while the correlation between IRF-1 and IRF-2 expressions was found to be important statistically ($p < 0.05$). In the other two types of human breast carcinomas, there were no statistical differences between expressions of p53 and the IRF-1 and IRF-2 ($p > 0.05$). In the cervix tumors, a kind of gynaecologic tumors, the correlation between expressions of IRF-1 and p53 was found to be very important statistically ($p < 0.05$), while in the other two types of gynaecologic tumors there were no statistical differences between expressions of p53 and the IRF-1 and IRF-2 ($p > 0.05$)

In this study, expressions of IRF-1 and IRF-2 were also compared with prognostic factors, such as age of patient and tumor diameter, but the correlation between expressions of two proteins and these prognostic factors was not found to be important statistically ($p > 0.05$)

The other aim of this study is to determine whether the apoptosis induction in IRF-1-negative / p53-positive or IRF-1-positive / p53-negative cases is different from the apoptosis induction in both IRF-1 and p53 positive cases. But the observed DNA fragmentation of these tumor cases is approximately similar, and therefore we concluded that there can be different genes playing roles in these types of tumors.

KEY WORDS: p53, IRF-1, IRF-2, immunohistochemistry, apoptosis

COMMITTEE: Prof. Dr. Kayahan FIŞKIN (Adviser)

Prof. Dr. Atila YANIKOĞLU

Prof. Dr. Tümer VURAL

Prof. Dr. Mustafa AKAYDIN

Prof. Dr. Zafer EREN

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. İnterferonlar ve Genel Özellikleri.....	1
1.2. IRF-1 ve IRF-2'nin Kromozomal Lokasyonları.....	2
1.3. IRF-1 ve IRF-2'nin Fosforilasyonu.....	3
1.4. IRF-1 ve IRF-2 Genlerinin Fonksiyonları.....	5
1.5. Tümör Baskılayıcı Olarak IRF-1.....	10
1.6. IRF-1 ve IRF-2 Genlerinde Mutasyonlar, İnaktivasyonlar ve Sonuçları.....	12
1.7. IRF-1, IRF-2 ve p53 İlişkisi.....	13
2. MATERYAL ve METOT.....	18
2.1. Materyal.....	18
2.2. Metot.....	18
2.2.1. İmmünohistokimyasal boyama için kullanılan yöntem.....	18
2.2.1.1. İmmünohistokimyasal boyamaların değerlendirilmesi.....	19
2.2.2. Apoptosis indüksiyonunun belirlenmesi için DNA izolasyon yöntemi.....	21
2.2.3. İstatistik.....	22
3. BULGULAR.....	23
3.1. İmmünohistokimyasal Çalışma Bulguları.....	23
3.1.1. Klinikopatolojik bulgular.....	23
3.1.2. Olgulara göre yaş dağılımı.....	25
3.1.3. İmmünohistokimyasal bulgular.....	25
3.2. Apoptosis İndüksiyonuna İlişkin Bulgular.....	40
4. TARTIŞMA.....	42

5. SONUÇ	49
6. KAYNAKLAR	51
ÖZGEÇMİŞ	64

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
μm	Mikrometre
nm	Nanometre
ml	Mililitre
μg	Mikrogram
$^{\circ}\text{C}$	Derece santigrat
kDa	Kilodalton
rpm	Revolution per minute (Dakikadaki devir sayısı)

Kısaltmalar

IFN	İnterferon
LPS	Lipopolisakkarit
NK	Natural Killer (Doğal öldürücü)
IRF	İnterferon Regulatory Factor
ICSBP	İnterferon Consensus Sequence Binding Protein
KSHV	Kaposi's Sarcoma-associated Herpes Virus
DNA	Deoksiribonukleik asit
cDNA	Komplementer deoksiribonukleik asit
CK II	Kazein kinaz II
Ser	Serin
Thr	Treonin
cAMP	Siklik adenozinmonofosfat
CDK	Cyclin-dependent kinase (Siklin bağımlı kinaz)
UV	Ultraviyole
PBS	Fosfat-buffered salin
BSA	Bovine Serum Albumin
DAB	Diaminobenzidin tetrahidroklorid
TE	Tris-EDTA
TAE	Tris-Asetikasit-EDTA
Ca	Karsinoma
SLPI	Secretory Leucocyte Protease Inhibitor
MEF	Mouse (Fare) Embriyonik Fibroblast
UV	Ultra viole

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. IRF-1 antikoruyla sitoplazmik boyanan doku örneği (X 400).....	19
Şekil.2.2. IRF-2 antikoruyla sitoplazmik boyanan doku örneği (X 400).....	20
Şekil.2.3. p53 antikoruyla nüklear boyanan doku örneği (X 400).....	20
Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan olgu tiplerinin dağılımı.....	23
Şekil 3.2. Çalışmada kullanılan meme karsinoma olgularının alt tiplerine göre dağılımı.....	24
Şekil 3.3. Çalışmada kullanılan jinekolojik tümör gruplarının dağılımı.....	24
Şekil 3.4. Hem IRF-1 hem de IRF-1 bakımından pozitif 5 olgudaki apoptosis indüksiyonu.....	41
Şekil 3.5. IRF-1 negatif / p53 pozitif (ilk 3), IRF-1 pozitif / p53 negatif (son 3) olgudaki apoptosis indüksiyonu.....	41

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. İnterferon tipleri ve özellikleri.....	1
Çizelge 3.1. Meme karsinomlarında p53, IRF-1 ve IRF-2 bakımından pozitif ve negatif olgular.....	25
Çizelge 3.2. Meme karsinomlarının alt tiplerinde p53, IRF-1 ve IRF-2 bakımından Pozitif ve negatif olgular.....	26
Çizelge 3.3. Meme karsinomlarının alt tiplerinde p53, IRF-1 ve IRF-2 ile pozitif boyanan ve her üçüyle de negatif boyanan olgular.....	27
Çizelge 3.4. Jinekolojik tümörlerin alt gruplarında p53, IRF-1 ve IRF-2 ile pozitif boyanan ve her üçüyle de negatif boyanan olgular.....	28
Çizelge 3.5. İnvaziv duktal meme karsinomlarında p53, IRF-1 ve IRF-2 boyanma özellikleri.....	29
Çizelge 3.6. İntraduktal komponenti baskın invaziv duktal karsinomlarda p53, IRF-1 ve IRF-2 boyanma özellikleri.....	30
Çizelge 3.7. İnvaziv lobüler karsinomlarda p53, IRF-1 ve IRF-2 boyanma özellikleri.....	30
Çizelge 3.8. Jinekolojik tümörlerde p53, IRF-1 ve IRF-2 bakımından pozitif ve negatif olgular.....	31
Çizelge 3.9. Endometrium tümörlerinde p53, IRF-1 ve IRF-2 boyanma özellikleri.....	32
Çizelge 3.10. Serviks tümörlerinde p53, IRF-1 ve IRF-2 boyanma özellikleri.....	32
Çizelge 3.11. Over tümörlerinde p53, IRF-1 ve IRF-2 boyanma özellikleri.....	32
Çizelge 3.12. Tüm meme karsinomlarında p53, IRF-1 ve IRF-2 boyanma şiddeti.....	34
Çizelge 3.13. İnvaziv duktal karsinomlarda p53, IRF-1 ve IRF-2 boyanma şiddeti.....	35
Çizelge 3.14. İntraduktal komponenti baskın invaziv duktal karsinomlarda p53, IRF-1 ve IRF-2 boyanma şiddeti.....	35
Çizelge 3.15. İnvaziv lobüler karsinomlarda p53, IRF-1 ve IRF-2 boyanma şiddeti.....	36
Çizelge 3.16. Tüm jinekolojik tümörlerde p53, IRF-1 ve IRF-2 boyanma şiddeti.....	37
Çizelge 3.17. Endometrium tümörlerinde p53, IRF-1 ve IRF-2 boyanma şiddeti.....	37
Çizelge 3.18. Serviks tümörlerinde p53, IRF-1 ve IRF-2 boyanma şiddeti.....	38
Çizelge 3.19. Over tümörlerinde p53, IRF-1 ve IRF-2 boyanma şiddeti.....	38

Çizelge 3.20. Meme ve jinekolojik tümörler arasında p53 boyanma şiddeti.....	39
Çizelge 3.21. Meme ve jinekolojik tümörler arasında IRF-1 boyanma şiddeti.....	40
Çizelge 3.22. Meme ve jinekolojik tümörler arasında IRF-2 boyanma şiddeti.....	40

1. GİRİŞ

1.1. İnterferonlar ve Genel Özellikleri

İnterferonlar (IFN), viral enfeksiyonlara ve bakteriyel lipopolisakkaritlere (LPS) karşı vücut direncinin sağlanmasından sorumlu proteinler olarak tanımlanan çok işlevli bir sitokin ailesidir (Harada vd 1998). Keşfini takip eden çalışmalarla interferonların hücre büyümesinin kontrolü, farklılaşma ve immün sistemin düzenlenmesinde rollerinin olduğu ortaya çıkarılmıştır. İnterferonlar Tip I (IFN- α ve - β) ve Tip II (IFN- γ) olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar (Çizelge 1.1). İnterferonlar sağlıklı bir insan vücudunda pikomolar konsantrasyonda devamlı olarak bulunurlar. Ancak vücuda giren bakteri, virüs, antijenler ya da vücutta gelişen tümörlere karşı bir cevap olarak IFN-alfa lenfositler, IFN-beta fibroblastlar, IFN-gama da NK (Natural Killer) hücreleri, mitojenle aktive edilmiş T hücreleri ve makrofajlar tarafından salınmaktadır (Baron vd 1992). IFN genlerinin patolojik durumlarda indüklenen ekspresyonları, hücrel bağışıklık faaliyete geçmeden önce organizmanın savunma mekanizmasının başlatılmasında (immün priming effect) önemli rol oynamaktadır (Pestka vd 1987, De Maeyer ve De Maeyer 1988, Vilcek 1990, Sen ve Ranshoff 1993).

Çizelge 1.1. İnterferon tipleri ve özellikleri.

	IFN- α	IFN- β	IFN- γ
Gen Sayısı	20...	1	1
Lokasyon	9. kromozomun kısa kolu	9. kromozomun kısa kolu	12. kromozomun uzun kolu
İntron Sayısı			
Aminoasit Sayısı	189	189	146
Glikolizasyon	+	+	+
PH dayanıklılığı	+	+	
Reseptör	Tip I	Tip I	Tip II
Molekül büyüklüğü(kDa)	15-20	20	20

Interferonlar etkinliklerini hücre yüzeyinde bulunan özgün reseptörlere bağlanarak gösterirler. Bu özellikleri bakımından bir hormon olarak da kabul edilirler. IFN- α ve IFN- β aynı reseptöre bağlanarak aynı tip sinyalin yaratılmasına sebep olurken, IFN- γ tamamen farklı bir reseptöre bağlanır ve farklı bir sinyalin yaratılmasını sağlar (Branca ve Baglioni 1981). İnterferonların spesifik hücre yüzeyi reseptörlerine bağlanması hücrelerde viral replikasyonun inhibisyonu, hücre farklılaşmasının ve hücre proliferasyonunun indüksiyonu gibi çeşitli fizyolojik yanıtlar oluşturur (Weissman ve Weber 1986).

IFN sistemi sitokinlerin moleküler mekanizmalarını açıklamak için kullanılan en iyi model sistemlerden biridir. Taniguchi ve arkadaşları IFN-beta'nın indüksiyon mekanizmasını çalışırken IRF-1 ve IRF-2 (Interferon Regulatory Factor 1 ve 2) olarak isimlendirilen iki yeni transkripsiyon faktörünü tanımlamış ve klonlamışlardır (Fujita vd 1988, Miyamoto vd 1988, Harada vd 1989). Daha sonra bu faktörlerin IRF ailesi diye bilinen ve şu anda IRF-3 (Au vd 1995) IRF-4 (Matsuyama vd 1995, Eisenbeis vd 1995, Yamataga vd 1996), IRF-5, IRF-6, IRF-7 (Zhang ve Pagano 1997), p48/ISGF-3 (Veals vd 1992) ve ICSBP (Interferon Consensus Sequence Binding Protein)'yi (Driggers vd 1990) de içine alan transkripsiyon faktörlerini içerdiği gösterilmiş ve son olarak bu ailenin Kaposi's Sarcoma-associated Herpes Virus (KSHV) tarafından kodlanan ve v-IRF olarak gösterilen bir viral üyesi de tanımlanmıştır (Moore vd 1996, Flowers vd 1998).

1.2. IRF-1 ve IRF-2'nin Kromozomal Lokasyonları

Orijinalde Tip I IFN sisteminin düzenleyicileri olarak tanımlanan IRF-1 ve IRF-2 aynı zamanda yapısal olarak birbirine benzeyen DNA-binding faktörlerdir. Harada ve arkadaşlarının 1994'de yaptıkları çalışmada insan IRF-1 ve IRF-2 genlerinin yapısal ve kromozomal lokasyonları belirlenmiştir (Harada vd 1994). Ekzon-intron organizasyonu karşılaştırıldığında iki faktörün özellikle N-terminal kısmını kodlayan ekzonlarda ortak bir evrimsel yapıya sahip oldukları görülmüştür. Floresan in situ hibridizasyon yöntemi kullanılarak IRF-1'in 5. kromozomun uzan

kolu üzerinde (5q31.1), IRF-2'nin ise 4. kromozomun uzun kolu üzerinde (4q35.1) lokalize olduğu gösterilmiştir (Harada vd. 1994).

IRF-1'i kodlayan cDNA'nın moleküler klonlanması ve karakterizasyonu Taniguchi ve arkadaşları tarafından yapılmıştır (Miyamoto vd 1988). İnsan IRF-1 proteini 329 amino asitten meydana gelir, oldukça hidrofilik bir yapıya sahiptir ve glikozilasyon dizisi içermez. IRF-1'in 1-140. amino asitlerden oluşan amino terminali lizin ve arjinin amino asitlerince zengin bir bölgedir, bütün proteinin yapısında yer alan toplam 39 arjinin ve lizin aminoasitlerinin 31'i bu bölgede bulunmaktadır. Bu pozitif yük zenginliğine sahip olan amino terminali (N- terminal) aynı zamanda heliks-turn-heliks adı verilen bir protein motifi de bulundurur; Bu motif hem IRF-1 monomerlerinin homodimerizasyonu hem de IRF-1'in DNA'ya bağlanması için gereklidir (Pabo ve Sauer 1984, Evans ve Hollenberg 1988). Amino terminal bölgesindeki bol pozitif yüke karşılık, karboksi terminal (C-terminal) yarısı bol miktarda aspartik asit ve glutamik asit gibi polar eksi yüklü amino asitlerle polar-yüksüz Serin ve Treonin amino asitlerinden oluşmaktadır. 140. amino asitten 329. amino asite kadar olan 189 amino asitlik kısmın 33'ü (%17) asidik amino asitlerden, 36'sı (%19) ise serin ve treonin amino asitlerinden oluşmaktadır (Miyamoto vd 1988)

1.3. IRF-1 ve IRF-2'nin Fosforilasyonu

IRF-1 ve IRF-2 fonksiyonlarının düzenlenmesi post-translasyonel fosforilasyonla kısmen kontrol edilmektedir. Rekombinant CKII (Kazein kinaz II)'nin in vitro'da IRF-1, IRF-2 ve IRF-3'ü fosforile ettiği gösterilmiştir. Bir serin-treonin protein kinaz olan CKII transkripsiyon faktörlerini ve hücre büyümesi düzenleyicilerini içeren 50'den fazla proteinin fosforilasyonundan sorumludur. IRF-1'in delesyon mutasyon analizi, DNA bağlanma bölgesinde bir bölgede (138.-150. amino asitler) ve transaktivasyon bölgesinde (219.-231. amino asitler) CKII tarafından fosforile olduğunu göstermiştir. Bu bölgede yer alan Ser-139, Ser-143, Ser-144, Thr-147, Ser-219, Ser-221, Thr-224 ve Thr-225 amino asitlerinin kazein kinaz II tarafından fosforile edildiği ve bu fosforilasyonların IRF-1'in biyolojik

fonksiyonunu olumlu etkilediği gösterilmiştir. Söz konusu amino asitlerin alanin amino asidine çevrilmesiyle elde edilen mutant IRF-1'in ise aktivitesini kaybettiği saptanmıştır (Lin ve Hiscott 1999). IRF-2'deki CK II fosforilasyonu ise C-terminal ucunda olmaktadır. Bu sonuçlar CK II'nin IRF ailesinin post-translasyonel modifikasyonunun potansiyel düzenleyicisi olduğuna dikkat çekmektedir (Lin ve Hiscott 1999).

Elde edilen bu bilgilerin yanısıra IRF-1'in amino asit dizilimine bakıldığında muhtemel bazı fosforilasyon motifleri görülmektedir. Bu motiflerden cAMP bağımlı protein kinaz (PKA) enziminin fosforilasyon dizisi (KRKS) bir adet, protein kinaz C enziminin fosforilasyon dizileri (TGR, TWK, SSR, SCK) dört adettir. Ancak bu dizilerin varlığına rağmen bugüne kadar IRF-1'in bu enzimler tarafından fosforile edilip edilmediği veya bu dizilerin fosforilasyonunun IRF-1'in fonksiyonuna etki edip etmediği gösterilmemiştir (İmir vd 2002).

IRF-1 oldukça kısa ömürlü bir proteindir; fakat, bu proteinin stabilitesini düzenleyen mekanizma henüz tam olarak bilinmemektedir. Yapılan bir çalışmada, IRF-1'in ubiquitin-proteasome yoluyla degrade olduğu gösterilmiştir. HeLa ve NIH3T3 hücrelerinde, IRF-1 protein degradasyonu proteasome-spesifik inhibitörlerle muamele edilerek inhibe edilmiştir. IRF-1'in tüm yapısı dayanıklı olmamasına rağmen C-terminalinden 39 aminoasitten daha fazla (40 veya yukarı) kısmı kesilmiş olan IRF-1 mutantlarının daima dayanıklı bir yapıda olduğu bulunmuş ve bu da C-terminal bölgesindeki 39 amino asitlik bölgenin IRF-1 stabilitesini kontrol ettiğini göstermiştir (Nakagawa ve Yokosawa 2000). Aynı çalışma grubu, başka bir analizle, yeşil floresan proteiniyle (normalde stable olan bir protein) IRF-1'in C-terminalindeki 39 amino asitlik bölgenin füzyonu sonucu, bu bölgenin yeşil floresan proteininde de bozunmaya neden olduğunu göstermiştir ki, bu da bu bölgenin protein degradasyon sinyali olarak fonksiyon gördüğünü desteklemektedir. Tüm sonuçlar bir araya getirildiğinde C-terminalindeki 39 amino asitlik bölgenin IRF-1'in stabilitesini kontrol etmede gerekli ve yeterli olduğunu savunur (Nakagawa ve Yokosawa 2000).

1.4. IRF-1 ve IRF-2 Genlerinin Fonksiyonları

IRF-1 ve IRF-2 orijinalde IFN sisteminin düzenlenmesinden sorumlu transkripsiyon faktörleri olarak tanımlanmıştır (Matsuyama vd 1993). IRF-1 bir transkripsiyonel aktivatör olarak fonksiyon görürken IRF-2 IRF-1'in fonksiyonunu baskılamaktadır. Yakın geçmişteki çalışmalar IRF-1'in anti-onkogenik, IRF-2'nin ise onkogenik özelliklere sahip olduğunu ve IRF-1 geninin alellerinden birinin veya ikisinin kaybının insan hematopoietik neoplasmlarının gelişiminde önemli rol oynadığını göstermiştir (Tanaka vd 1993, Nguyen vd 1995). Fonksiyonel IRF-1'in kaybının MDS (Myelodisplastik Sendrom)'li ve lösemili hastaların önemli bir kısmında gözlenmesi IRF-1'in insan onkostasisinde potansiyel olarak önemli bir rolü olduğunu desteklemektedir (Kondo vd. 1997).

Ökaryotik hücrelerin virüsler tarafından enfekte edilmesi bu hücrelerin IFN salmasına neden olmaktadır. Tip I IFN (alfa ve beta) genlerinin transkripsiyonunun virüsler tarafından indüklenmesini sağlayan nukleotit dizileri bu genlerin promotöründe -120. ve -1. nukleotitler arasında yer almaktadır. Bu bölgenin dizi analizi yapıldığı zaman bölgenin IRF-1 bağlanma bölgeleri olan PRD I (5'-AGAAGTGAAAGT-3'), PRD II (5'-GGGAAATTCCT-3'), PRD III (5'-GAAACTGAAAGG-3') ve PRD IV (5'-TGTAATGCCATA-3') dizilerini içerdikleri saptanmıştır. PRD bölgeleri ayrı ayrı dizilere sahip olmakla beraber hepsinde GAAANN dizisi bir çekirdek dizi olarak yer alır. Miyamoto ve arkadaşları, 1988 yılında, GAAAGT dizisini prob olarak kullanıp bir fare hücre hattı olan L929 hücrelerinden hazırlanan cDNA kütüphanesini tarayarak IRF-1'i GAAAGT dizisine bağlanabilen bir protein olarak klonlamışlardır (Miyamoto vd. 1988).

İnsan hücrelerinin virüsle enfekte olması NF-kB'nin inhibitöründen kurtulmasına ve IRF-1'in fosforile olarak aktive olmasına sebep olur. Aktif hale geçen bu faktörler hücre çekirdeğine göç ederek IFN-alfa ve -beta genlerinin promotöründe yer alan kendilerine özgü dizilerine bağlanırlar. İn vitro şartlar altında insan ve fare hücreleri NF-kB ve IRF-1 ekspresyon vektörleri ile transfekte edildiğinde her ne kadar virüs enfeksiyonuna gerek duyulmadan bu hücrelerde IFN-

beta sentezinin indüklendiği gösterilmişse de, maksimum IFN-beta sentezinin "enhanceosome" adı verilen protein kompleksinin IFN-beta promotörü üzerinde koşullanması ile mümkün olduğu ispatlanmıştır. Enhanceosome IRF-1, NF-kB ve bunlara bağlanan CBP/p300 ile ATF/c-Jun kompleksinden oluşur (Merika vd 1998, Kirchhoff vd 1999). Bu proteinlerden birinin IFN-alfa veya beta promotörlerinde kendine özgü bölgeye bağlanması diğer proteinlerin de aynı promotora daha yüksek ilgiyle bağlanmasına sebep olur. Bu olaya "pozitif kooperativite" denir. Bu duruma göre, viral enfeksiyonlarda IFN-alfa veya beta sentezinin maksimum düzeyde olabilmesi için enhanceosome'u oluşturan bütün öğelerin sitokiyometrik olarak hücrede dengede bulunması gerekir (Au vd 1992, Fujita vd 1988).

Viral enfeksiyon sonucu sentezlenen ve dolaşım kanına salınan interferonlar hücre yüzeylerindeki spesifik reseptörlerine bağlanarak antiviral ve antiproliferatif etki gösterirler. Her ne kadar IRF-1 IFN-alfa ve -beta genlerinin transkripsiyonel indüksiyonundan sorumlu bir protein olarak klonlandı ise de, aynı yıllarda yapılan çalışmalarda IRF-1'in IFN sentezinin yanı sıra sentezlenen interferonların biyolojik etkinliklerinin ortaya çıkarılmasında da rol aldığı gösterilmiştir. Bu bağlamda transkripsiyonu interferonlar tarafından indüklenen pek çok genin promotöründe IRF-1'in tanıma bölgesi saptanmıştır (İmir vd 2002). Transkripsiyonu IRF-1 tarafından indüklenen ve interferonların antiviral etkinliklerinin ortaya çıkarılmasında etkili olan genler şunlardır:

İndolamine 2,3-dioksijenaz (IDO)

IDO geninin promotöründe IRF-1'in bağlanma bölgesi (5'-GGAAACTGAAACC-3') dizisi şeklinde bulunur. İnsanda herhangi bir enfeksiyonun olmadığı durumlarda veya in vitro şartlarda interferonlarla uyarılmış hücrelerde IDO enziminin miktarı oldukça düşük düzeydedir. Ancak, özellikle IFN-gama ile uyarılmış hücrelerde bu genin transkripsiyonu uyarılmadan sonraki 2. saatten itibaren hızla yükselmeye başlar ve bu yükselme 24. saate kadar sürer. Sentezlenen enzim temel bir amino asit olan triptofanı kinurenin ve formin kinurenine parçalar, bu, triptofan amino asitinin ortamda kaybolmasına sebep olur

ve triptofan takviyesi yapılmadığı takdirde hücre triptofan açlığından ölür (Ozes ve Taylor 1993, Feng ve Taylor 1989, Ozes ve Taylor 1994). Bu mekanizma virüslerle enfekte olan hücrelerin bertaraf edilmesinde ve tümör hücrelerinin IFN-gama tarafından öldürülmesinde etkin olan bir mekanizmadır.

2,5-A Oligoadenilat Sentetaz

Bu genin transkripsiyonu hem Tip I hem de Tip II interferonlar tarafından etkin bir şekilde indüklenir. Bu genin promotorunda IRF-1'in bağlanma bölgesi 5'-AGGAAACTIGAAACCA-3' dizisi içerisinde yer almaktadır. Transkripsiyonel indüksiyon sonucu hücrede biriken oligoadenilat sentetaz 2-5 nükleotit uzunluğunda adenin oligoları sentezler (2-5 oligo A). Sentezlenen bu oligolar hücresel RNase H enzimine bağlanarak bu enzimi aktive eder. Aktive olan RNase H enzimi ağırlıklı olarak virüs kaynaklı RNA moleküllerini parçalar. Bu yolla viral mesajların proteine dönüşümü ve dolayısıyla viral partiküllerin sentezini inhibe eder (Baron vd 1992).

Çift İplikli RNA bağımlı protein kinaz (p68/PKR)

IRF-1'in bağlanma bölgesi p68 kinazın promotorunda 5'-GGGAAAACGAAACAG-3' dizisi içerisinde yer almaktadır. Bu enzim ilk olarak Ehrenfeld ve Hunter tarafından 1975 yılında tesadüfen bulunmuştur. Söz konusu araştırmacılar, çift iplikli kısa RNA (dsRNA) moleküllerinin in vitro translasyon olaylarına etkisini retikulosit lizatları üzerinde çalışırken, dsRNA ilave edilen bütün deney tüplerinde 68 kDa. büyüklüğünde bir proteinin fosforile olduğunu saptamışlardır (Hunter vd 1975). Jelden izole edilen proteinin mikro amino asit dizi analizinin ardından bu proteini kodlayan cDNA 1990 yılında Meurs ve arkadaşları tarafından klonlanmıştır (Meurs vd 1990). Klonlandığı yıllarda bu proteinin molekül büyüklüğü esas alınarak p68 kinaz olarak adlandırılmıştır ve yine aynı grup dsRNA'nın düşük konsantrasyonlarının bu enzimin otofosforilasyonuna sebep olduğunu göstermiştir (Meurs vd 1990). Klonlanmasını takip eden yıllarda p68 kinazın Tip I ve Tip II interferonlarla muamele edilen hücrelerde fosforile olarak

aktif hale geçtiği saptanmıştır (Ozes ve Taylor 1994, Galabru ve Hovanessian 1985). Fosforilasyonla aktif hale geçen p68 kinaz ökaryotik translasyon faktörü eIF-2'nin GTP-GDP değişimini inhibe eder ve sonuç olarak hücrel protein sentezi inhibe olur (Koromilas vd 1992, Meurs vd 1993, Donze vd 1995). Kronik olarak kendisine IFN verilen ya da virüslerle enfekte olan hücrelerde protein sentezinin uzun süreli olarak durması veya çok yavaşlaması hem hücre ölümüne hem de virüs replikasyonunun inhibisyonuna neden olur (Samuel ve Knutson 1982).

Yapılan bir çalışmada, p68/PKR ekspresyonunda IRF-1'in rolü araştırılmıştır. Bu çalışmada IRF-1-deficient embriyonik fibroblastlarda yabancı tip hücrelere oranla p68/PKR ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir. Azalan p68/PKR ekspresyonu insan lösemilerinde IRF-1 genindeki delesyonun potansiyel sonucu olarak gösterilmiştir. İnsan lösemik hücre hattı olan U937 hücrelerinin IRF-1 geninin birinde bir delesyon içerdiği ve düşük düzeylerde p68/PKR sentezledikleri gösterilmiştir. U937 hücrelerinde transfeksiyonla IRF-1 ekspresyonunun artırılması p68/PKR ekspresyonunu indükleyebilmiştir. Ayrıca, IRF-1'in lokalize olduğu 5q kromozomunda bir delesyon taşıyan iki hastadan alınan kan örneklerinde p68/PKR ekspresyonunda belirgin bir azalma olduğu da gösterilmiştir. Bu sonuçlar IRF-1'in p68/PKR ekspresyonunu aktive ettiğini ve IRF-1 geninin bir alelinin bile kaybolmasının p68/PKR ekspresyonunu değiştirmek için yeterli olduğunu göstermektedir. Bu nedenle p68/PKR, IRF-1'in tümör baskılayıcı aktivitesinin aracısı olarak güçlü bir adaydır (Beretta vd 1996).

İndüklenebilir nitrik oksit sentetaz (iNOS)

Nitrik oksit sentetaz tarafından sentezlenen nitrik oksit (NO), makrofajların enfekte olmuş hücreleri ve bu hücrelerde bulunan hücre içi parazitleri öldürmede kullandığı önemli bir ajandır (Spink ve Evans 1997). Nitrik oksit sentetaz geninin promotorunda 2 adet IRF-1 bağlanma bölgesi bulunmaktadır. Taniguchi ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada IRF-1 knock out (IRF-1 geni baskılanmış) farelerde IFN-gama ya da lipopolisakarit enjeksiyonunun ardından hiç NO sentezi saptanamamıştır, oysa aynı enjeksiyonlar yabancı tip farelerde çok yüksek

konsantrasyonlarda NO sentezine sebep olmuştur (Kamijo vd 1994). IRF-1 ekspresyonunun organizmanın viral ve bakteriyel enfeksiyonlara karşı oluşturulan immün cevaptaki etkinliği yapılan in vivo çalışmalarla gösterilmiştir. Yabani tip ve IRF-1 knock out fareler *Vesicular stomatitis* Virüsü (VSV) ve *Mycobacterium bovis* ile enfekte edildiklerinde, her iki enfeksiyon da IRF-1 knock out farelerde yabani tiplere göre çok daha ağır seyretmiştir ve bu durum IRF-1 bağımlı genlerin yokluğuna bağlanmıştır (Kamijo vd 1994).

ICE (İnterlökin-1-beta converting enzyme) / Caspase 1

Bir immün modülatör olarak IRF-1, B lenfositlerde olgun İnterlökin-1 (IL-1) sentezinden sorumludur, zira sentezlenen IL-1'in olgunlaşmamış formu caspase 1 proteazının kesim bölgesini içerir ve bu diziden kesilen IL-1 işlevsel olan kısa olgun peptide dönüşür. Bu kesimden sorumlu olan caspase 1 (ICE) geninin transkripsiyonu IRF-1'in kontrolü altındadır. Zira Porter ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada IRF-1 knock out farelerde caspase ailesi üyelerden sadece caspase 1 (ICE) proteininin ekspresyonunun kaybolduğu saptanmıştır (Mao vd 1998).

IRF-1 gen ekspresyonu Con A (Konkonavalin A) ile uyarılmış splenositlerde oldukça güçlü bir şekilde indüklenmektedir. IRF-1'in apoptosisten sorumlu olduğu bilinen genleri düzenleyebileceği ihtimalini test etmek için Tamura ve arkadaşları (1995) caspase 1 (ICE), Ich-1, bcl-2 ve bax genlerinin mRNA ekspresyonlarını incelemişlerdir. *Caenorhabditis elegans*'ın hücre ölüm geni ced-3'ün homoloğu olan caspase 1 (ICE) bir memeli hücre ölüm geni olarak aktivite göstermektedir. Ich-1 (Nedd-2) ICE'nin homoloğudur ve her ikisi de hücre ölümünün pozitif ve negatif regülatörlerini kodlarlar. Bcl-2 ve yapısal benzeri olan bax ise apoptosisin negatif ve pozitif regülatörlerini kodlarlar. Yapılan çalışma sonucunda bu mRNA'lardan sadece ICE mRNA'sının IRF-1 kaybıyla belirgin olarak etkilendiği bulunmuştur ki bu da IRF-1'in caspase 1 (ICE) geninin düzenlenmesinden sorumlu olduğunu desteklemektedir (Tamura vd 1995).

IRF-2 (Interferon Regulatory Factor-2)

IRF-2 proteini, IRF-1'in başlattığı IFN-beta ekspresyonunu sonlandıran bir transkripsiyonel düzenleyici bir proteindir. IRF-2'nin 5'-flanking bölgesinin fonksiyonel analizi çalışmaları sırasında IRF-2 promotor bölgesinin guanin ve sitozince zengin bir CpG bölgesi, bir NF-kB bağlanma bölgesi ve bir CAAT dizisi (cat box) içerdiği ve TATA box içermediği gösterilmiştir. Ayrıca promotor bölgesinin IFN-alfa ve beta ve IRF-1 tarafından indüklenebildiği de aynı çalışmada gösterilmiştir. Bu bilgiler ışığında, IRF-1'in sadece interferon sinyal iletim yolunun aktivasyonunu tetiklemediği, aynı zamanda IRF-2 geninin transkripsiyonunu aktive ederek bu cevabın süresini sınırlamada da rol oynayabileceği söylenebilmektedir (Cha ve Deisseroth 1994, Henderson vd 1997).

Fas-ligand (Fas L) geni

T-hücre reseptörüne (TCR) bir ligandın bağlanması sitokin genlerinin transkripsiyonel aktivasyonuna ve programlı hücre ölümünün oluşmasına sebep olmaktadır. Aktif T hücreleri Fas ligandın ekspresyonu ve CD95 (Fas/APO-1) reseptörüne bağlanması sonucunda apoptosise uğramaktadır. Fas L promotorundaki IRF-1 bağlanma bölgesinin delesyonu Fas L ekspresyonunda azalmalara neden olmaktadır. Yapılan bir çalışmada, hem IRF-1'in hem de IRF-2'nin güçlü ekspresyonlarının T hücrelerinde Fas L promotorunun aktivasyonuna ve Fas L ekspresyonuna sebep olduğu gösterilmiştir. Sonuç olarak, IRF-1 ekspresyonun baskılanması TCR-uyarılmış Fas L ekspresyonunda bozukluklara sebep olmuştur. Dolayısıyla bu sonuçlar IRF ailesinin Fas L gen ekspresyonunun düzenlenmesinde de görev aldığını göstermektedir (Chow vd 2000).

1.5. Tümör baskılayıcı olarak IRF-1

IRF-1 uzun yıllardan beri antiviral özellik gösteren bir gen olarak biliniyor olsa da bunun hücre büyümesi üzerine olan etkisi son yıllarda daha öne çıkmıştır. IRF-1'in tümör baskılayıcı bir gen olabileceği ilk kez Willman ve arkadaşları

tarafından gösterilmiştir (Willman vd 1993). Yapılan iki ayrı çalışmada myeloblastik lösemi tanısı konmuş kişilerde IRF-1'in kromozomal lokasyon bölgesinde delesyon saptanmıştır (Willman vd 1993, Boulwood vd 1993). Yapılan bu çalışmaların hemen ardından IRF-1'in tümör baskılayıcı olarak işlev gördüğünü irdeleyen diğer çalışmalar yayınlanmıştır. 1994 yılında, Tanaka ve arkadaşları c-myc ve c-fos tarafından indüklenen hücrel transformasyonun IRF-1'in ektopik ekspresyonu ile durdurulabileceğini ve hücrenin apoptosise uğrayabilmesi için yabancı tip IRF-1 ekspresyonunun gerekli olduğunu göstermişlerdir (Tanaka vd 1994a). Bu çalışmanın hemen ardından Tamura ve arkadaşları mitojenlerle aktive edilmiş T-lemfositlerin DNA hasarına bağlı olarak apoptosise uğramalarının IRF-1 varlığına bağımlı olduğunu rapor etmişlerdir (Tamura vd 1995). Bunu takip eden bir dizi çalışmada, mide ve özofagus adenokarsinomlarında IRF-1 lokusunda delesyon ve IRF-1 fonksiyonunu devre dışı bırakan nokta mutasyonları saptanmıştır (Nozawa vd 1998, Tamura vd 1996, Ogasawara vd 1996). 1999 yılında Nozawa ve arkadaşları, yukarıda değinilen in vitro çalışmaların sonuçlarına ışık tutacak tarzda bir çalışmayı in vivo şartlarda yapmışlardır. Nozawa ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, IRF-1^{-/-} farelerle p53^{-/-} fareleri çaprazlamışlar ve bu çaprazlamadan elde edilen 315 fare doğumdan sonraki 200 gün içinde spontan tümör oluşumu gözlemişlerdir. Bu çalışmanın sonunda oldukça çarpıcı sonuçlar elde edilmiştir. IRF-1^{-/-} farelerde sadece %2 (6/315) tümör gelişimi saptanmışken p53^{-/-} farelerde %56 (176/315) oranında tümör gelişimi saptanmıştır. Her iki gen bakımından knock out olan farelerin ise %96'sında (302/315) tümör gelişimi gözlenmiştir. Bu çalışmadan da açıkça görülmektedir ki; p53 ve IRF-1 tümör baskılayıcı etkilerini birlikte çalışarak göstermektedir. Aynı çalışma grubu elde edilen bu bilginin yanısıra c-Ha-ras overekspresyonu yapan bir fare ile yabancı tip ve IRF-1^{-/-} fareyi çaprazladıklarında IRF-1^{-/-} / rasH2 ekspresyonu gösteren farelerin sadece %7'sinde (2/30) tümör gelişimi gözlerken, IRF-1^{-/-} / rasH2 farelerin %44'ünde (12/27) tümör gelişimi saptamışlardır. Bu sonuçlara göre IRF-1'in c-Ha-ras bağımlı tümör gelişimini baskıladığı sonucu ortaya çıkmaktadır (Nozawa vd 1999).

1.6. IRF-1 ve IRF-2 Genlerinde Mutasyonlar, İnaktivasyonlar ve Sonuçları

IRF-1 hem interferon sisteminde bir transkripsiyonel aktivatör olarak hem de bir tümör baskılayıcı olarak çalışmaktadır. Fonksiyonel IRF-1 kaybının MDS'li ve lösemili hastaların önemli bir kısmında gözlenmesi IRF-1'in insan onkostasisinde potansiyel olarak önemli bir rolü olduğunu desteklemektedir. Kondo ve arkadaşları (1996) yaptıkları bir çalışmada, IRF-1'in inaktivasyonuna ilişkin alternatif bir mekanizma öne sürmüşlerdir. Bu çalışmada bir IRF-1-binding protein (IRF-BP) tanımlanmıştır. Protein sekans analizi ile IRF-BP'nin bir nükleolar fosfoprotein olan nükleofosmine (NPM) benzediği gösterilmiştir. Fonksiyonel analiz sonucu bu proteinin IRF-1'in DNA'ya bağlanmasını ve transkripsiyonel aktivasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Üstelik çeşitli klinik lösemi örnekleri ve insan kaynaklı lösemik hücre hatları incelendiğinde IRF-BP mRNA'sının miktarının arttığı gözlenmiştir. Bu sonuçlar, IRF-BP'nin IRF-1'e bağlandığı ve lösemilerde IRF-BP'nin overekspresyonunun (çok aşırı sentezinin) IRF-1 ile düzenlenen büyüme kontrolünün ortadan kalkmasına sebep olduğu hipoteziyle uygunluk göstermektedir. Bu hipotez, ayrıca, IRF-BP'nin overekspresyonunun NIH3T3 hücrelerini transforme ettiği gerçeğiyle de desteklenmiştir (Kondo vd 1997)

İnsan tümörlerinde gözlenen heterozigosite kaybı (LOH) genellikle ilgili lokusta bir tümör baskılayıcı gen (veya genlerin) varlığını göstermektedir. Yapılan birçok çalışmada gastrik adenokarsinomda 5. kromozomun uzun kolunda sıklıkla LOH varlığı gösterilmiştir. Ayrıca bu kanserlerde 5q31.1 kromozomundaki IRF-1'in LOH'un ortak bölgelerinden biri olduğu da gösterilmiştir. Nozowa ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, histolojik olarak farklılaşmış 9 gastrik adenokarsinom vakasında IRF-1 gen dizisini analiz etmişler ve bu analiz sonucunda 1 vakada IRF-1 lokusunda residual (uç) alelde bir mis-sense mutasyon tanımlamışlardır. IRF-1'in bu mutant formunun transkripsiyonel aktivitesinde belirgin bir düşüş olduğunu göstermişlerdir. Buna ek olarak wt-IRF-1'in overekspresyonu hücre döngüsü blokajını indüklerken, mutant IRF-1'de bu aktivite azalmıştır. Bu sonuçlar, fonksiyonel IRF-1 kaybının insan gastrik kanserlerinin gelişiminde önemli bir rolü olduğunu göstermektedir (Nozawa vd 1998).

IRF-1 çeşitli sitokinler ve büyüme faktörleri tarafından indüklenen genlerin transkripsiyonel aktivatörüdür. Dolayısıyla insan kanserlerinin çoğunda IRF-1 bozuklukları sıklıkla gözlenir ve bu bozukluklar tümörleşmeye yardımcı olur. Transkripsiyon faktörlerinin IRF ailesi, DNA'ya bağlanmalarını sağlayan sabit triptofan rezidülerine sahiptir. Yapılan bir çalışmada IRF-1 geninde kodon 11'deki triptofanın arjinine dönüştüğü bir nokta mutasyonu (W11R) tanımlanmıştır. Bu mutasyon IRF-1'in DNA'ya bağlanmasında ve fonksiyon görmesinde kodon 11'deki bu sabit triptofanın önemli rolü olduğunu göstermiştir (Eason vd 1999)

İnsan karaciğer kanser hücrelerinde tip 1 interferonların (alfa ve beta) antiproliferatif etkilerinin, p21 (wAF-1) ekspresyonuna paralel olarak, IRF-1'in transkripsiyon düzeyleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bir grup bilimadamı, IRF-1 genindeki mutasyonları tip 1 interferonlara karşı oluşan yanıtta farklılığa sebep olup olmayacağını göstermek için insan karaciğer hücre hattında ve periferal kan hücrelerinde IRF-1 geni için mutasyon taraması yapmış ve (-1)- (-495) bölgesinde dört nokta mutasyonu bulmuştur. Ayrıca, aynı çalışma grubu bu mutasyonların IRF-1'in promotor aktivitesini değiştirdiğini de göstermiştir. Sağlıklı kişilerden alınan DNA analizi sonuçları ile karşılaştırılarak bu mutasyonların tek nukleotit polimorfizmi olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar IRF-1 promotorundaki tek nukleotit polimorfizmlerinin, tip 1 interferonlara karşı yanıtın belirlenmesinde kısmen de olsa yardımcı olduğunu göstermektedir (Saito vd 2001).

1.7. IRF-1, IRF-2 ve p53 ilişkisi

Birçok kanser tipi tümör supresör protein p53'ün en azından bir alelinde mutasyon içermektedir ve bu nedenle de p53 kanserde en önemli genlerden biridir. Ayrıca p53 kansere sebep olan en iyi karakterize edilmiş genler arasında yer almaktadır p53 proteininin üç önemli fonksiyonu vardır Bunlardan birincisi; p21 gibi çeşitli genlerin transkripsiyonunu aktive etmesidir. p21 proteini hücre döngüsü süresince siklin-CDK (Siklin bağımlı kinaz) kompleksini baskılar ve hücre döngüsünün S fazı sırasında DNA sentezleyen DNA polimerazları inhibe eder. p53 proteini ayrıca, G₁'den S fazına geçişi sağlayan proteinleri de direkt olarak inhibe

edebilir. Böylece p53, hücre döngüsü boyunca çeşitli noktalarda ilerlemesini inhibe etmektedir.

p53'ün ikinci fonksiyonu ise apoptosisi başlatmasıdır. p53 proteini apoptosisi için gerekli değildir, fakat hücreler p53 yokluğunda varlığındaki gibi apoptosisi indükleyemez. DNA zararı, hücrel oksijen eksikliği, RNA sentezi için ribonukleotitlerin eksikliği ve onkogenlerin aktivasyonu hücrede p53 düzeyini arttıran ve apoptosisi indükleyebilen çeşitli hücrel distreslerdir.

p53'ün tümör baskılanmasındaki rolü de üçüncü önemli fonksiyonudur. Tümöre besin ve oksijen sağlayan kan damarlarının çoğalması anlamına gelen angiogenesisi etkileyen birçok protein vardır. Bu proteinlerden bazıları angiogenesisi stimüle ederken diğerleri inhibe eder. P53 angiogenesis inhibitörünü kodlayan en az bir genin transkripsiyonunu aktive eder. Dolayısıyla p53 tümörler için gerekli kan desteğinin gelişimini önleyerek tümör baskılanmasında önemli görev yapmaktadır.

p53 proteini oldukça iyi karakterize edilmiş bir proteindir. Fonksiyonel p53 proteini birbirine eş dört alt ünitenin birleşmesiyle oluşan tetramer bir yapıdadır. Her bir alt ünite 393 amino asitten oluşur. İlk 42 amino asit transkripsiyonel aktivatör olarak fonksiyon gören bölgedir. 102-292 amino asit rezidüleri ise p53'e yanıt veren genlerin promotorlarındaki spesifik bölgelere bağlanan DNA-bağlanma bölgesidir. Kanseri hücrelerindeki tüm p53 mutasyonlarının %90'ından fazlası bu bölgeyi kodlayan DNA kısmında görülmektedir. 324-355. amino asitler ise tetramer oluşumundan sorumlu bölgeyi oluşturur. Son 26 amino asit ise düzenleyici bölgedir. Hücreler p53 seviyelerini p53 degradasyonunu ve inaktif formdan aktif forma geçişini kontrol ederek düzenler. 26 amino asitlik kısım proteinin inaktif formdan aktif forma dönüşümünü düzenleyen kısımdır.

P53 bir tümör supresör protein olduğu için kansere sebep olan mutasyonların çoğu fonksiyon kaybı mutasyonlarıdır. Bir p53 tetramerindeki dört alt ünite de DNA'ya bağlanır. Bu tetramerdeki dört alt ünitenden sadece birinin bile DNA'ya

bağlanma yeteneğini kaybetmesi bu tetramer yapıdaki p53 proteininin en azından bazı fonksiyonlarının kaybolmasına sebep olacaktır. Sonuç olarak, homolog kromozomda bir p53 aleli mutant olmasa bile tek bir mutant p53 aleli kanser oluşumuna sebep olabilmektedir. Mutant p53 alelinin heterozigot taşıyıcısı olan insanlar bazı kanser tiplerinin gelişimi için yüksek risk taşımaktadırlar (Fairbanks ve Andersen 1999).

DNA zararına karşı hücrelerin yanıtları arasındaki DNA tamiri, hücre döngüsü blokajı veya apoptosisle hücre ölümü yer almaktadır. Bununla birlikte, bu aktivitelerin karsinogenesisine neden olan mutasyonların gelişimini önlediğine inanılmaktadır. DNA zararına karşı oluşturulan etkili yanıt hücre tipleri arasında farklılık göstermektedir. Fakat, bu farklılıkların altında yatan moleküler kontrol mekanizmaları hala tam anlaşılmış değildir. Son yıllarda yapılan çalışmalar bu çeşitliliğin apoptosis ve DNA zararından sonraki büyüme blokajının düzenlenmesinde önemli rolleri olduğu belirlenen iki tümör baskılayıcı protein olan p53 ve IRF-1 ile kısmen belirlendiğini öne sürmektedir (Prost vd 1998).

Tümör supresör protein olan IRF-1 p21, siklinD1 ve PKR gibi genlerin transaktivasyonuna neden olarak tip 1 IFN'ların büyümeyi durdurucu etkilerinin çoğunu gerçekleştiren bir transkripsiyon faktörüdür (Kirchhoff vd 1993, 1999, Taniguchi vd 1995). DNA zararına karşı yanıtların düzenlenmesinde IRF-1'in rolü çok yeni olarak tanımlanmıştır (Tamura vd 1995, Tanaka vd 1994b); IRF-1 mitojenle aktive olmuş T lenfositlerde ve Ha-ras onkogeni ile transforme olmuş fibroblastlarda p53'den bağımsız bir yolla apoptosisin tetiklenmesini düzenler (Tamura vd 1995). Ayrıca, DNA zararından sonra embriyonik fibroblastlardaki etkin hücre döngüsü blokajı IRF-1 ve p53'ün birlikte p21'in ekspresyonunu aktive etmelerine ihtiyaç duyar (Tanaka vd 1996). Bu nedenle, IRF-1 DNA zararına karşı oluşacak yanıtların düzenlenmesinde hem p53 ile birlikte hem de p53'den bağımsız aktivitelere sahiptir. Aynı zamanda, IRF-1'in p53 gibi DNA tamir aktivitesine sahip olup olmadığı henüz rapor edilmemiştir.

İnsan kanser ölümlerinin büyük bir kısmını oluşturan karaciğer karsinomalarında p53 genellikle defektifdir; bununla birlikte normal hepatositlerde ve DNA zararına karşı hepatosit cevaplarında p53'ün rolleri henüz tam olarak anlaşılmış değildir. Prost ve arkadaşları yaptıkları çalışmada çoğalan hepatositlerin *in vivo* ve primer kültürlerde DNA zararından sonra p53-bağımlı bir büyüme blokajı gösterdiklerini rapor etmiştir (Prost vd 1998). Yaptıkları çalışmanın amacı DNA zararına karşı hepatositlerde oluşan yanıtların en iyi şekilde tanımlanmasıydı. IRF-1'in DNA zararına karşı hepatosit yanıtlarında önemli bir rolü olup olmadığını ve IRF-1 bozukluğunun p53 bağımlı yanıtları etkileyip etkilemediğini test etmek için özellikle IRF-1-deficient (IRF-1^{-/-}) farelerden alınan primer hepatositler kullanılmıştır. Bu çalışmada DNA tamirindeki (UV muamelesinden sonra oluşan DNA zararına karşı oluşturulan) IRF-1 bozukluğunun p53 aktivitesine olan etkileri wt ve p53-deficient primer hepatositlerde karşılaştırmalı olarak gösterilmiştir. Buna göre, IRF-1-deficient hepatositlerdeki p53 aktivitesi yabanıl tiplerdekinin 3-6 kat kadar daha fazla olmuştur (Prost vd 1998).

İnsan IRF-1 geni 5q31.1 kromozomunda lokalize olmaktadır (Willman vd 1993). Bugüne kadar, insan kanserlerinde, IRF-1 geninin ekspresyonundaki genetik ve epigenetik değişiklikler çalışılmıştır. Özellikle akut lösemilerde 5 nolu kromozomun uzun kolunun translokasyonu veya delesyonu sonucu IRF-1 alellerinden birinde veya her ikisinde bozuklukların olduğu gözlenmiştir (Wilmann vd 1993). Ayrıca spesifik ekzonların yerdeğiştirmesi sonucunda fonksiyonel IRF-1 mRNA'sı ekspresyonunun kaybı MDS'li veya MDS'den gelişen lösemili hastaların %20'sinde rapor edilmiştir (Harada vd 1994). IRF-1 lokusundaki heterozigosite kaybı insan gastrik ve özofagus kanser hastalarında rapor edilmiştir (Ogasawara vd 1996, Tamura vd. 1996), bunlar arasından gastrik kanserlerin en az bir vakada IRF-1 genindeki inaktive edici mutasyonun rezidual alelde olduğu gösterilmiştir (Nozawa vd 1998). Tüm bu gözlemler IRF-1'in tümör baskılayıcı rolünü desteklemektedir. Daha sonra yapılan bir çalışmada, tümör ekspresyonunda IRF-1 ile p53 arasındaki ilişki araştırılmıştır. Tümör baskılanması için en iyi karakterize edilen fare modellerinden biri p53-deficient (p53^{-/-}) farelerdir (Jacks 1996, Ghebranos ve Donehower 1998). Çünkü, IRF-1 hücre döngüsünün

regülasyonunda p53 ile birlikte çalışır (Tanaka vd 1994b). IRF-1 ve p53 genlerindeki fonksiyon kaybı mutasyonlarının birlikteyken, tümör gelişimini bir şekilde etkileyebileceği düşünülmüştür. p53 sinyal yollarının bazılarında IRF-1 sadece bir aracı olarak fonksiyon görüyorsa p53^{-/-} farelerin tümör duyarlılığını değiştirmek için IRF-1^{-/-} mutasyonlarının süper etkisi beklenmeyecektir. Bu konuyu daha iyi açıklamak için Nozawa ve arkadaşları (1999) hem IRF-1 hem de p53 alellerinde null mutasyonlar taşıyan (IRF-1^{-/-} p53^{-/-}) fareler oluşturmuşlardır. Buldukları sonuçlarda p53^{-/-} farelerin sadece %56'sı 200 gün içinde tümör gelişimi gösterirken, IRF-1^{-/-} p53^{-/-} farelerde tümör sıklığı %96'ya kadar artmıştır (Nozawa vd 1999).

Buradan yola çıkarak; tez çalışmasında insan meme, serviks, over ve endometriyum karsinomalarında IRF-1 ve IRF-2 ekspresyonuyla p53 ekspresyonu arasında bir ilişki olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu tez çalışmasına başlandığında IRF-1, IRF-2 ve p53 ekspresyonları arasında bir ilişkinin olup olmadığı yukarıda bahsedilen insan karsinoma tiplerinin hiçbirinde henüz araştırılmamıştır. Ancak, 2001 yılının Mayıs ayında yayınlanan bir makalede insan meme kanserlerinde IRF-1 ve IRF-2 ekspresyonları, bu tez çalışmasında da kullanılan immünohistokimya boyama yöntemiyle, gösterilmiştir (Doherty vd 2001). Fakat, Doherty ve grubunun yaptığı çalışmada IRF-1 ve IRF-2 ekspresyonlarının östrojen hormonuyla ilişkisi değerlendirilmiş, tez konusu olan IRF-1, IRF-2 ve p53 ekspresyonları arasındaki ilişki incelenmemiştir (Doherty vd 2001). Bu nedenle tez çalışmasının orijinalliği halen sürmektedir.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

Bu çalışma boyunca immünohistokimyasal boyamalar ve DNA izolasyonu için Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi ve Kadın Doğum Anabilim dallarına gelen hastalardan alınan biyopsi ve ameliyat materyalleri kullanıldı.

2.2. Metot

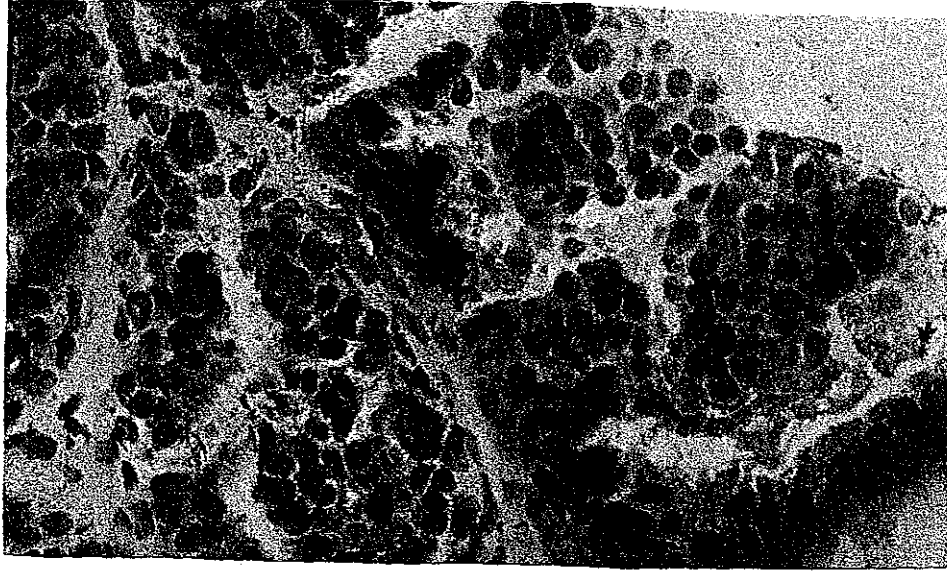
2.2.1. İmmünohistokimyasal boyama için kullanılan yöntem

Tıp Fakültesi Genel Cerrahi ve Kadın Doğum Anabilim dallarına gelen hastalardan alınan biyopsi ve ameliyat materyali örneklerine önce "Frozen Section" yöntemi ile karsinoma tanısı konuldu ve daha sonra bu taze dokularda immünohistokimyasal Streptoavidin-biotin yöntem boyamayla IRF-1, IRF-2 ekspresyonları gösterildi. Dondurularak kesilen dokulardan 4-5 μ kalınlığında kesit alınarak "Dako ChemMate TM 500 capillary Microscope (75 μ) isimli hazır kromaliumlu lamalar üzerine yerleştirildikten sonra boyama yapılana dek -20°C'de saklandı. Boyama yapılacağı zaman bu preparatlar 20-25°C'de yarım saat bekletilerek oda sıcaklığına getirildi. Daha sonra +4°C'de 10 dakika aseton ile muamele edilerek fikse olmaları sağlandı. Bu fiksasyondan sonra distile su ile yıkandı ve 1 saat bloklama solusyonunda (PBS içinde %1.5'lik BSA-Bovine Serum Albumin) kapalı "humidifier chamber"de inkübasyona bırakıldı. Bu süre sonunda bloklama solusyonu uzaklaştırıldı ve tekrar distile su ile yıkandı. Daha sonra preparatlar oda sıcaklığında 30 dakika poliklonal IRF-1 ve IRF-2 (Santa Cruz Biotech) ve monoklonal p53 primer antikorlarıyla inkübe edildi. Daha önceden yapılan boyama denemelerinde en ideal sulandırma IRF-1 için 1:200 (Antikor : Bloklama solusyonu), IRF-2 için 1:100 ve p53 için 1: 50 olarak bulunmuş ve hazırlanan bloklama solusyonuyla bu oranlarda sulandırılarak uygulandı. İnkübasyon sonunda preparatlar 3 kez 5'er dakika PBS ile yıkandı, Biotin-conjugated sekonder antikorla (DAKO) oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildikten sonra yine 3 kez 5'er dakika

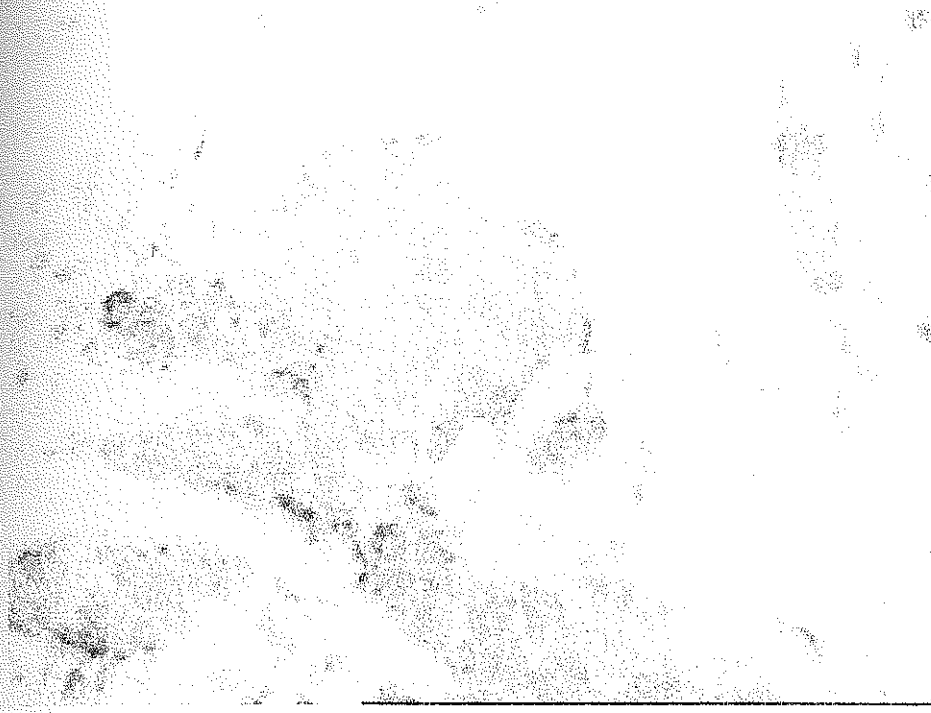
edildikten sonra yine 3 kez 5'er dakika PBS ile yıkandı. Preperatlar avidin-biotin peroksidaz enzimi (DAKO) uygulanarak 30 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı ve bu süre sonunda PBS ile yıkama işlemi tekrar uygulandı. 30 sn- 10 dk veya istenilen boya yoğunluğu oluşana kadar peroksidaz substratı (DAB-Diaminobenzidin tetrahidroklorid, DAKO) ile muamele edildi ve istenilen boya yoğunluğu elde edildikten sonra preperatlar hemen distile su ile yıkandı. Zıt boya olarak hematoksilin kullanıldı. 5-10 sn.'lik hematoksilin uygulamasının hemen ardından preperatlar birkaç kez distile su ile yıkandı; Gittikçe artan konsantrasyonlardaki (%70, %75, %90) alkollerden geçirilerek 2 kez 1'er dakika ksilolde bekletilerek dehidratasyon sağlandı. Tüm bu işlemler tamamlandıktan sonra preperatlar, üzerlerine 1-2 damla entellan (Merck) damlatılarak lamelle kapatıldı ve ışık mikroskobunda incelenmek üzere hazırlandı.

2.2.1.1. İmmünohistokimyasal boyamaların değerlendirilmesi

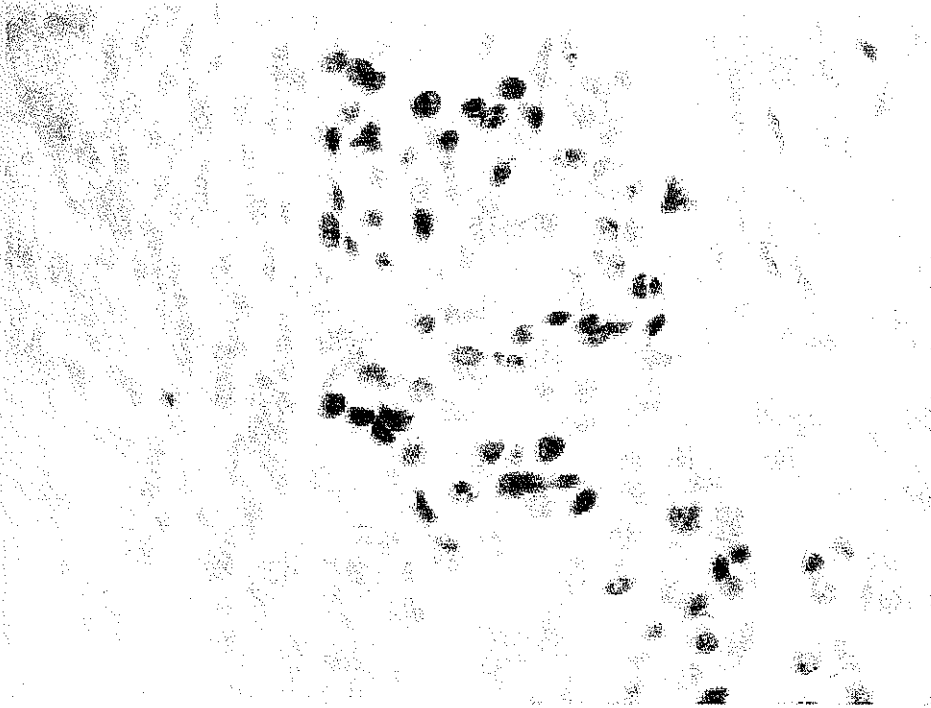
IRF-1 ve IRF-2 boyalarında sitoplazmik boyanma pozitif olarak kabul edilirken (Şekil 2.1, Şekil 2.2), p53 boyasında nüklear boyanma pozitif olarak kabul edildi (Şekil 2.3). Tümörlerde boyanan alanların yüzdesi semikantitatif olarak saptandı ve boyanma şiddetine göre hafif (+), orta (++) ve şiddetli (+++) olarak değerlendirildi.



Şekil 2.1. IRF-1 antikoruyla sitoplazmik boyanan doku örneği (X 400)



Şekil 2.2. IRF-2 antikoruyla sitoplazmik boyanan doku örneği (X 400)



Şekil 2.3. p53 antikoruyla sitoplazmik boyanan doku örneği (X 400)

2.2.2. Apoptosis indüksiyonunun belirlenmesi için DNA izolasyon yöntemi

DNA izolasyonu için hastalardan alınan biyopsi ve ameliyat materyalleri kullanıldı. Petriye alınan dokuların üzerine 1-2 ml. DNA ekstraksiyon tamponu eklendikten sonra daha önceden steril edilmiş bir makas yardımıyla viskoz bir yapı oluşana kadar dokular parçalandı. Bu parçalar viskoz sıvıyla birlikte bir tüpe aktarıldı ve 5000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonunda doku parçaları çöktürüldü ve üstte kalan sıvı kısım başka bir tüpe aktarıldı. Bu sıvının üzerine 100 µg/ml olacak şekilde RNAse (Sigma) eklendi ve 37°C'lik sıcak su banyosunda 2 saat inkübe edildi. Aynı tüpe 20 µg/ml olacak şekilde proteaz K (Sigma) konuldu ve yine 37°C'lik sıcak su banyosunda 2 saat inkübe edildi. Bu inkübasyon süresi sonunda 2-3 kez fenol ekstraksiyonu yapıldı. Fenol ekstraksiyonu için Fenol : Kloroform : İzooamilalkol (25 : 24 : 1) karışımından (Sigma) bire-bir oranda karıştırıldı ve 10 dakika buzda bekletildikten sonra 5000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonunda oluşan üst faz alınarak bir başka tüpe aktarıldı. İşlemler santrifügasyondan sonraki üst faz berrak hale gelene kadar (2-3 kez) tekrar edildi. Son santrifügasyondan sonra alınan üst fazın üzerine 3 M sodyum asetatın toplam hacmin 1/10'u kadar eklendi. Daha sonra bunun üzerine toplam hacmin iki katı kadar soğuk etanol kondu ve tüp yavaş yavaş sağa sola yatırıldı. Tuz ve alkol eklendikten ve örnekler -20°C'de 30 dakika bekletildikten sonra 30 dakika +4°C'de 10000 rpm'de santrifüj edildi. Tüpün dibinde oluşan berrak renkteki çökelti (DNA) TE (Tris-EDTA) tamponunda çözüldü. Örneklerin DNA miktarlarını tayin etmek için her bir örneğin spektrofotometrede 260 nm. dalga boyunda absorbans değerleri okunarak aşağıdaki formüle yerleştirildi ve µg/ml cinsinden DNA miktarı hesaplandı.

$$\text{DNA miktarı } (\mu\text{g/ml}) = \text{OD}_{260} \times \text{Sulandırma faktörü} \times 50 \text{ (DNA için sabit sayı)}$$

DNA miktarları hesaplanan örneklerin her birinden 5'er µg DNA alınarak agaroz jel elektroforezine tabi tutuldu. Jel elektroforezi için %1'lik agaroz, jel elektroforez tamponu olan TAE (Tris-Asetik asit-EDTA, pH: 8.00) tamponu içinde

hazırlandı. DNA örnekleri üzerlerine loading buffer eklenerek kuyucuklara yüklendi ve 150 volt 50 amperde yürütüldü. Sonuçlar UV-transüliminatörde değerlendirildi.

2.2.3. İstatistik

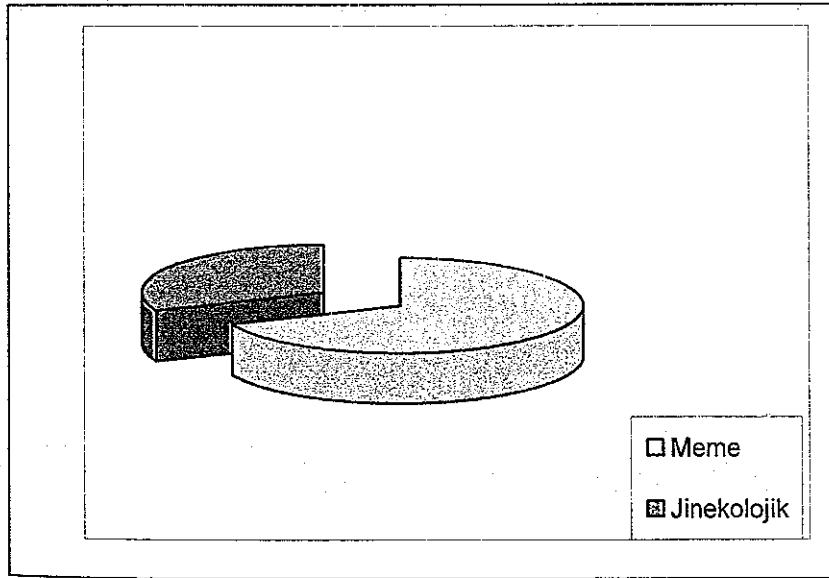
Sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesinde SPSS 10.0 (Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, USA) yazılımı kullanıldı. Grupların karşılaştırılmasında parametrik olmayan testlerden Kruskal Wallis varyans analizi, Spearman Correlation ve Wilcoxon Signed Rank testi kullanıldı. $P < 0.05$ anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR

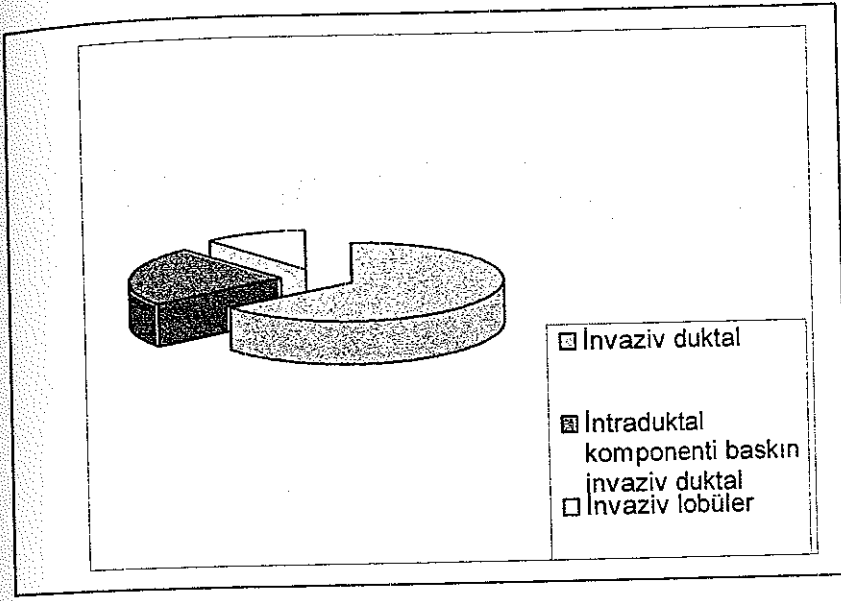
3.1. İmmünohistokimyasal Çalışma Bulguları

3.1.1. Klinikopatolojik Bulgular

Bu çalışmada toplam 59 meme ve 20 jinekolojik tümör olgusu çalışılmıştır. Ancak bazı alt tiplerinde hasta sayısı az olduğundan değerlendirilmeye bu alt tipler alınmamıştır. Ayrıca bu çalışmada 14 olguda parafin dokularda boyanma yapılmış, ancak bunlar da değerlendirmeye alınmamıştır. Çalışmada değerlendirmeye alınan toplam 54 olgunun 37'si (%68.5) meme karsinom tiplerinden, 17'si (%31.5) ise jinekolojik karsinom tiplerinden oluşmaktadır (Şekil 3.1). Toplam 37 meme karsinomu olgularının 24'ü (%64.8) invaziv duktal karsinom, 9'u (%24.3) intraduktal komponenti baskın invaziv duktal karsinom, 4'ü (%10.8) invaziv lobüler karsinomdan oluşmaktadır (Şekil 3.2).

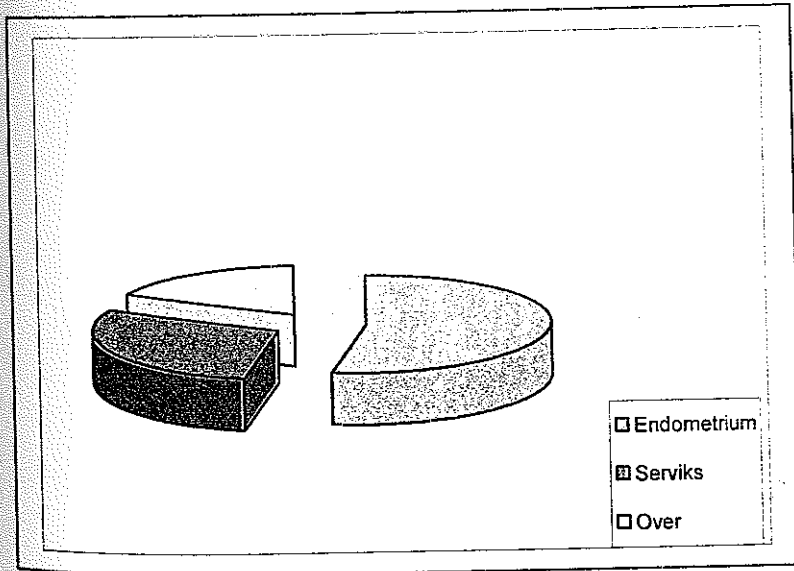


Şekil 3 1. Çalışmada kullanılan olgu tiplerinin dağılımı



Şekil 3.2. Çalışmada kullanılan meme karsinom olgularının alt tiplerine göre dağılımı.

Çalışmada değerlendirilen toplam 17 jinekolojik olguların 9'u (%52.9) endometrium, 5'i (%29.5) serviks ve 3'ü (%17.6) over karsinomlarından oluşmaktadır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Çalışmada kullanılan jinekolojik tümör gruplarının dağılımı.

3.1.2. Olgulara göre yaş dağılımı

Çalışmada kullanılan tüm hastalarda (n=68) yaş ortalaması iken meme karsinoma ve jinekolojik tümör olgularında yaş ortalaması 53.8 olarak bulunmuştur. Meme karsinoma olgularında yaş aralığı 33-92, jinekolojik tümör olgularında ise bu aralık 30-80'dir

3.1.3. İmmünohistokimyasal bulgular

Çalışmada kullanılan tüm meme karsinoma olgularının 22'sinde p53 boyanması negatif bulunmuştur. p53 boyası ile meme karsinomu olgularında en düşük %5 alanda, en yüksek ise %80 alanda pozitif boyanma gözlenmiştir. Tüm meme karsinoma olguları IRF-1 ve IRF-2 bakımından incelendiğinde 19 olguda IRF-1 boyanması, 21 olguda ise IRF-2 boyanması negatif bulunmuştur. Pozitif olgular arasında IRF-1 ile en düşük %10, en yüksek % 90 alanda pozitif boyanma gözlenmiştir. IRF-2 ile boyanan olgular arasında ise en düşük %3, en yüksek %90 alanda pozitif boyanma izlenmiştir (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Meme karsinomalarında p53, IRF-1 ve IRF-2 bakımından pozitif ve negatif olgular.

	Negatif olgu sayısı	Pozitif olgu sayısı
p53	22	23
IRF-1	19	26
IRF-2	21	24

Meme karsinomlarının alt tiplerine göre p53 boyanması incelendiğinde; invaziv duktal karsinomalardan (n=30) 12 (%40) olguda, intraduktal komponenti baskın invaziv duktal karsinomalardan (n=9) 6 (%66.7) olguda, invaziv lobüler karsinoma olgularının (n=6) 4 olguda hiç boyanma gözlenmemiştir. Meme

karsinoma olgularının alt tiplerinde IRF-1 boyanması incelendiğinde; invaziv duktal karsinomalardan (n=30) 15 (%50) olguda, intraduktal komponenti baskın invaziv duktal karsinomalarından (n=9) 4 (%44) olguda, invaziv lobüler karsinomalardan (n=6) 1 (%16.6) olguda boyanma gözlenmemiştir. Çalışmada kullanılan meme karsinoma olgularının alt tiplerinde IRF-2 boyanması incelendiğinde ise; invaziv duktal karsinomalardan (n=30) 15 (%50) olguda, intraduktal komponenti baskın invaziv duktal karsinomalarından (n=9) 4 (%44.4) olguda, invaziv lobüler karsinomalardan (n=6) 2 (%33.3) olguda negatif boyanma izlenmiştir (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. Meme karsinomalarının alt tiplerinde p53, IRF-1 ve IRF-2 bakımından negatif olgular.

	İnvaziv duktal	İntraduktal komp.baskın invazivduktal	İnvaziv lobüler
p53negatif olgu sayısı	12 (%40)	6 (%66.7)	4 (%66.7)
IRF-1negatif olgu sayısı	15 (%50)	4 (%44.4)	1 (%16.6)
IRF-2 negatif olgu sayısı	15 (%50)	4 (%44.4)	2 (%33.3)

Bu çalışmada tüm meme karsinoma olgularında p53, IRF-1 ve IRF-2 ile pozitif boyanan olgu sayısı ve her üçü bakımından da negatif olgu sayısı incelendiğinde; Çizelge 3'deki sonuçlar ortaya çıkmıştır. Bu çizelgede, p53 ile pozitif boyanan olgu sayılarına bakıldığında en yüksek oran (%60) invaziv duktal karsinomalarda, IRF-1 ile pozitif boyanan olgu sayılarına bakıldığında en yüksek oran (%83.3) invaziv lobüler karsinomalarda, IRF-2 ile pozitif boyanan olgu sayılarına bakıldığında en yüksek oran %66.6 ile invaziv lobüler karsinomalarda bulunmuştur. Her üç boya ile de negatif bulunan olgu sayılarına bakıldığında en yüksek oran %33.3 ile intraduktal komponenti baskın invaziv duktal karsinomalarda

bulunurken, ilginç olarak, invaziv lobüler karsinomalarda her üç boya bakımından da negatif hiçbir olguya rastlanmamıştır.

Çizelge 3.3. Meme karsinomalarının alt tiplerinde p53, IRF-1 ve IRF-2 ile pozitif boyanan ve her üçüyle de negatif boyanan olgular.

Meme karsinoma tipi (n)	p53 pozitif olgu sayısı	IRF-1 pozitif olgu sayısı	IRF-2 pozitif olgu sayısı	p53, IRF-1 ve IRF-2 negatif olgu sayısı
İnvaziv duktal (30)	18 (%60)	15 (%50)	15 (%50)	6 (%20)
İntraduktal komponenti baskın invaziv duktal (9)	3 (%33.3)	5 (%55.5)	5 (%55.5)	3 (%33.3)
İnvaziv lobüler (6)	2 (%33.3)	5 (%83.3)	4 (%66.6)	0

Bu çalışmada tüm jinekolojik tümör olgularında p53, IRF-1 ve IRF-2 ile boyanan olgu sayısı ve her üçü bakımından da negatif olgu sayısı incelendiğinde; Çizelge 3.4'deki sonuçlar ortaya çıkmıştır. Bu çizelgede, p53 ile pozitif boyanan olgu sayılarına bakıldığında en yüksek oran (%60) over tümörlerinde, IRF-1 ile pozitif boyanan olgu sayılarına bakıldığında en yüksek oran (%83.3) serviks tümöründe, IRF-2 ile pozitif boyanan olgu sayılarına bakıldığında en yüksek oran %66.6 ile endometrium ve serviks tümörlerinde bulunmuştur. Her üç boya ile de negatif bulunan olgu sayılarına bakıldığında en yüksek oran %40 ile over tümörlerinde bulunurken, ilginç olarak, serviks tümörlerinde her üç boya bakımından da negatif hiçbir olguya rastlanmamıştır.

Çizelge 3.4. Jinekolojik tümörlerin alt gruplarında p53, IRF-1 ve IRF-2 ile pozitif boyanan ve her üçüyle de negatif boyanan olgular.

Jinekolojik tümör grubu (n)	p53 pozitif olgu sayısı	IRF-1 pozitif olgu sayısı	IRF-2 pozitif olgu sayısı	p53, IRF-1 ve IRF-2 negatif olgu sayısı
Endometrium (9)	1 (%11.1)	1 (%11.1)	6 (%66.6)	2 (%22.2)
Serviks (5)	2 (%40)	4 (%80)	3 (%60)	0
Over (3)	2 (%66.6)	2 (%66.6)	2 (%66.6)	1 (%33.3)

Çalışmada kullanılan meme karsinomlarının alt tiplerinde p53, IRF-1 ve IRF-2 bakımından boyanma özellikleri değerlendirildiğinde; invaziv duktal karsinomlarda p53 ile en düşük %5, en yüksek %80 alanda pozitif boyanma izlenirken, IRF-1 ile en düşük %15, en yüksek %90 alanda pozitif boyanma izlenmiştir. IRF-2 ile pozitif boyanan olgulara bakıldığında en düşük %5, en yüksek %80 alanda pozitif boyanma görülmüştür (Çizelge 3.5). İntraduktal komponenti baskın invaziv duktal karsinomlarda p53 ile en düşük %10, en yüksek %50 alanda pozitif boyanma izlenirken, IRF-1 ile en düşük %10, en yüksek %90 alanda pozitif boyanma izlenmiştir. IRF-2 ile pozitif boyanan olgulara bakıldığında en düşük %5, en yüksek %80 alanda pozitif boyanma görülmüştür (Çizelge 3.6). İnvaziv lobüler karsinomlarda p53 ile sadece 1 olguda %80, IRF-1 ile en düşük %15, en yüksek %80 alanda ve IRF-2 ile en düşük %3, en yüksek %70 alanda pozitif boyanma görülmüştür (Çizelge 3.7).

Çizelge 3.5. İnvaziv duktal meme karsinomlarında p53, IRF-1 ve IRF-2 boyanma özellikleri.

Olgu No	p53	IRF-1	IRF-2
1	Negatif	%90	%40
2	%20	Negatif	Negatif
3	%50	Negatif	Negatif
4	%20	Negatif	Negatif
5	Negatif	Negatif	Negatif
6	Negatif	Negatif	Negatif
7	%5	%15	%5
8	%60	%20	%50
9	%70	Negatif	Negatif
10	Negatif	%80	%80
11	Negatif	Negatif	Negatif
12	Negatif	Negatif	%5
13	%20	Negatif	Negatif
14	Negatif	Negatif	Negatif
15	Negatif	%80	%50
16	%30	Negatif	Negatif
17	Negatif	Negatif	Negatif
18	Negatif	%50	Negatif
19	%5	%90	Negatif
20	%5	%90	%5
21	%20	%90	Negatif
22	%60	%90	%15
23	%50	%80	%50
24	%80	%90	%70

Çizelge 3.6. İntraduktal komponenti baskın invaziv duktal karsinomlarda p53, IRF-1 ve IRF-2 boyanma özellikleri.

Olgu No	p53	IRF-1	IRF-2
1	%50	%30	%80
2	%10	%80	%15
3	Negatif	%80	%5
4	Negatif	Negatif	Negatif
5	%40	%40	%30
6	Negatif	Negatif	Negatif
7	Negatif	Negatif	Negatif
8	Negatif	%90	Negatif
9	Negatif	%10	%60

Çizelge 3.7. İnvaziv lobüler karsinomlarda p53, IRF-1 ve IRF-2 boyanma özellikleri.

Olgu No	p53	IRF-1	IRF-2
1	Negatif	%15	%70
2	%80	Negatif	Negatif
3	Negatif	%80	%3
4	Negatif	%70	Negatif

Çalışmada kullanılan jinekolojik tümörlerinden (n=17) 12 (%70.1) olguda p53 boyanması negatif bulunmuşken, pozitif boyanan olgular (n=5) arasında en düşük %20 alanda, en yüksek ise %70 alanda p53 ile pozitif boyanma izlenmiştir. Jinekolojik tümörleri alt gruplarına ayırarak p53 boyanması incelendiğinde; endometriyum tümörlerinin (n=9) 8'inde (%88.8), serviks tümörlerinin (n=5) 3'ünde (%60), over tümörlerinin (n=3) ise sadece 1'inde (%33.3) p53 negatif bulunmuştur.

Jinekolojik tümörler IRF-1 ve IRF-2 ile boyanma bakımından incelendiğinde; IRF-1 ile 10 olguda, IRF-2 ile ise 6 olguda negatif boyanma izlenmiştir (Çizelge 3.8).

Çizelge 3.8. Jinekolojik tümörlerde p53, IRF-1 ve IRF-2 bakımından pozitif ve negatif olgular.

	Negatif olgu sayısı	Pozitif olgu sayısı
p53	12	5
IRF-1	10	7
IRF-2	6	11

Çalışmada kullanılan jinekolojik tümörlerde p53, IRF-1 ve IRF-2 bakımından boyanma özellikleri değerlendirildiğinde; endometrium tümörlerinde p53 ile sadece 1 olguda %30 alanda pozitif boyanma izlenirken, IRF-1 ile %90 alanda pozitif boyanma gözlenmiştir. IRF-2 ile boyanan pozitif olgulara bakıldığında ise en düşük %20, en yüksek %80 alanda pozitif boyanma görülmüştür (Çizelge 3.9). Serviks tümörlerinde p53 ile 1 olguda %20, 1 olguda %50 alanda pozitif boyanma izlenirken, IRF-1 ile 2 olguda %80 ve 2 olguda %90 alanda pozitif boyanma izlenmiştir. IRF-2 ile boyanan pozitif olgulara bakıldığında ise 2 olguda %80, 1 olguda %90 alanda pozitif boyanma görülmüştür (Çizelge 3.10). Over tümörlerinde ise p53 ile 1 olguda %50, 1 olguda %70, IRF-1 ile en düşük %20, en yüksek %80 alanda pozitif boyanma izlenirken, IRF-2 ile 1 olguda %20, 1 olguda %30 alanda pozitif boyanma görülmüştür (Çizelge 3.11).

Çizelge 3.9. Endometrium tümörlerinde p53, IRF-1 ve IRF-2 boyanma özellikleri.

Olgu No	p53	IRF-1	IRF-2
1	Negatif	Negatif	Negatif
2	%30	Negatif	Negatif
3	Negatif	Negatif	%70
4	Negatif	Negatif	Negatif
5	Negatif	Negatif	%20
6	Negatif	Negatif	%60
7	Negatif	Negatif	%40
8	Negatif	%90	%80
9	Negatif	Negatif	%30

Çizelge 3.10. Serviks tümörlerinde p53, IRF-1 ve IRF-2 boyanma özellikleri

Olgu No	p53	IRF-1	IRF-2
1	Negatif	%90	%90
2	Negatif	%80	Negatif
3	Negatif	%90	%80
4	%50	Negatif	Negatif
5	%20	%80	%80

Çizelge 3.11. Over tümörlerinde p53, IRF-1 ve IRF-2 boyanma özellikleri.

Olgu No	p53	IRF-1	IRF-2
1	Negatif	Negatif	Negatif
2	%70	%80	%30
3	%50	%20	%20

Çalışmada kullanılan her iki büyük grup (meme ve jinekolojik, n=54) tümör tiplerinde IRF-1 ve IRF-2 arasındaki ilişkiye bakıldığında nonparametrik testlerden olan Wilcoxon Signed Ranks testine göre bu iki proteinin ekspresyonları arasındaki ilişki istatistiksel olarak oldukça anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$). Yine her iki tümör grubu için (n=54) genel olarak IRF-1 ve p53 ekspresyonları arasında aynı teste göre istatistiksel olarak önemli derecede bir ilişki bulunmuştur ($p < 0.05$). Fakat bu grup (n=54) için IRF-2 ve p53 ekspresyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p > 0.05$). Aynı karşılaştırmalar sadece meme ve sadece jinekolojik tümör grupları için de ayrı ayrı yapılmıştır. Meme tümörlerinde (n=37) ve jinekolojik tümörlerde (n=17) IRF-1 ve IRF-2 ekspresyonları arasında istatistiksel olarak önemli derecede bir korelasyon bulunmuştur ($p < 0.05$). Daha sonra meme kansinomlarının üç farklı tipinde IRF-1, IRF-2 ve p53 arasında ilişki olup olmadığını belirlemek için yapılan istatistiksel testte invaziv duktal kansinomlarda (n=24) IRF-1 ve IRF-2 arasında anlamlı bir korelasyon olduğu ($p < 0.05$), IRF1 ile p53 ekspresyonları veya IRF-2 ile p53 ekspresyonları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığı ($p > 0.05$) bulunmuştur. Meme kansinomlarının diğer iki tipi olan intraduktal komponenti baskın invaziv duktal kansinomlarda (n=9) ve invaziv lobüler kansinomlarda (n=6) ise her üç proteinin ekspresyonları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p > 0.05$). Aynı karşılaştırmalar bu kez jinekolojik tümör tiplerinde yapılmış ve değişik sonuçlar elde edilmiştir. Jinekolojik tümörlerden endometriyum tümörlerinde (n=9) ve over tümörlerinde (n=3) her üç proteinin ekspresyonları arasında istatistiksel olarak önemli bir ilişki bulunmazken ($p > 0.05$), serviks tümörlerinde (n=5) IRF-1 ve p53 ekspresyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunmuştur ($p < 0.05$).

Bu çalışmada, ayrıca, IRF-1 ve IRF-2 ekspresyonlarının, hastanın yaşı ve tümörün çapı parametrelerle de istatistiksel olarak karşılaştırılması yapılmıştır, ancak her iki proteinin de bu faktörlerle arasında istatistiksel olarak önemli derecede ilişki olmadığı bulunmuştur ($p > 0.05$).

Çalışmada kullanılan tüm meme karsinom olgularında (n=37) p53 ile boyanma şiddeti incelendiğinde; 3 (%8.1) olgu hafif derecede (+), 3 (%8.1) olgu orta derecede (++) ve 12 (%32.4) olgu şiddetli derecede (+++) pozitif boyanma gözlenirken, 19 (%51.4) olguda hiç boyanma gözlenmemiştir. IRF-1 ile boyanma şiddeti incelendiğinde; 2 (%5.4) olgu hafif derecede (+), 4 (%10.8) olgu orta derecede (++) ve 15 (%40.5) olgu şiddetli derecede (+++) pozitif boyanma gözlenirken, 16 (%43.2) olguda hiç boyanma gözlenmemiştir. Tüm meme karsinomlarında IRF-2 ile boyanma şiddeti incelendiğinde; 7 (%18.9) olgu hafif derecede (+), 9 (%24.3) olgu orta derecede (++) ve 1 (%2.7) olgu şiddetli derecede (+++) pozitif boyanma gözlenirken, 20 (%54) olguda hiç boyanma gözlenmemiştir (Çizelge 3.12).

Çizelge 3.12. Tüm meme karsinomlarında p53, IRF-1 ve IRF-2 boyanma şiddeti.

OLGU SAYISI				
	Boyanma yok	Hafif (+)	Orta (++)	Şiddetli (+++)
p53	19	3	3	12
IRF-1	16	2	4	15
IRF-2	20	7	9	1

Çalışmada kullanılan meme karsinomlarında p53, IRF-1 ve IRF-2 boyanma şiddetleri alt gruplara göre incelendiğinde; invaziv duktal karsinomlarda (n=24) p53 ile 3 (%12.5) olgu hafif derecede (+), 2 (%8.3) olgu orta derecede (++) ve 9 (%37.5) olgu şiddetli derecede (+++) pozitif boyanırken, 10 (%38.4) olguda hiç boyanma izlenmemiştir. Aynı tip olgularda IRF-1 ile 1 (%4.2) olgu hafif derecede (+), 1 (%4.2) olgu orta derecede (++) ve 10 (%41.2) olgu şiddetli derecede (+++) pozitif boyanırken, 12 (%50) olguda hiç boyanma izlenmemiştir. IRF-2 ile boyanma şiddetine bakıldığında ise; 5 (%20.8) olgu hafif derecede (+), 4 (%16.7) olgu orta derecede (++) ve 1 (%4.2) olgu şiddetli derecede pozitif boyanırken 15 (%62.5) olguda da hiç boyanma izlenmemiştir. (Çizelge 3.13).

Çizelge 3.13. İnvaziv duktal karsinomlarında p53, IRF-1 ve IRF-2 boyanma şiddeti.

OLGU SAYISI				
	Boyanma yok	Hafif (+)	Orta (++)	Şiddetli (+++)
p53	10	3	2	9
IRF-1	12	1	1	10
IRF-2	15	5	4	1

İntraduktal komponenti baskın invaziv duktal karsinomlarda (n=9) p53, IRF-1 ve IRF-2 ile boyanma şiddetine bakıldığında; p53 ile 1 (%11.1) olgu orta derecede (++), 2 (%22.2) olgu şiddetli derecede (+++) pozitif boyanırken, 6 (%66.6) olguda hiç boyanma izlenmemiştir. Aynı tip olgularda IRF-1 ile 1 (%11.1) olgu hafif derecede (+), 2 (%22.2) olgu orta derecede (++), 3 (%33.3) olgu şiddetli derecede (+++) pozitif boyanırken, 3 (%33.3) olguda hiç boyanma izlenmemiştir. IRF-2 ile boyanma şiddetine bakıldığında ise; 1 (%11.1) olgu hafif derecede (+), 4 (%44.4) olgu orta derecede (++) pozitif boyanırken 4 (%44.4) olguda da hiç boyanma izlenmemiştir (Çizelge 3.14).

Çizelge 3.14. İntraduktal komponenti baskın invaziv duktal karsinomlarında p53, IRF-1 ve IRF-2 boyanma şiddeti.

OLGU SAYISI				
	Boyanma yok	Hafif (+)	Orta (++)	Şiddetli (+++)
p53	6	0	1	2
IRF-1	3	1	2	3
IRF-2	4	1	4	0

İnvaziv lobüler karsinomlarda (n=4) p53 ile sadece 1 (%25) olguda şiddetli derecede (+++) pozitif boyanma gözlenirken, 3 (%75) olguda hiç boyanma gözlenmemiştir. IRF-1 ile 1 (%25) olguda orta derecede (++), 2 (%50) olguda şiddetli derecede (+++) pozitif boyanma görülürken, 1 (%25) olguda da hiç boyanma görülmemiştir. Aynı tip olgularda IRF-2 ile 1 (%25) olguda hafif derecede (+), 1 (%25) olguda orta derecede (++) pozitif boyanma izlenirken 2 (%50) olguda da hiç boyanma görülmemiştir (Çizelge 3.15).

Çizelge 3.15. İnvaziv lobüler karsinomlarında p53, IRF-1 ve IRF-2 boyanma şiddeti.

OLGU SAYISI				
	Boyanma yok	Hafif (+)	Orta (++)	Şiddetli (+++)
p53	3	0	0	1
IRF-1	1	0	1	2
IRF-2	2	1	1	0

Çalışmada kullanılan tüm jinekolojik tümör olgularında (n=17) p53 ile boyanma şiddeti incelendiğinde; 1 (%5.8) olguda orta derecede (++), 4 (%23.6) olguda şiddetli derecede (+++) pozitif boyanma gözlenirken, 12 (%70.6) olguda hiç boyanma gözlenmemiştir. IRF-1 ile boyanma şiddeti incelendiğinde; 3 (%17.6) olgu orta derecede (++) ve 4 (%23.5) olgu şiddetli derecede (+++) pozitif boyanma gözlenirken, 10 (%58.9) olguda hiç boyanma gözlenmemiştir. Tüm tüm jinekolojik tümörler IRF-2 ile boyanma şiddeti bakımından incelendiğinde; 8 (%47.1) olguda orta derecede (++) ve 3 (%17.6) olgu şiddetli derecede (+++) pozitif boyanma gözlenirken, 6 (%35.3) olguda hiç boyanma gözlenmemiştir (Çizelge 3.16).

Çizelge 3.16. Tüm jinekolojik tümörlerde p53, IRF-1 ve IRF-2 boyanma şiddeti.

OLGU SAYISI				
	Boyanma yok	Hafif (+)	Orta (++)	Şiddetli (+++)
p53	12	0	1	4
IRF-1	10	0	3	4
IRF-2	6	0	8	3

Çalışmada kullanılan jinekolojik tümörlerin alt sınıflarında p53, IRF-1 ve IRF-2 boyanma şiddeti bakımından değerlendirildiğinde; endometrium tümörlerinde (n=9) p53 ve IRF-1 ile 1 (%11.1) olguda şiddetli derecede (+++) pozitif boyanma izlenirken 8 (%88.8) olguda hiç boyanma izlenmemiştir. Aynı tip olgularda IRF-2 ile 5 (%55.5) olgu orta derecede (++) , 1 (%11.1) olgu şiddetli derecede (+++) pozitif boyanırken, 3 (%33.3) olguda da hiç boyanma gözlenmemiştir (Çizelge 3.17).

Çizelge 3.17. Endometrium tümörlerinde p53, IRF-1 ve IRF-2 boyanma şiddeti.

OLGU SAYISI				
	Boyanma yok	Hafif (+)	Orta (++)	Şiddetli (+++)
p53	8	0	0	1
IRF-1	8	0	0	1
IRF-2	3	0	5	1

Serviks tümörlerinde (n=5) p53, IRF-1 ve IRF-2 ile boyanma şiddetine bakıldığında; p53 ile 2 (%40) olguda şiddetli derecede (+++) pozitif boyanma izlenirken 3 (%60) olguda hiç boyanma gözlenmemiştir. Aynı tip olgularda IRF-1 ile 2 (%40) olguda orta derecede (++) , 2 (%40) olguda şiddetli derecede pozitif boyanma izlenirken, 1 (%20) olguda hiç boyanma izlenmemiştir. IRF-2 ile ise 1

(%20) olguda orta derecede (++), 2 olguda (%40) şiddetli derecede (+++) pozitif boyanma izlenirken, 2 (%40) olguda hiç boyanma izlenmemiştir (Çizelge 3.18).

Çizelge 3.18. Serviks tümörlerinde p53, IRF-1 ve IRF-2 boyanma şiddeti.

OLGU SAYISI				
	Boyanma yok	Hafif (+)	Orta (++)	Şiddetli (+++)
p53	3	0	0	2
IRF-1	1	0	2	2
IRF-2	2	0	1	2

Over tümörlerinde (n=3) p53 ve IRF-1 ile 1 (%33.3) olguda orta derecede (++), 1 (%33.3) olguda şiddetli derecede pozitif boyanma görülmüşken, 1 (%33.3) olguda da hiç boyanma izlenmemiştir. IRF-2 ile 2 (%66.6) olguda orta derecede (++) pozitif boyanma izlenirken, 1 (%33.3) olguda ise hiç boyanma görülmemiştir (Çizelge 3.19).

Çizelge 3.19. Over tümörlerinde p53, IRF-1 ve IRF-2 boyanma şiddeti.

OLGU SAYISI				
	Boyanma yok	Hafif (+)	Orta (++)	Şiddetli (+++)
p53	1	0	1	1
IRF-1	1	0	1	1
IRF-2	1	0	2	0

Bu çalışmada meme ve jinekolojik tümörler kendi aralarında alt tiplerine göre değerlendirildikten sonra bir de tüm meme ve tüm jinekolojik tümörler arasındaki p53 (Çizelge 3.20), IRF-1 (Çizelge 3.21) ve IRF-2 (Çizelge 3.22) boyanma

şiddetleri incelenmiştir. Meme ve jinekolojik tümörlerde p53, IRF-1 ve IRF-2 boyanma şiddetleri arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

Çizelge 3.20. Meme ve jinekolojik tümörler arasında p53 boyanma şiddeti.

		Boyanma yok	Hafif (+)	Orta (++)	Şiddetli (+++)	Toplam
Meme	Olgu sayısı	19	3	3	12	37
	%	51.3	8.1	8.1	32.5	100
Jinekolojik	Olgu sayısı	12	0	1	4	17
	%	70.6	0	5.9	23.5	100

Çizelge 3.21. Meme ve jinekolojik tümörler arasında IRF-1 boyanma şiddeti

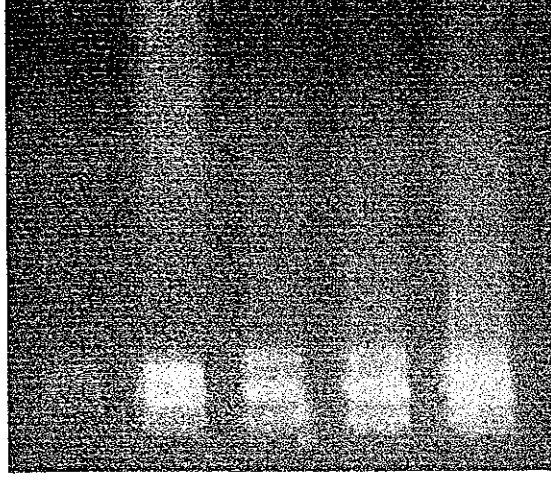
		Boyanma yok	Hafif (+)	Orta (++)	Şiddetli (+++)	Toplam
Meme	Olgu sayısı	16	2	4	15	37
	%	46.4	7.1	21.4	25.0	100
Jinekolojik	Olgu sayısı	10	0	3	4	17
	%	58.8	0	17.7	23.5	100

Çizelge 3.22. Meme ve jinekolojik tümörler arasında IRF-2 boyanma şiddeti.

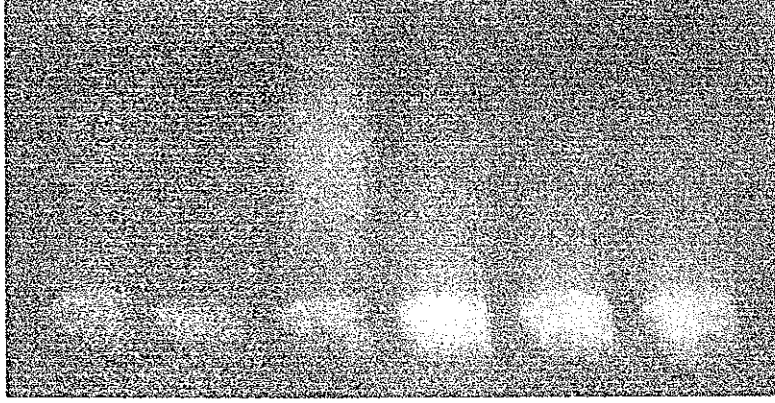
		Boyanma yok	Hafif (+)	Orta (++)	Şiddetli (+++)	Toplam
Meme	Olgu sayısı	20	7	9	1	37
	%	54.1	19	24.3	2.7	100
Jinekolojik	Olgu sayısı	6	0	8	3	17
	%	35.3	0	47.1	17.6	100

3.2. Apoptosis indüksiyonuna ilişkin bulgular

Bu çalışmanın diğer kısmındaki amaç, hem IRF-1 hem de p53 bakımından pozitif olgulardaki apoptosis indüksiyonu ile IRF-1 negatif / p53 pozitif veya IRF-1 pozitif / p53 negatif olgulardaki apoptosis indüksiyonunda bir değişiklik olup olmadığının belirlenebilmesiydi. İzole edilen DNA örnekleri için agaroz jel elektroforezi yapıldı ve sonuçların fotoğrafları çekildi (Şekil 3.4, Şekil 3.5)



Şekil 3.4. Hem IRF-1 hem de p53 bakımından pozitif 5 olgudaki apoptosis indüksiyonu.



Şekil 3.5. IRF-1 negatif / p53 pozitif (ilk 3), IRF-1 pozitif / p53 negatif (son 3) olgudaki apoptosis indüksiyonu.

4. TARTIŞMA

İnterferonlar antiviral, immün düzenleyici ve büyümei inhibe edici özellikleri bulunan hücrel proteinlerdir. Bu sitokinleri kodlayan genler normalde sessizdir, fakat virüsler, sentetik poliribonukleotitler ve diğler sitokinleri içeren doğal ve sentetik ajanlar tarafından hızla aktive olabilirler. IFN- β geni virüsle indüklenabilen gen ekspresyonunun düzenlenmesi çalışmaları için en iyi modellerden biridir (Hiscott vd 1995). IFN- β geninin transkripsiyonunun aktivasyonu, IRF, NfkappaB ve ATF/jun gibi üç farklı transkripsiyon faktörü ailesinin promotora bağlanması ile gerçekleşebilir. IRF-1 ve IRF-2, orijinalde insan IFN- β geninin transkripsiyonel regülasyonu çalışmalarıyla tanımlanan IRF ailesinin en iyi karakterize edilmiş üyeleridir (Fujita vd 1988, Miyamoto vd 1988, Fujita vd 1989, Harada vd 1989).

IRF-1 ve IRF-2, IFN- γ sinyal iletim yolunda da önemli transkripsiyon faktörleridir. IRF-1 tümör hücrelerinde IFN- γ yanıtının oluşturulmasında etkin olarak görev yaparken, ortak DNA dizisine bağlanan IRF-2 ise IRF-1 aktivitesini baskılar. IRF-1 gen ekspresyonunun transkripsiyonel aktivatörü iken IRF-2'nin bu IRF-1'in yaptığı fonksiyonları negatif olarak etkilediği görülmektedir. IFN- γ IRF-1'in güçlü bir indükleyicisi olarak bulunmuştur (Geller vd 1993, Pine vd 1992, Coccia vd 1995) ve IFN- γ hücreler üzerindeki birçok etkisini IRF-1 aracılığıyla göstermektedir. Bu etkileri; makrofajlar tarafından indüklenabilir nitrik oksit sentetaz (iNOS) ekspresyonu (Kamijo vd 1994, Martin vd 1994), major histocompatibility kompleks I (Chang vd 1992, Lim vd 1994, Reis vd 1992) ve II (Hobart vd 1997, Yim vd 1997 IFN- α/β ekspresyonunu (Reis vd 1992, Harada vd 1990, Fujita vd 1989) içermektedir. Buna karşılık IRF-2 IRF-1'den sonra indüklenir ve IRF-1 aracılığıyla oluşan IFN- γ etkilerinin feedback inhibisyonunda rol oynamaktadır. Dolayısıyla IRF-2'nin etkileri onkogeniktir. Örneğin IRF-2 overekspres eden NIH3T3 hücrelerinin transforme hale gelmesi ve bu hücrelerin immün sistemi baskılanmış farelere verildiğinde daha çok tümörojenik etki göstermesi IRF-2'nin potansiyel bir onkoprotein olduğunu desteklemektedir (Harada vd 1993). IRF-2 transforme hücrelerde IRF-1'in overekspresyonunun bu fenotipi geri döndürebilmesi ise IRF-1'in bir tümör supresör protein olduğunu

desteklemektedir (Harada vd 1993). IRF-1 ve IRF-2'nin birbirlerinin antagonistliği olduğu birçok araştırma grubu tarafından gösterilmiştir (Harada vd 1993, Harada vd 1994, Nguyen vd 1995).

IRF-1 ve IRF-2 sadece IFN sisteminin düzenleyicileri olarak fonksiyon görmezler, bunlar aynı zamanda hücre büyümesi ve apoptosisin düzenlenmesinde de anahtar rol oynayan transkripsiyon faktörleridir (Taniguchi vd 1995). Farklı koşullar altındaki hücrelerde, IRF transkripsiyon faktörlerinin farklı genlerin promotorlarıyla olan ilişkileri belirlenerek IRF ailesinin hücreselel yanıtların oluşumundaki rolleri araştırılmıştır (Taniguchi vd 1995). Bu araştırmalar sonucunda özellikle IRF-1'in birçok genin transkripsiyonundan sorumlu olduğu gösterilmiştir. Örneğin Nguyen ve arkadaşları (1999) tarafından yapılan bir çalışmada, IRF-1'in hücre büyümesinin düzenlenmesi, patojenlere karşı yanıt ve immün aktivasyondan sorumlu multifonksiyonel bir transkripsiyon faktörü olduğu söylenmektedir (Nguyen vd 1999). Yapılan bu çalışmada inflamasyon düzenleyicisi ve LPS yanıtının inhibitörü olan SLPI (Secretory leucocyte protease inhibitor) geni IRF-1 regülasyonunun hedef bir geni olarak tanımlanmıştır. Bu da IRF-1'in inflamasyonda da rolü olduğunu göstermektedir (Nguyen vd 1999).

Tanaka ve arkadaşları (1994) tarafından yapılan bir çalışmada IRF-1 geninde null mutasyon taşıyan (IRF-1^{-/-}) bir fareden alınan embriyonik fibroblastların aktif *c-Ha-ras* onkogeninin ekspresyonuyla transforme olabildiği rapor edilmiştir. Bu özellik yabancı tip ya da IRF-2^{-/-} farelerden alınan embriyonik fibroblastlarda gözlenmemiştir. *Ras* ekspres eden IRF-1^{-/-} embriyonik fibroblastlarda bu transforme fenotip IRF-1 cDNA'sının ekspresyonuyla baskılanabilmiştir. Bu da IRF-1'in tümör supresör fonksiyonunun bir göstergesidir. *C-Ha-ras* onkogeninin ekspresyonu, hücre büyümesi baskılanmış veya iyonize radyasyon ya da antikanser ilaçlarla muamele edilmiş yabancı tip embriyonik fibroblastlarda apoptosise neden olurken IRF-1^{-/-} embriyonik fibroblastlarda apoptosise neden olmamıştır. Bu da IRF-1'in apoptosisin ya da onkogenle indüklenmiş hücre transformasyonunun önemli bir belirteci olabileceğini göstermektedir (Tanaka vd 1994).

IRF-1 ayrıca translasyonun negatif bir düzenleyicisi olan PKR/p68 kinaz enzimi geninin transkripsiyonunu da aktive etmektedir. Fosforilasyonla aktif hale geçen PKR/p68 kinaz enzimi ökaryotik translasyon başlatma faktörü eIF-2'nin GTP-GDP değişimini inhibe eder ve sonuçta hücre protein sentezi inhibe olur. Yapılan bir çalışmada PKR ekspresyonunda IRF-1'in rolü araştırılmış ve IRF-1^{-/-} embriyonik fibroblastlarda yabancı tip hücrelere oranla PKR ekspresyonunun azaldığı tespit edilmiştir. Sonuçta PKR IRF-1'in hücre büyümesi ve dolayısıyla tümör baskılayıcı etkisinin bir aracısı olarak fonksiyon gördüğü savunulmuştur (Beretta vd 1996).

Apoptosis programlı hücre ölümü olup birçok fizyolojik ve patolojik durumda rol oynar (Huppertz vd 1999, Reed 2000). Apoptosis sinyalinin iletilmesinde oldukça önemli bir role sahip olan Fas (CD95) transmembran proteini spesifik bağlayıcısı olan FasL (FasLigand)'ye bağlanarak apoptosise neden olur. Fas/FasL sistemi immün sistemin dnegede tutulmasında önemli bir role sahiptir ve sitotoksik T hücreleri ile oluşturulan immün yanıtta görev alır (Boekelheide vd 1998, Chen vd 1998). FasL promotorundaki IRF-1 bağlanma bölgesinin delesyonu ve mutagenesisi FasL ekspresyonunda azalmalara neden olur. Hem IRF-1'in hem de IRF-2'nin güçlü ekepresyonları sitotoksik T hücrelerinde FasL promotorunun aktivasyonuna ve FasL ekspresyonuna sebep olur. Bu sonuçlar IRF ailesinin FasL gen ekspresyonunun düzenlenmesinde ve dolayısıyla sitotoksik T hücreleriyle oluşturulan immün yanıtta görev aldığını göstermektedir (Chow vd 2000).

IRF-1^{-/-} fareler kullanılarak yapılan çalışmalarda IRF-1'in birçok doğal savunma olaylarında da önemli rol oynadığı gösterilmiştir: IRF-1, interferonla indüklenen antiviral ve antibakteriyel yanıtlarda (Kamijo vd 1994, Kimura vd 1994), Th1-tip adaptif immün yanıtta ve NK hücrelerinin gelişiminde (Lohoff vd 1997, Taki vd 1997, Ogasawara vd 1998) gereklidir. Ayrıca, IRF-1, çoğalan T lenfositlerde ve c-Ha-ras'ın aktif formunu ekspres eden MEF (Mouse Embriyonik Fibroblast) hücrelerinde DNA zararıyla indüklenen apoptosis için gereklidir (Tanaka vd 1994b, Tamura vd 1995). İlginç olarak IRF-1, p21 geninin transkripsiyonel aktivasyonuna rağmen, DNA zararıyla indüklenen hücre döngüsünün bloke

edilmesini tümör supresör gen olan p53 ile birlikte düzenlemektedir (Tanaka vd 1996). Nozawa ve arkadaşları (1999) yaptıkları bir çalışmada tümör ekspresyonunda IRF-1 ve p53 arasındaki ilişkiyi p53^{-/-}, IRF-1^{-/-}, ve p53^{-/-} / IRF-1^{-/-} fareler üzerinde araştırmışlardır. Çünkü IRF-1 hücre döngüsünün regülasyonunda p53 ile birlikte çalışır (Tanaka vd 1996) ve IRF-1 ve p53'ün her ikisi de onkogenle indüklenen apoptosis için gereklidir (Tanaka vd 1994b). Nozawa ve grubu bu çalışma sonucunda 200 gün içinde p53^{-/-} farelerin sadece %56'sı tümör gelişimi gösterirken, p53^{-/-} / IRF-1^{-/-} farelerde tümör insidansı %96'ya kadar arttığını söylemektedir (Nozawa vd 1999). Ayrıca, p53^{-/-} / IRF-1^{-/-} farelerde oluşan tümörlerin spektrumunun da belirgin derecede farklılık gösterdiği; lenfoma, angiosarkoma ve immature teratoma insidansının belirgin olarak artarken, thymik lenfoma insidansının azaldığı belirtilmektedir. p53^{-/-} / IRF-1^{-/-} hücrelerin in vivo'da p53^{-/-} hücrelerden daha çok tümör oluşumuna duyarlı oldukları gözlenmiş ve p53^{-/-} / IRF-1^{-/-} farelerin tümöre eğilim fenotiplerinin artması direkt olarak p53^{-/-} / IRF-1^{-/-} hücrelerin onkogenik potansiyellerine bağlanabileceği ileri sürülmektedir (Nozawa vd 1999). Sadece IRF-1'in kendiliğinden kaybı in vivo'da tümör gelişiminde mevcut bir etkiye sahip olmadığı, ancak IRF-1 diğer genetik bozuklukların kombinasyonu ile fonksiyonel olarak inaktif hale geldiğinde tümör insidansı riskinin belirgin derecede arttığı aynı grup tarafından ileri sürülmektedir.

Buradan yola çıkarak bu çalışmada, p53'ün önemi de düşünülerek, p53 ile IRF-1 ve IRF-2 ekspresyonları arasındaki ilişki insan meme karsinomaları ve serviks, over, vajen ve endometrium gibi jinekolojik tümörlerde değerlendirildi. IRF-1 ve IRF-2 ekspresyonları şimdiye kadar sadece insan melanoma karsinomalarında (Lowney vd 1999) ve insan meme karsinomalarında (Doherty vd 2001) gösterilmiştir. Ancak literatür araştırması yapıldığında endometrium, serviks ve over gibi jinekolojik tümörlerde IRF-1 ve IRF-2 ekspresyonunun gösterildiğine dair hiçbir çalışmaya rastlanılmadığı gibi insan meme karsinomalarında ve jinekolojik tümörlerde p53 ile IRF-1 ve IRF-2 arasındaki ilişkinin gösterildiği herhangi bir çalışmaya da rastlanmadı.

Lowney ve arkadaşları (1999) insan melanoma karsinomalarında IRF-1 ve IRF-2'nin boyanma özelliklerini melanoma tipi, yaş, tümör çapı gibi parametrelere göre değerlendirmişlerdir. Bu çalışmada IRF-1 boyanmasının insan melanoma karsinomalarının histomorfolojik özellikleriyle arasındaki ilişki gösterilmektedir (Lowney vd 1999).

Doherty ve arkadaşları (2001) yaptıkları çalışmada, normal meme dokusuyla meme kanserlerinde IRF-1 ve IRF-2 ekspresyonlarını karşılaştırdığında; normal meme dokusunun immünohistokimyasal olarak IRF-1 ekspresyonu gösterirken IRF-2 ekspresyonu göstermediğini, meme kanser dokularında ise IRF-1 ve IRF-2 ekspresyonlarının değiştiğini bulmuştur. Bu çalışmada node-pozitif invaziv duktal kanserlerde normal dokulara oranla IRF-1 ekspresyonunun azaldığı, IRF-2 ekspresyonunun ise normal dokulara oranla arttığı tespit edilmiştir. Bu çalışma sonuçları IRF-1'in tümör baskılayıcı aktivitesi, IRF-2'nin ise onkogenik aktivitesiyle uyumlu bulunmuştur (Doherty vd 2001).

Bizim yaptığımız çalışma ise farklı tümör tiplerinde p53, IRF-1 ve IRF-2 ekspresyonlarının karşılaştırılmasıydı. Çalışmada kullanılan her iki büyük grup (meme ve jinekolojik, n=54) tümör tiplerinde IRF-1 ve IRF-2 arasındaki ilişkiye bakıldığında nonparametrik testlerden olan Wilcoxon Signed Ranks testine göre bu iki proteinin ekspresyonları arasındaki ilişki istatistiksel olarak oldukça anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$). IRF-1 ve IRF-2 arasındaki bu ilişki Doherty ve grubunun sonuçlarını desteklemektedir. Bu gruptan ayrı olarak biz bu çalışmada, ilk kez, jinekolojik tümörlerde de IRF-1 ve IRF-2 ekspresyonları arasında istatistiksel olarak önemli derecede bir korelasyon bulduk ($p < 0.05$).

Nozawa ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 200 gün içinde p53^{-/-} farelerin sadece %56'sı tümör gelişimi gösterirken p53^{-/-}/IRF-1^{-/-} farelerde tümör sıklığı %96'ya kadar arttığı gösterilmiştir (Nozawa vd 1999). Buradan yola çıkarak bu çalışmada insan meme ve jinekolojik tümörlerinde de p53 ve IRF-1 arasında bir ilişki olup olmadığı araştırıldı. Sonuçta; her iki tümör grubu için (n=54) genel olarak IRF-1 ve p53 ekspresyonları arasında istatistiksel olarak önemli derecede bir ilişki

bulunmuştur ($p < 0.05$). Fakat bu grup ($n=54$) için IRF-2 ve p53 ekspresyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p > 0.05$). Aynı karşılaştırmalar sadece meme ve sadece jinekolojik tümör grupları için de ayrı ayrı yapılmıştır. Meme tümörlerinde ($n=37$) ve jinekolojik tümörlerde ($n=17$) IRF-1 ve IRF-2 ekspresyonları arasında istatistiksel olarak önemli derecede bir korelasyon bulunmuştur ($p < 0.05$). Daha sonra meme karsinomalarının üç farklı tipinde IRF-1, IRF-2 ve p53 arasında ilişki olup olmadığını belirlemek için yapılan istatistiksel testte invaziv duktal karsinomalarda ($n=24$) IRF-1 ve IRF-2 arasında anlamlı bir korelasyon olduğu ($p < 0.05$), IRF1 ile p53 ekspresyonları veya IRF-2 ile p53 ekspresyonları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığı ($p > 0.05$) bulunmuştur. Meme karsinomalarının diğer iki tipi olan intraduktal komponenti baskın invaziv duktal karsinomalarda ($n=9$) ve invaziv lobüler karsinomalarda ($n=4$) ise her üç proteinin ekspresyonları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p > 0.05$).

Aynı karşılaştırmalar bu kez jinekolojik tümör tiplerinde yapılmış ve değişik sonuçlar elde edilmiştir. Jinekolojik tümörlerden endometrium tümörlerinde ($n=9$) ve overi tümörlerinde ($n=3$) her üç proteinin ekspresyonları arasında istatistiksel olarak önemli bir ilişki bulunmazken ($p > 0.05$), serviks tümörlerinde ($n=5$) IRF-1 ve p53 ekspresyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunmuştur ($p < 0.05$).

Bu çalışmada, ayrıca, IRF-1 ve IRF-2 ekspresyonlarının, hastanın yaşı ve tümörün çapı parametreleriyle de istatistiksel olarak karşılaştırılması yapılmıştır, ancak her iki proteinin de bu faktörlerle arasında istatistiksel olarak önemli derecede ilişki olmadığı bulunmuştur ($p > 0.05$).

Bu çalışmanın diğer kısmındaki amaç, hem IRF-1 hem de p53 bakımından pozitif olgulardaki apoptosis induksiyonu ile IRF-1 negatif / p53 pozitif veya IRF-1 pozitif / p53 negatif olgulardaki apoptosis induksiyonunda bir değişiklik olup olmadığını belirlenebilmesiydi. Ancak yukarıda bahsedilen olgularda gözlenen DNA fragmentasyonunun birbirine benzer düzeylerde olması tümör tiplerinde farklı

genlerin de işe karışmış olabileceğini düşündürmektedir (Şekil 3.4, Şekil 3.5) Bu nedenle daha sonraki bir çalışmada IRF-1 geni knock out edilmiş hücrelerle yabancı tip IRF-1 genini ekspres eden hücreler arasındaki apoptosis indüksiyonunun farklılığının gösterilmesi daha anlamlı sonuçlar verecektir. Bunun yanında, yukarıda bahsedilen hücrelerle hem IRF-1 hem de p53 geni knock out edilmiş hücreler arasındaki apoptosis indüksiyonunun belirlenmesi ile apoptosis üzerinde IRF-1 ve p53 arasındaki ilişki çok daha kesinlik kazanacaktır.

5. SONUÇ

Çalışmaya alınan toplam 54 olgunun 37'si (%68.5) meme karsinom tiplerinden, 17'si (%31.5) ise jinekolojik karsinom tiplerinden oluşmaktadır (Şekil 3.1). Toplam 37 meme karsinomu olgularının 24'ü (%64.8) invaziv duktal karsinom, 9'u (%24.3) intraduktal komponenti baskın invaziv duktal karsinom, 4'ü (%10.8) invaziv lobüler karsinomdan oluşmaktadır (Şekil 3.2).

Çalışmada kullanılan meme ve jinekolojik tümörler arasında p53, IRF-1 ve IRF-2 boyanma şiddetleri arasında (Çizelge 3.20, 3.21, 3.22) istatistiksel olarak önemli derecede fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

Çalışmada kullanılan her iki büyük grup (meme ve jinekolojik, $n=54$) tümör tiplerinde IRF-1 ve IRF-2 arasındaki ilişkiye bakıldığında nonparametrik testlerden olan Wilcoxon Signed Ranks testine göre bu iki proteinin ekspresyonları arasındaki ilişki istatistiksel olarak oldukça anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Ayrıca bu çalışmada, ilk kez, jinekolojik tümörlerde de IRF-1 ve IRF-2 ekspresyonları arasında istatistiksel olarak önemli derecede bir korelasyon bulduk ($p<0.05$).

Bu çalışmada, ayrıca, ilk kez tarafımızdan, her iki tümör grubu için ($n=54$) genel olarak IRF-1 ve p53 ekspresyonları arasında istatistiksel olarak önemli derecede bir ilişki olduğu bulunmuştur ($p<0.05$). Fakat bu grup ($n=54$) için IRF-2 ve p53 ekspresyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p>0.05$). Aynı karşılaştırmalar sadece meme ve sadece jinekolojik tümör grupları için de ayrı ayrı yapılmıştır. Meme tümörlerinde ($n=37$) ve jinekolojik tümörlerde ($n=17$) IRF-1 ve IRF-2 ekspresyonları arasında istatistiksel olarak önemli derecede bir korelasyon bulunmuştur ($p<0.05$).

Tümör baskılayıcı protein olan p53 patoloji laboratuvarlarında özellikle meme kanserlerinde bir prognostik faktör olarak kullanılmaktadır. Biz de bu çalışmada meme karsinomalarında IRF-1 ve IRF-2 arasındaki ilişkinin önemli olduğunu bulduk. Dolayısıyla, bu çalışmanın, daha fazla sayıda hasta kullanılarak yapılacak

daha sonraki çalışmalarla, tümör baskılayıcı gen ürünü IRF-1 ve onkogenik aktiviteye sahip IRF-2'nin de prognostik faktörler arasına katılması yönünde ışık tutacağını düşünmekteyiz.

Bu tez çalışması, IRF-1 ve IRF-2 ekspresyonlarının meme ve özellikle jinekolojik tümörlerde gösterilmesi bakımından, bu konuda yapılacak daha sonraki bilimsel çalışmalara ışık tutacağı kanısındayız. Jinekolojik olgularda ilk kez bu proteinlerin ekspresyonlarının gösterilmiş olmasının önemli olduğunu ve bu konuda daha fazla hasta grubunda çalışılarak yeni bilgiler elde edileceğini düşünmekteyiz.

6. KAYNAKLAR

- AU, W.C., RAJ, N.B.K., PITHA, P.M. 1992. Distinct Activation of Murine Interferon-alpha Promoter Region by IRF-1/ISGF-2 and Virus Infections. *Nucleic Acids Res*, 20: 2877-2884.
- AU, W.C., MOORE, P.A., LOWTHER, W., JUANG, Y.T., PITHA, P.M. 1995. Identification of a Member of the IFN Regulatory Factor Family That Binds to the IFN-stimulated Response Element and Activates Expression of Interferon-induced Genes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 92: 11657-11661.
- BARON, S., COPENHAVER, D.H., DIANZANI, F. 1992. Interferon. *Principles and Medical Applications*, 212-213.
- BERETTA, L., GABBAY, M., BERGER, R., HANASH, S.M., SONENBERG, N. 1996. Expression of the Protein Kinase PKR is Modulated by IRF-1 and is Reduced in 5q-associated leukemias. *Oncogene*, 12(7): 1593-1596.
- BOEKELHEIDE, K., LEE, J., SHIPP, E.B. 1998. Expression of fas System-related Genes in the Testis During Development and After Toxicant Exposure. *Toxicology Lett*, 102: 503-508.
- BOULTIWOOD, J., FIDLER, C., LEWIS, S., MACCARTHY, A., SHERIDAN, H., KELLY, S., OSCIER, D., BUCKLE, V.J., WAINSCOAT, J.S. 1993. Allelic loss of IRF-1 in Myelodysplasia and Acute Myeloid Leukemia: Retention of IRF-1 on the 5q-chromosome in Some Patients with 5q-syndrome. *Blood*, 82(9): 2611-2616.
- BRANCA, A. and BANGLIONI, C. 1981. Evidence that Type I and Type II IFNs have Different Receptors. *Nature*, 294: 768-770.

- CHA, Y., DEISSEROTH, A B. 1994. Human Interferon Regulatory Factor 2 Gene. Intron-exon Organization and Functional Analysis of 5'-flanking Region. *J Biol Chem*, 269(7): 5279-5287.
- CHANG, C.H., HAMMER, J., LOH, J.E., FODOR, W.L., FLAVELL, R.A. 1992. The Activation of Major Histocompatibility Complex Class I Genes by IRF-1. *Immunogenetics*, 35: 378-384.
- CHOW, W.A., FANG, J.J., YEE, J.K. 2000. The IFN Regulatory Factor Family Participates in Regulation of Fas Ligand Gene Expression in T Cells. *J Immunol*, 164(7): 3512-3518.
- DE MAEYER, E., DE MAEYER-GUIGNARD, J. 1988. Interferons and other Regulatory Cytokines. *John Wiley&Sons*, Newyork.
- DOHERTY, G.M., BOUCHER, L., SORENSON, K., LOWNEY, J. 2001. Interferon Regulatory Factor Expression in Human Breast Cancer. *Ann Surg*, 233: 623-629.
- DONZE, O., JAGUS, R., KOROMILAS, A.E., HERSHEY, J.W.B., SONENBERG, N. 1995. Abrogation of Translation Initiation Factor eIF-2 Phosphorylation Causes Malignant NI3T3 Cells. *EMBO J*, 14(15): 3828-3834.
- DRIGGERS, P.H., ENNIST, D.L., GLEASON, S.L. 1990. An Interferon Gamma-Regulated Protein that Binds the Interferon-Inducible Enhancer Element of Major Histocompatibility Complex Class I Genes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 87: 3743-3747.
- EASON, D.D., SHEPHERD, A.I., BLANCK, G. 1999. Interferon Regulatory Factor 1 Tryptophan 11 to Arginine Point Mutation Abolishes DNA Binding. *Biochim Biophys*, 1446(1-2): 140-144.

- EISENBEIS, C.F., SINGH, H., STORB, U. 1995. Pip, a Novel IRF Family Member, is a Lymphoid-specific, PU.1-dependent Transcriptional Activator. *Genes&Dev*, 9: 1377-1387.
- EVANS, R.M., HOLLENBERG, S.M. 1988. Zinc Finger: Gilt by Association. *Cell*, 52: 1-3.
- FAIRBANKS, ANDERSEN, 1999. Genetics The Continuity of Life. Brooks/Cole Publishing Company, USA, 820 pp.
- FENG, G.S., TAYLOR, M.W. 1989. Interferon-gamma Resistant Mutants are Defective in the Induction of Indolamine 2,3-dioxygenase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 86: 7144-7148.
- FLOWERS, C.C., FLOWERS, S.P., NABEL, G.J. 1998. Kaposi's Sarcoma-associated Herpesvirus Viral Interferon Regulatory Factor Confers Resistance to the Antiproliferative Effect of IFN-alpha. *Mol Med*, 4(6): 402-412.
- FUJITA, I., SAKAKIBARA, J., SUDO, Y., MIYAMOTO, M., KIMURA, Y., TANIGUCHI, I. 1988. Evidence for a Nuclear Factor(s), IRF-1, Mediating Induction and Silencing Properties to Human IFN-beta Gene Regulatory Elements. *EMBO J*, 7: 3397-3405.
- FUJITA, I., KIMURA, Y., MIYAMOTO, M., BARSOUMIAN, E.L., TANIGUCHI, I. 1989. Induction of Endogenous IFN- α and IFN- β Genes by a Regulatory Transcription Factor IRF-1. *Nature*, 337: 270-272.

- GALABRU, J., HOVANESSION, A.G. 1985. Two Interferon Proteins are Involved in the Protein Kinase Complex Dependent on Double-stranded RNA. *Cell*, 43: 685-694.
- GEBRANIOUS, N., DONEHOWER, L.A. 1998. Mouse Models in Tumor Suppression. *Oncogene*, 17: 3385-3400.
- GELLER, D.A., NGUYEN, D., SHAPIRO, R.A. 1993. Cytokine Induction of IRF-1 in Hepatocytes. *Surgery*, 114: 235-242.
- HARADA, H., FUJITA, I., MIYAMOTO, I., KIMURA, Y., MARUYAMA, M., FURIA, A., MIYATA, T., TANIGUCHI, T. 1989. Structurally Similar but Functionally Distinct Factors, IRF-1 and IRF-2, Bind to the Same Regulatory Elements of IFN and IFN-inducible Genes. *Cell*, 58: 729-739.
- HARADA, H., WILLISON, K., SAKAKIHARA, J., MIYAMOTO, M., FUJITA, I., TANIGUCHI, I. 1990. Absence of the Type I IFN System in EC Cells: Transcriptional Activator (IRF-1) and Repressor (IRF-2) Genes are Developmentally Regulated. *Cell*, 63: 303-312.
- HARADA, H., KITAGAWA, M., TANAKA, N., YAMAMOTO, H., HARADA, K., ISHIARA, M., TANIGUCHI, I. 1993. Anti-oncogenic and Oncogenic Potentials of Interferon Regulatory Factors-1 and -2. *Science*, 259: 971-974.
- HARADA, H., TAKAHASHI, E.I., ITOH, S., HARADA, K., HORI, T.A., TANIGUCHI, I. 1994. Structure and Regulation of the Human Interferon Regulatory Factor 1 (IRF-1) and IRF-2 Genes: Implications for a Gene Network in the Interferon System. *Mol Cell Biol*, 14(2): 1500-1509.

- HARADA, H., TANIGUCHI, T., TANAKA, N. 1998. The Role of Interferon Regulatory Factors in the Interferon System and Cell Growth Control. *Biochemie*, 80: 641-650.
- HENDERSON, Y.C., CHOU, M., DEISSEROTH, A.B. 1997. Interferon Regulatory Factor 1 Induces the Expression of the Interferon-stimulated Genes. *Br J Haematol*, 96(3): 566-575.
- HISCOTT, J., NGUYEN, H., LIN, R. 1995. Molecular mechanisms of interferon beta gene induction. *Semin Virol*, 6: 161-173.
- HOBART, M., RAMASSAR, V., GOES, N., CIMSON, J., HALLORAN, P.F. IFN Regulatory Factor-1 Plays a Central Role in the Regulation of the Expression of Class I and II MHC Genes in vivo. *J Immunol*, 158: 4260-4269.
- HUNTER, I., HUNTI, I., JACKSON, R.J. 1975. The Characteristics of Inhibition of Protein Synthesis by Double-stranded Ribonucleic Acid in Reticulocyte Lysates. *J Biol Chem*, 250: 409-417.
- HUPPERTZ, B., FRANK, H.G., KAUFMAN, P. 1999. The Apoptosis Cascade-morphological and Histochemical Methods for its Visualization. *Anatomy Embryology*, 200: 1-18.
- İMİR, N.G., FIŞKIN, K., ÖZEŞ, O.N. 2002. İmmün Modülatör ve Tümör Supressör Olarak IRF-1. *THOD*, 12(2): 107-113.
- JACKS, I. 1996. Lessons from the p53 Mutant Mouse. *J Cancer Res Clin Oncol*, 122: 319-327.
- KAMIJO, R., HARADA, H., MAISUYAMA, T., BOSLAND, M., CERECITANO, J., SHAPIRO, KOH, S.I., KIMURA, I., GREEN, S.J., MAK, T.W.,

- TANIGUCHI, T. 1994. Requirement of Transcription Factor IRF-1 in NO Synthase Induction in Macrophages. *Science*, 263: 1612-1615.
- KIMURA, T., NAKAYAMA, K., PENNINGER, J., KITAGAWA, M., HARADA, H., MATSUYAMA, I., TANAKA, N., KAMIJO, R., VILCEK, J., MAK, T.W., TANIGUCHI, T. Involvement of the IRF-1 Transcription Factor in antiviral Responses to Interferons. *Science*, 264: 1921-1924.
- KIRCHHOFF, S., SCHAPER, F., HAUSER, H. 1993. Interferon Regulatory Factor 1 (IRF-1) Mediates Cell Growth Inhibition by Transactivation of Downstream Target Genes. *Nucleic Acids Res*, 21(12): 2881-2889.
- KIRCHHOFF, S., WILHELM, D., ANGEL, P., HAUSER, H. 1999. NFkappaB Activation is Required for Interferon Regulatory Factor-1-mediated Interferon Beta Induction. *Eur J Biochem*, 261(2): 546-554.
- KONDO, T., MINAMINO, N., NAGAMURA-INOUE, T., MATSUMOTO, M., TANIGUCHI, T., TANAKA, N. 1997. Identification and Characterization of Nucleophosmin/B23/Numatrin which Binds the Anti-oncogenic Transcription Factor IRF-1 and Manifests Oncogenic Activity. *Oncogene*, 15(11): 1275-1281.
- KOROMILAS, A.E., ROY, S., BARBER, G.N., KATZE, M.G., SONENBERG, N. 1992. Malignant Transformation by a Mutant of the Interferon-inducible ds-RNA Dependent Protein Kinase. *Science*, 257: 1685-1689.
- LIN, R. and HISCOTT, J. 1999. A Role for Casein Kinase II Phosphorylation in the Regulation of IRF-1 Transcriptional Activity. *Mol Cell Biol*, 19: 169-180.
- LOHOFF, M., FERRICK, D., MITTRUCKER, M.W., DUNCAN, G.S., BISCHOF, S., ROLLINHOFF, M., MAK, I.W. 1997. Interferon Regulatory Factor-

1 is Required for T-helper I Immun Response in vivo. *Immunity*, 6: 681-689.

LOWNEY, J.K., BOUCHER, L.D., SWANSON, P.E., DOHERTY, G.M. 1999. Interferon Regulatory Factor-1 and -2 Expression in Human Melanoma Specimens. *Ann Surg Oncol*, 6(6): 604-608.

MAO, P.L., JIANG, Y., WEE, B.Y. et al. 1998. Activation of Caspase-1 in the Nucleus Requires Nuclear Translocation of Pro-caspase-1 Mediated by its Prodomain. *J Biol Chem*, 273(37): 23621-23624.

MARTIN, E., NATHAN, C., XIE, Q.W. 1994. Role of IRF-1 in Induction of Nitric Oxide Synthase. *J Exp Med*, 180: 977-984.

MAISUYAMA, I., KIMURA, T., KITAGAWA, M., PFEFFER, K., KAWAKAMI, T., WATANABE, N., KUNDING, T.M., AMAKAWA, R., KISHIHARA, K., WAKEHAM, A. 1993. Targeted Disruption of IRF-1 or IRF-2 Results in Abnormal Type I IFN Gene Induction and Aberrant Lymphocyte Development. *Cell*, 75(1): 83-97.

MAISUYAMA, I., GROSSMAN, A., MITTRUCKER, H.W. 1995. Molecular Cloning of LISRF, a Lymphoid-specific Member of the Interferon Regulatory Factor Family that Binds the Interferon-stimulated Response Element (ISRE). *Nucleic Acids Res*, 23: 2127-2136.

MERIKA, M., WILLIAMS, A.J., CHEN, G. 1998. Recruitment of CBP/p300 by the IFN-beta enhanceosome is Required for Synergistic Activation of Transcription. *Mol Cell Biol*, 1: 277-287.

MEURS, E., CHONG, K., GALABRU, J. 1990. Molecular Cloning and Characterization of the Human ds-RNA Activated Protein Kinase Induced by Interferons. *Cell*, 62: 379-390.

- MEURS, E.F., GALABRU, J., BARBER, G.N., KATZE, M.G., HOVANESSIAN, A.G. 1993. Tumor Suppressor Function of the Interferon Induced dsRNA Activated Protein Kinase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 90: 232-236.
- MIYAMOTO, M., FUJITA, I., KIMURA, Y., MARUYAMA, M., HARADA, H., SUDO, Y., MIYATA, T., TANIGUCHI, I. 1988. Regulated Expression of a Gene Encoding a Nuclear Factor, IRF-1, That Specifically Binds to IFN-beta Gene Regulatory Elements. *Cell*, 54: 903-913.
- MOORE, P.S., BOSHOFF, C., WEISS, R.A. 1996. Molecular Mimicry of Human Cytokine and Cytokine Response Pathway Genes by KSHV. *Science*, 274: 1739-1744.
- NAKAGAWA, K., and YOKOSAWA, H. 2000. Degredation of Transcription Factor IRF-1 by the Ubiquitin-Proteasome Pathway. The C-terminal Region Governs the Protein Stability. *Em J Biochem*, 267(6): 1680-1686.
- NGUYEN, H., MUSTAFA, A., HISCOTT, J., LIN, R. 1995. Transcription Factor IRF-2 Exerts its Oncogenic Phenotype Through the DNA Binding/Transcription Repression Domain. *Oncogene*, 11(3): 537-544.
- NGUYEN, H., IESKEY, L., LIN, R., HISCOTT, J. 1999. Identification of The Secretory Leukocyte Protease Inhibitor (SLPI) as a Target of IRF-1 Regulation. *Oncogene*, 18(39): 5455-5463.
- NOZAWA, H., ODA, E., UEDA, S., TAMURA, G., MAESAWA, C., MUTO, T., TANIGUCHI, T., IANAKA, N. 1998. Functionally Inactivating Point Mutation in the Tumor Suppressor IRF-1 Gene Identified in Human Gastric Cancer. *Int J Cancer*, 77: 522-527.

NOZAWA, H., ODA, E., NAKAO, K., ISHIARA, M., UEDA, S., YOKOCHI, T., OGASAWARA, K., NAKATSURU, Y., SHIMIZU, S., OHIRA, Y., HIOKI, K., AIZAWA, S., ISHIKAWA, T., KATSUKI, M., MUTO, T., TANIGUCHI, T., TANAKA, N. 1999. Loss of Transcription Factor IRF-1 Affects Tumor Susceptibility in Mice Carrying the Ha-ras Transgene or Nullizyosity for p53. *Genes&Dev*, 13: 1240-1245.

OGASAWARA, S., TAMURA, G., MAESAWA, SUZUKI, Y., ISHIDA, K., SATOH, N., UESUGI, N., SAITO, K., SAITODATE, S. 1996. Common Deleted Region on the Long Arm of Chromosome 5 in esophageal Carcinoma. *Gastroenterology*, 110: 52-57.

OGASAWARA, K., HIDA, S., AZIMI, N., TAGAYA, Y., SATO, T., YOKOCHI-FUKUDA, T., WALDMAON, T.A., TANIGUCHI, T., TAKI, S. 1998. Requirement for IRF-1 in the Microenviroment Supporting Development of Natural Killer Cells. *Nature*, 391: 700-703.

OZES, O.N., TAYLOR, M.W. 1993. Reversal of IFN-gamma Resistant Phenotype by Poly I:C. Possible Involvement of Double-stranded RNA Dependent Kinase in IFN-gamma-mediated Induction of the Protein Kinase PKR. *J Interferon Res*, 13: 283-288.

OZES, O.N., TAYLOR, M.W. 1994. Reversal of IFN-gamma Resistant Phenotype by Poly I:C. Possible Involvement of Interferon Responsive Factor 1 (IRF-1) in IFN-gamma-mediated Induction of the Indolamine 2,3-dioxygenase (IDO) Gene. *J Interferon Res*, 14: 25-32.

PABO, C.O., SAUER, R.T. 1984. Protein-DNA Recognition. *Annu Rev Biochem*, 53: 293-321.

- PESTKA, S., LANGER, A.J., ZOON K. 1987. Interferons and their Actions. *Annu Rev Biochem*, 56: 727-777.
- PINE, R. 1992. Constitutive Expression of an ISGF2/IRF1 Transgene Leads to Interferon-Dependent Activation of Interferon Inducible Genes and Resistance to Virus Infection. *J Virol*, 66: 4470-4478.
- PROST, S., BELLAMY, C.O.C., CUNNINGHAM, D.S., HARRISON, D.J. 1998. Altered DNA Repair and Dysregulation of p53 in IRF-1 Null Hepatocytes. *FASEB J*, 12: 181-188.
- RED, J.J. 2000. Mechanisms of Apoptosis. *American J Pathology*, 157: 1415-1430.
- REIS, L.F.L., HARADA, H., WOLCHOK, J.D., IANIGUCHI, I., VILCEK, J. 1992. Critical Role of a Common Transcription Factor, IRF-1, in the Regulation of IFN-beta and IFN-inducible Genes. *EMBO J*, 11: 185-193.
- SAITO, H., TADA, S., EBINUMA, H., WAKABAYASHI, K., TAKAGI, I., SAITO, Y., NAKAMOTO, N., KURITA, S., ISHII, H. 2001. Interferon Regulatory Factor 1 Promoter Polymorphism and Response to Type I Interferon. *J Cell Biochem*, 122: 191-200.
- SAMUEL, C.E., KNUITSON, G.S. 1982. Mechanism of Interferon Action: eIF-2a Phosphatase in Interferon-treated Mouse Fibroblasts is Double-stranded RNA Dependent. *J Interferon Res*, 2: 441-445.
- SEN, G.C., RANSHOFF, R.M. 1993. Interferon-induced Antiviral Actions and their Regulation. *Adv Virus Res*, 42: 57-102.
- SPINK, J., EVANS, I. 1997. Binding of the Transcription Factor Interferon Regulatory Factor-1 to the Inducible Nitric-oxide Synthase Promoter. *J Biol Chem*, 272(39): 24417-24425.

- TAKI, S., SATO, T., OGASAWARA, K., FUKUDA, T., SATO, M., HIDA, S., SUZUKI, G., MATSUYAMA, M., SHIN, E.H., KOJIMA, S., TANIGUCHI, I., ASANO, Y. 1997. Multistage Regulation of Th1-type Immun Responses by the Transcription Factor IRF-1. *Immunity*, 6: 673-679.
- TAMURA, T., ISHIARA, M., LAMPHIER, M.S., TANAKA, N., OISHI, I., AIZAWA, S., MATSUYAMA, I., MAK, I.W., TAKI, S., TANIGUCHI, I. 1995. An IRF-1-dependent Pathway of DNA Damage-induced Apoptosis in Mitogen-activated T Lymphocytes. *Nature*, 376: 596-599.
- TAMURA, G., OGASAWARA, S., NISHIZUKA, S., SAKATA, K., MAESAWA, C., SUZUKI, Y., TERASHIMA, M., SAITO, K., SATODATE, R. 1996. Two Distinct Regions of Deletion on the Long Arm of Chromosome 5 in Differentiated Adenocarcinomas of the Stomach. *Cancer Res*, 56: 612-615.
- TANAKA, N., KAWAKAMI, T., TANIGUCHI, T. 1993. Recognition DNA Sequences of Interferon Regulatory Factor 1 (IRF-1) and IRF-2, Regulators of Cell Growth and the Interferon System. *Mol Cell Biol*, 13(8): 4531-4538.
- TANAKA, N., ISHIARA, M., TANIGUCHI, I. 1994a. Suppression of c-myc or fosB-induced Cell Transformation by the Transcription Factor IRF-1. *Cancer Lett*, 83: 191-196.
- TANAKA, N., ISHIARA, M., KITAGAWA, M., HARADA, H., KIMURA, I., MATSUYAMA, I., LAMPHIER, M.S., AIZAWA, S., MAK, I.W., TANIGUCHI, I. 1994b. Cellular Commitment to Oncogene-induced

Transformation or Apoptosis is Dependent on the Transcription Factor IRF-1. *Cell*, 77: 829-839.

TANAKA, N., ISHIARA, M., LAMPHIER, M.S., NOZAWA, H., MATSUYAMA, T., MAK, I.W., AIZAWA, S., IOKINO, I., OREN, M., TANIGUCHI, I. 1996. Cooperation of the Tumor Suppressors IRF-1 and p53 in Response to DNA Damage. *Nature*, 387: 816-818.

TANIGUCHI, I., HARADA, H., LAMPHIER, M. 1995. Regulation of the Interferon System and Cell Growth by the IRF Transcription Factors. *J Cancer Res Clin Oncol*, 121(9-10): 516-520.

VEALS, S.A., SCHINDLER, C., LEONARD, D. 1992. Subunit of Alpha-Interferon-Responsive Transcription Factor is Related to Interferon Regulatory Factor and Myb Families of DNA Binding Proteins. *Mol Cell Biol*, 12: 3315-3324.

VILCEK J. 1990. Interferons. In: Sporn, M.A., Roberts, B. (Editors). Peptide Growth Factors and their Regulation. II. Springer-Verlag, 457-494, Berlin.

WEISSMAN, C. and WEBER, H. 1986. The Interferon Genes. *Prog Nuc Acid Res Mol Biol*, 33: 251-261.

WILLMAN, C.L., SEVER, C.E., PALLAVICINI, M.G., HARADA, H., TANAKA, N., SLOVAK, M.L., YAMAMOTO, H., HARADA, K., MEEKER, I.C., LIST, A.F., TANIGUCHI, I. 1993. Deletion of IRF-1, Mapping to Chromosome 5q31.1, in Human Leukemia and Preleukemic Myelodysplasia. *Science*, 259: 968-971.

YAMATAGA, T., NISHIDA, J., TANAKA, T. 1996. A novel Interferon Regulatory Factor Family Transcription Factor, ICSAT/Pip/LISRF, that Negatively

Regulates the Activity of Interferon-Regulated Genes. *Mol Cell Biol*, 16: 1283-1294.

YIM, J.H., WU, S.J., CASEY, M.J., NORTON, J.A., DOHERTY, G.M. Interferon Regulatory Factor-1 Gene Transfer into an Aggressive Nonimmunogenic Sarcoma Suppress the Malignant Phenotype and Enhances Immunogenicity in Syngeneic Mice. *J Immunol*, 158: 1284-1292.

ZEYTUN, A., HASSUNEH, M., NAGARKATTI, M. 1997. Fas-Fas Ligand-based Interactions Between Tumor Cells and Tumor-specific Cytotoxic T Lymphocytes: A Lethal Two-Way Street. *Blood*, 90(5): 1952-1959.

ZHANG, L., PAGANO, J.S. 1997. IRF-7, a New Interferon Regulatory Factor Associated with Epstein-Barr Virus Latency. *Mol Cell Biol*, 17: 5748-5757.

ÖZGEÇMİŞ

Nilüfer Gülmen İMİR 1973 yılının Ocak ayında İzmir'de doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini İzmir'in Menemen ilçesinde tamamladı. 1990-1994 yılları arasında Akdeniz Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde lisans öğrenimini tamamladı. 1994-1997 yılları arasında Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim dalında yüksek lisansını tamamladı. Halen aynı anabilim dalında Araştırma Görevlisi olarak görev yapmaktadır. Evli ve bir çocuk annesidir.