



T.C.  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOFİZİK ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

GLUT1—XbaI G>T (rs2754218) VE HaeIII T>C (rs1385129)  
POLİMORFİZMLERİNİN [<sup>18</sup>F]-FDG TUTULUM  
ORANLARININ ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Melih KISAARSLAN

Ocak 2022  
DENİZLİ

T.C.  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GLUT1—XbaI G>T (rs2754218) VE HaeIII T>C (rs1385129)  
POLİMORFİZMLERİNİN [<sup>18</sup>F]-FDG TUTULUM ORANLARININ  
ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**BİYOFİZİK ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Melih KISAARSLAN**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Aylin KÖSELER**

**Denizli,2022**

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırılmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğini beyan ederim.

Öğrenci Adı Soyadı : Melih KISAARSLAN

İmza :

## ÖZET

### GLUT1—Xbal G>T (rs2754218) VE Haelll T>C (rs1385129) POLİMORFİZMLERİNİN [18F]-FDG TUTULUM ORANLARININ ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Melih KISAARSLAN

Yüksek Lisans Tezi, Biyofizik AD

Tez Yöneticisi: Prof. Dr. Aylin KÖSELER

Ocak 2021, 60 Sayfa

PET görüntüleme çeşitli kanserlerde tanı, evreleme ve takipte kullanımı giderek artmaktadır. Tümör fonksiyonunun ve anatomisinin korele edilebildiği PET/BT onkolojik tedavi ve tanısal doğruluğun artmasını sağlamıştır. En çok kullanılan görüntüleme ajanı Flor-18 florodeoksiglukoz [18F]-FDG'dur. Glukoz analogu olan FDG normal glüköz yolağının ilk basamağında canlı hücreler tarafından tutulur. Neoplastik hücrelerdeki artmış glikolitik aktiviteye bağlı olarak kanser tanısında kullanılır. Glukoz metabolizma hızı ile FDG tutulum hızı uyumludur. [18F]-FDG'nin hücre içine alım mekanizması in vitro ve in vivo olarak çalışılmıştır. Yapılan çalışmalarda GLUT1 taşıyıcı proteindeki polimorfizmlerin [18F]-FDG'nin hücre içine alımını etkilediği gösterilmiştir. GLUT1—Xbal G>T (rs2754218) ve Haelll T>C (rs1385129) polimorfizmlerinin kanserli hastalarda belirlenerek farklı kanser türlerinde bu genetik farklılığın [18F]-FDG tutulum oranlarının üzerine etkisini ve farklılıklarını araştırmayı hedefledik.

PET/BT ünitesinde, malignite araştırması nedeniyle [18F]-FDG onkolojik tüm vücut FDG PET/BT çekilmek üzere başvuran her hangi bir kanser ön tanısı veya tanısı konmuş, tedavi almamış ve ilk defa [18F]-FDG PET uygulanacak hastalar ve 100 sağlıklı birey çalışmaya dahil edildi. Hastaların PET/BT görüntüleri değerlendirilerek kitle lezyonu metabolizması (SUVmax) sonuçları değerlendirildi. PET/BT çalışmasından hemen önce hastaların periferik kanından elde edilen DNA GLUT1-Xbal G>T (rs2754218) ve Haelll T>C (RS1385129) polimorfizmleri hastalarda belirlenerek [18F]-FDG tutulum oranlarının üzerine etkisini araştırıldı.

Hastaların Xbal G>T genotip dağılımına bakıldığında Xbal G/G genotipi %87 oranında; Xbal G/T genotipi ise %12 oranında bulundu. Sadece 1 hastada (%1) ise Xbal T/T genotipi saptandı. Haelll T>C genotip dağılımında ise Haelll C/C genotip %54; Haelll T/C genotip %31; Haelll T/T genotip ise %15 oranında saptandı.

Kanser tipleri; kanserin görüldüğü sisteme bakıldığında hasta grubu melanom, akciğer bronşial tümörleri, ürogenital tümörler, gastrointestinal sistem tümörleri, meme ca ve diğer olarak alt gruplara ayrıldı. Melanom, ürogenital tümörler, GİS tümörleri, meme ca ve diğer kanser alt gruplarında tüm hastalar Xbal G/G genotipine sahipken, bronşial tümörlerde %42.2 oranında Xbal G/T genotipi saptandı. Her iki gen bölgesindeki genotip dağılımlarının kanser türlerine göre değişiklik gösterdiği saptandı (p=0.0001 ve p=0.0001).

Gerek Xbal gerekse Haelll genotipleri arasında SUVmaxPrimer değerleri açsısından istatistikse olarak anlamlı farklılık görölmedi (p değerleri sırasıyla; p=0,89 ve p=0,541).

SUVmaxPrimer değerleri melanoma grubunda 11,65±12,7; akciğer-bronşial tümörler grubunda 11,09±5,48; ürogenital tümörler grubunda 10,73±3; GİS tümörler grubunda 2153±4776,5; meme ca grubunda 5,26±2,19 olarak saptandı. Her ne kadar GİS tümörleri grubunda çok dikkat çekici yükseklikte SUVmaxPrimer değerleri görölse de bu yükseklik gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı(p=0,071).

Xbal ve Haelll genotipleri birlikte incelendiğinde özellikle akciğer ve bronşial tümör grubunda polimorfik genotiplerin sayısının diğer kanser türlerine göre belirgin olarak fazla olduğu görölmektedir. Akciğer- bronşial tümör grubunda yer alan toplam 36 hastanın 26'sının (%72,2) her iki gen bölgesinden en az birinde polimorfizme sahip olduğu saptandı (p=0,0001).

Sonuç olarak; akciğer- bronşial tümör grubunda yer alan toplam 36 hastanın 26'sının (%72,2) her iki gen bölgesinden en az birinde polimorfizme sahip olduğu saptanması ve bu hasta grubunda SUVmax değerinin yüksek olması tutulum oranlarındaki değişimi ifade edebileceğini düşünmekteyiz.

**Anahtar kelimeler:** GLUT 1 polimorfizmi, [<sup>18</sup>F]-FDG, Pet görüntüleme

**Bu alışma, PAÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 2021SABE010).**

**ABSTRACT****INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF GLUT1 - XbaI G> T (rs2754218) AND HaeIII T> C (rs1385129) POLYMORPHISMS ON [<sup>18</sup>F]-FDG UPTAKE**

KISAARSLAN, Melih

M.Sc. Thesis in Biophysics

Supervisor: Prof. Dr. Aylin KÖSELER (MD, PhD)

January 2021, 60 Pages

PET imaging is increasingly used in the diagnosis, staging and follow-up of various cancers. PET/CT, with which tumor function and anatomy can be correlated, has increased oncological treatment and diagnostic accuracy. The most commonly used imaging radiopharmaceutical is Fluor-18 fluorodeoxyglucose [<sup>18</sup>F]-FDG. FDG, a glucose analog, is retained by living cells in the first step of the normal glucose pathway. It is used in the diagnosis of cancer due to the increased glycolytic activity in neoplastic cells. Glucose metabolism rate and FDG uptake rate are compatible. The uptake mechanism of [<sup>18</sup>F]-FDG has been studied in vitro and in vivo. Studies have shown that polymorphisms in the GLUT1 carrier protein affect the uptake of [<sup>18</sup>F]-FDG into cells. In this study, we aimed to determine the GLUT1—XbaI G>T (rs2754218) and HaeIII T>C (rs1385129) polymorphisms in cancer patients and to investigate the effects and differences of this genetic difference on [<sup>18</sup>F]-FDG uptake rates in different cancer types.

Patients who were pre-diagnosed or diagnosed with any cancer who applied for F-18 due to malignancy investigation in the PET/CT unit and who did not receive any treatment and who would undergo [<sup>18</sup>F]-FDG PET for the first time, and 100 healthy individuals were included in the study. Patients' PET/CT images and mass lesion metabolism (SUVmax) results were evaluated. GLUT1-XbaI G>T (rs2754218) and HAEIII T>C (RS1385129) polymorphisms were determined in patients with DNA obtained from peripheral blood just before the PET/CT study, and their effects on F-18 FDG uptake rates were investigated.

Considering the XbaI G>T genotype distribution of the patients, the XbaI G/G genotype was found to be 87%; XbaI G/T genotype was found in 12%. XbaI T/T phenotype was detected in only 1 patient (1%). In the HaeIII T>C genotype distribution, the HaeIII C/C genotype was 54%; HaeIII T/C genotype 31%; HaeIII T/T genotype was detected in 15%.

Cancer types were divided into subgroups as melanoma, lung bronchial tumors, urogenital tumors, gastrointestinal system tumors, breast ca and other cancer types. While all patients had Xbal G/G genotype in melanoma, urogenital tumors, GIS tumors, breast ca and other cancer subgroups, Xbal G/T genotype was detected in 42.2% of bronchial tumors. It was determined that genotype distributions differed according to cancer types. ( $p=0.0001$  ve  $p=0.0001$ ).

There was no statistically significant difference between both Xbal and Haelll genotypes in terms of SUVmaxPrimer values ( $p$  values respectively;  $p=0,89$  ve  $p=0,541$ ). SUVmaxPrimer values were  $11.65\pm 12.7$  in the melanoma group;  $11.09\pm 5.48$  in the lung-bronchial tumors group;  $10.73\pm 3$  in the urogenital tumors group;  $2153\pm 4776.5$  in the GIS tumors group;  $5.26\pm 2.19$  in the breast ca group. Although very remarkable high SUVmaxPrimer values were observed in the GIS tumors group, no statistically significant difference was found between the groups ( $p=0,071$ ).

When Xbal and Haelll genotypes were examined together, it was observed that the number of polymorphic genotypes was significantly higher in the lung and bronchial tumor groups compared to other cancer types. It was determined that 26 (72.2%) of 36 patients in the lung-bronchial tumor group had a polymorphism in at least one of both gene regions ( $p=0,0001$ ).

As a result, we conclude that 26 (72.2%) of 36 patients in the lung-bronchial tumor group had polymorphism in at least one of both gene regions and the high SUVmax value in this patient group may indicate the change in the rates of involvement.

**Keywords:** GLUT 1 polymorphism, [ $^{18}\text{F}$ ]-FDG, Pet imaging

**This study was supported by Pamukkale University Scientific Research Projects Coordination Unit through project numbers 2021SABE01**

## TEŞEKKÜR

Biyomedikal mühendisliğinden temel tıp bilimlerine entegrasyonumu güçlendiren anabilim dalı başkanı Prof. Dr. Erol Ömer Atalay hocam ve Pamukkale Üniversitesi Biyofizik hocalarıma;

Yüksek lisans öğrenimim ve tez çalışmam süresince tecrübelerinden yararlandığım; kullandığım materyallerin temin edilmesinde ve analizlerinde her türlü desteği sağlayan tez danışman hocam Prof. Dr. Aylin KÖSELER'e,

Tez çalışmam boyunca nükleer tıpın tüm işlem basamakalarına ve cihazlarına erişmemi sağlayan Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Nükleer Tıp Anabilim Dalı Başkan Yardımcısı Prof. Dr. Doğangün Yüksel hocam ve özverileriyle çalışmalarına destek olan tüm nükleer tıp çalışanlarına;

Ve beni bugünlere getiren, tüm hayatım boyunca her koşulda yanımda olan canım aileme teşekkürlerimi sunarım.



## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
<b>ÖZET</b> .....	<b>v</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>vii</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>ix</b>
<b>İÇİNDEKİLER DİZİNİ</b> .....	<b>x</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>xiii</b>
<b>TABLolar DİZİNİ</b> .....	<b>xiv</b>
<b>SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	<b>xv</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.1. Amaç.....	3
<b>2. KURAMSAL BİLGİLER VE LİTERATÜR TARAMASI</b> .....	<b>4</b>
2.1. Glikoz Tanımı ve Fonksiyonu.....	4
2.2. Glikozun ATP Tarafından Fosforilasyonu.....	4
2.3. GLUT1 (SLC2A1).....	7
2.4. Tek Nükleotid Değişiklikleri ( Single Nucleotide Polymorphisms, SNP).....	10
2.5. Pozitron Bozunma ( $\beta^+$ ).....	10
2.5.1. PET.....	12
2.5.2. PET Radyonüklidleri.....	14
2.6. $^{18}\text{F}$ 'nin Elde Edilişi.....	14
2.6.1. $^{18}\text{F}$ 'nin Florinasyon Metotları.....	15
2.6.1.1. Nükleofilik Florinasyon.....	15

2.6.1.2. Elektrofilik Florinasyon.....	16
2.7. <sup>18</sup> F'in Tümörde Tutulum Mekanizması.....	17
2.8. [ <sup>18</sup> F]-FDG PET.....	18
2.9. Görüntü Analizi ve Değerlendirme.....	19
2.9.1. SUV (Standardized Uptake Value) ( <i>Standartlaştırılmış Alım Değeri</i> ).....	19
2.9.2. SUV Hesaplama.....	20
2.10. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ( <i>Polymerase Chain Reaction – PCR</i> ).....	21
2.11. DNA Dizi Analizi.....	23
2.12. Hipotezler.....	25
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....</b>	<b>26</b>
3.1. Gereçler.....	26
3.1.1. Cihazlar.....	26
3.1.2. Kullanılan Kimyasallar.....	26
3.2. Örnek Seçimi.....	27
3.3. Yöntemler.....	27
3.3.1. Kandan Genomik DNA İzolasyonu .....	27
3.3.2. PCR (Polimeraz Chain Reaction).....	28
3.3.3. Agaroz Jel Elektroforezi.....	29
3.3.4. DNA Dizi Analizi.....	30
3.3.5. [ <sup>18</sup> F]-FDG PET BT.....	30
3.3.6. Kantitatif PET Ölçümleri.....	31
3.3.7. GLUT1 Genotiplerinin Belirlenmesi.....	31
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>32</b>
4.1. İstatiksel Analiz.....	36

<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>38</b>
<b>6. SONUÇ.....</b>	<b>41</b>
<b>7. KAYNAKLAR.....</b>	<b>42</b>
<b>8. ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>45</b>
<b>9. EKLER.....</b>	<b>46</b>

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
<b>Şekil 1.</b> Glikoz Mekanizması.....	5
<b>Şekil 2.</b> SLC2A1 (GLUT1) Geninin Kromozama Yerleşimi.....	9
<b>Şekil 3.</b> Anihilasyon Fotonun Oluşumu.....	12
<b>Şekil 4.</b> $^{18}\text{F}$ 'in Bozunum Şeması.....	12
<b>Şekil 5.</b> Koinsidans Olaylarının Şematik Gösterimi.....	12
<b>Şekil 6.</b> $^{18}\text{FDG}$ 'nin Molekül Yapısı.....	15
<b>Şekil 7.</b> $^{18}\text{FDG}$ 'nin Nükleofilik Florinasyon İle Sentezi .....	16
<b>Şekil 8.</b> Elektrofilik Florinasyon.....	16
<b>Şekil 9.</b> $^{18}\text{FDG}$ 'nin Elektrofilik Florinasyon İle Sentezi.....	17
<b>Şekil 10.</b> Glikoz ve FDG Yapısı.....	18
<b>Şekil 11.</b> Glikoz ve FDG Metabolizması.....	18
<b>Şekil 12.</b> Polimeraz Zincir Reaksiyonu.....	22
<b>Şekil 13.</b> PCR Döngüsü üssel Çoğalım.....	23
<b>Şekil 14.</b> DNA Dizi Analiz Yöntemleri .....	25
<b>Şekil 15.</b> GLUT 1 Xbal G>T(rs2754218) Polimorfizminin Dizi Analizi.....	32
<b>Şekil 16.</b> GLUT 1 HaellI T>C (rs1385129) Polimorfizminin Dizi Analizi.....	32

**TABLolar DİZİNİ**

	<b>Sayfa</b>
<b>Tablo 1.</b> PET Radyofarmasötikleri ve Fiziksel Özellikleri.....	14
<b>Tablo 2.</b> Flor'un Üretim Yolları.....	15
<b>Tablo 3.</b> GLUT 1 Polimorfizmleri Belirlerken Kullanılan Primerler.....	31
<b>Tablo 4.</b> Hastalardaki Genotip Dağılımları.....	33
<b>Tablo 5.</b> Kontrol Grubu Genotip Dağılımları.....	33
<b>Tablo 6.</b> Kansere Türleri ve SUV Sonuçları.....	34
<b>Tablo 7.</b> Kansere Türleri ve GLUT1 Genotip Sonuçları.....	35
<b>Tablo 8.</b> XbaI ve HaeIII Genotiplerinin Birlikte İncelenmesi ve SUV İlişkisi.....	36

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

GLUT.....	Kolaylaştırılmış Glikoz Transport Proteini
FDG.....	fluoro-2-deoksi-glikoz
[ <sup>18</sup> F]-FDG .....	Flor-18-florodeoksiglukoz
SNP.....	Single Nucleotide Polymorphsym (Tek Nükleotid Polimorfizmi)
PET.....	Pozitron Emisyon Teknolojisi
BT.....	Bilgisayarlı Tomografi
DNA.....	Deoksiribo Nükleik Asit
ATP.....	Adenozin Tri Fosfat
SGLT.....	Sodyum Bağımlı Kolaylaştırılmış Glikoz Taşıyıcılar
MSS(CNS).....	Merkezi Sinir Sistemi (Central Nervous System)
Ci.....	Curie
Bq.....	Bequerel
SUV.....	Standart Uptake Volume (Standartlaştırılmış Alım Değeri)
VEGF.....	Vascular Endothelial Growth Factor (Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü)
ROI.....	Region Of Interest (İlgi Alanı)
LBW.....	İdeal Vücut Ağırlığı
LBM.....	Vücut Kas Kitesi
SUL (SUV <sub>LBM</sub> ).....	Vücut Kas Kitlesine Göre Tutulum
BSA.....	Body Surface Area (Vücut Yüzey Alanı)
PACS.....	Görüntü Saklama ve İletişim Sistemleri
DICOM.....	Dijital Veri Formatı Standardı
LOR .....	Line of Response (Eş Cevap Eğrisi)
KHDAK.....	Küçük hücreli dışı akciğer kanseri

## 1. Giriş

Glikoz taşıyıcı proteini 1 (GLUT1), insan vücudunda en yaygın olarak dağıtılan GLUT izoformudur. Hemen hemen tüm hücre tiplerinin yüzeyinde eksprese edilir. GLUT1 ile glikoz taşınması, hücre zarı boyunca bir gradyanla sağlanır. Glikoz taşıyıcıları (GLUT'lar), üç sınıfa ayrılan bir kolaylaştırıcı taşıyıcılar ailesini kapsar. GLUT1, sınıf 1'in bir üyesidir ve glomerüllerde, mezanjiyal hücrelerde, endotelial hücrelerde ve podositlerde yüksek oranda eksprese edilir. İnsüline de bağlı değildir. (Zhao vd 2007)

GLUT1 geni (SLC2A1) (rs841853) kromozom 1p34.2 üzerinde bulunur ve 10 ekson ve 9 intron içerir. Tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler), genomun tek bir nükleotidi bir türün üyeleri arasında farklılık gösterdiğinde ortaya çıkan DNA sekansının varyasyonlarıdır. DNA sekansının bu küçük varyansı, belirli hastalıkların gelişimini veya patojenlere, ilaçlara veya diğer ajanlara tepkiyi etkileyebilir. Buna göre, kromozom 1p35-p31.3 üzerinde bulunan GLUT1 geninin Tek Nükleotid Değişiklikleri (SNP)'lerinin diyabetik nefropati, vasküler kalsifikasyonlar, renal karsinom riski ve kanser riskinin [<sup>18</sup>F]-FDG alımı üzerindeki olası fonksiyonel etkisi olabileceği bilinmektedir. (Hodgkinson vd 2001)

Glikoz analogu [<sup>18</sup>F]-FDG dedekte eden PET / BT, bir tümör hakkında hem anatomik hem de metabolik bilgi edinme fırsatı sağlar. Hızla büyüyen kanser hücrelerinin glikoz metabolizmasını artırma kabiliyetinden dolayı [<sup>18</sup>F]-FDG, tümör hücrelerinde birikir (Canani vd 2002). Kötü huylu hücrelerdeki glukoz metabolizması, aerobik koşullar altında bile glikolizdeki artışla, aerobik glikoliz veya Warburg etkisi olarak bilinen bir işlemle genellikle güçlendirilir (Ollerenshaw vd 2005). Tümör [<sup>18</sup>F]-FDG alımı ile tümör saldırganlığı arasında pozitif bir korelasyon gösterilmiştir (Xu vd 2017). Kanser hücrelerinin glikozunun taşınması ve metabolizmasında kilit bir hız sınırlayıcı moleküldür. Aynı zamanda insan karsinomlarının sayısı olarak da ifade edilir. GLUT1'in yukarı regülasyonu, onun tümör biyolojisinde çok önemli roller oynadığını gösterir. Bu nedenle, insan karsinomlarında GLUT1'in artan ekspresyonunun metabolizmada, enerji kullanımında ve agresif davranışta iyileşmeyi önerdiği varsayılmaktadır. GLUT1'in yüksek protein ekspresyonu çoğu ürotelyal karsinomda gözlenmiştir ve bu, tümör evreleri ve dereceleri, kötü tümör farklılaşması prognozu ile ilgilidir (Canani vd 2002). Genomun tek bir nükleotidi değiştiğinde, DNA dizisinin varyasyonuna tek nükleotid polimorfizmleri denir.

[<sup>18</sup>F]-FDG'nin alım mekanizması ve biyokimyasal yolu, in vitro ve in vivo olarak kapsamlı bir şekilde çalışılmıştır ve [<sup>18</sup>F]-FDG'nin glikoz taşıma proteinleri yoluyla hücre

zarından taşınması ve heksokinaz ile hücre içi fosforilasyon, izleyicinin sonraki doku birikimi için anahtar adımlar olarak tanımlanmıştır (Toksöz vd 2009).

[<sup>18</sup>F]-FDG PET/BT fonksiyonel tümör dokusunu tespit edebilen görüntüleme yöntemidir. Artan glikoz metabolizması bize bunu sağlar. Bu yöntemle görüntüler BT görüntüleri ile de karşılaştırılarak görsel ve kantitatif olarak değerlendirilir ve tümör hakkında anatomik ve metabolik bilgi elde etmemizi sağlar. Tümör dokusundaki SUV değeri (standart tutulum değeri), ortalama aktivitenin verilen doz ve hastanın ağırlığına göre ayarlanmıştır. [<sup>18</sup>F]-FDG hücreye kolaylaştırılmış diffüzyon ile alınır yani GLUT'lar yardımıyla girip heksokinaz enzimi tarafından [<sup>18</sup>F]-FDG-6-fosfata dönüştürülür ve hücre içinde birikir. Kanser hücrelerinde GLUT1 ekspresyonu artmıştır. SNP gibi genetik polimorfizmler gen ifadelerini ve proteinlerin fonksiyonlarını etkileyebilir. Bu çalışmada, GLUT1- Xbal G>T (rs2754218) ve HaeIII T>C (RS1385129) polimorfizminin [<sup>18</sup>F]-FDG tutulumunu etkisinin araştırılmıştır (Dündar vd 2017).

İnsan genomunun kompleks yapısı, yaklaşık 3.2 milyar baz çifti, 24.000 protein ürünü kodlayan gen ve 2.9 milyon regülatör (düzenleyici) bölge içerir. Son yıllarda, yüksek yoğunluklu tek nükleotid polimorfizm (SNP) mikrodizilerinin bulunmasının, hastalıklardaki genetik anomalilerin global analizi bağlamında ileriye doğru atılmış büyük bir adım olduğu kanıtlanmıştır. İnsan genomundaki genetik varyasyonun en yaygın kaynağı, SNP olarak tanımlanan tekli baz polimorfizmlerinin varlığıdır. Bu tek nokta değişimlerinin polimorfizm olarak tanımlanabilmesi için, belirli bir popülasyonda en az % 1'lik allel sıklığında gerçekleşmelidir (Lars vd 2006).

İnsan genomu boyunca yaklaşık 15 milyon SNP dağılmıştır. Büyük çoğunlukla, SNP'ler iki allelde oluşur ve eğer genin kodlama bölgesinin içinde yer alıyorsa amino asit dizisinde değişim yapıp yapmamalarına bağlı olarak sessiz, eş anlamlı ya da yanlış anlamlı olarak tanımlanırlar. Ayrıca, genomun kodlamayan bölgelerinde bulunan SNP'ler, kırılma sürecini veya transkripsiyon faktörü bağlama noktalarını etkileyerek fenotipi etkileyebilmektedir. Çoğu genomik varyasyon, hastalıklarla ilişkili genleri ve popülasyon öykülerini izlemek için en yüksek genomik değişim yüzdesine sahip tek nükleotid polimorfizmlerine (SNP'ler) atfedilebilmektedir.

DNA polimorfizmleri, genetik analizlerde önemli belirteçlerdir ve genom yeniden dizileme yöntemi kullanılarak giderek daha fazla saptanmaktadır. Bununla birlikte, tekrarlayıcı dizilerin ve yapısal değişkenlerin varlığı, polimorfik allellerin tanımlanmasında yanlış pozitiflere yol açabilmektedir. Bu nedenle seçilen yöntem ve analizi, çalışılan gen ve gen bölgesine özgü bir şekilde tasarlanmalıdır. Sık görülen hastalıklarla bağlantılı haplotipler için insan genomunu taramak amacıyla 30.000 ±



500.000 SNP yoğunluğu içeren bir genomik haritanın kullanılması önerilmektedir (Qia vd 2019).

### 1.1. AMAÇ

GLUT1-Xbal G>T'nin (rs2754218) [<sup>18</sup>F]-FDG alımı üzerindeki olası fonksiyonel etkisini ve standart hale getirilmiş alım değeri (SUV), bir ilgi bölgesi tekniği kullanılarak ve vücut ağırlığı için düzeltme kullanılarak [<sup>18</sup>F]-FDG alımının bir ls olarak tümör dokusunda belirlemek amacıyla GLUT1 genindeki GLUT1-Xbal G>T (rs2754218) ve HaeIII T>C (rs1385129) polimorfizminin [<sup>18</sup>F]-FDG alımına tutulum oranlarına etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Yani SLC2A1 genindeki meydana gelen tek nükleotid değişimlerinin sisteme yansıtığı bozuklukların gruplandırđımız kanser tiplerindeki SUV tutulumunu araştırmaktır.

## 2. KURAMSAL BİLGİLER VE LİTERATÜR TARAMASI

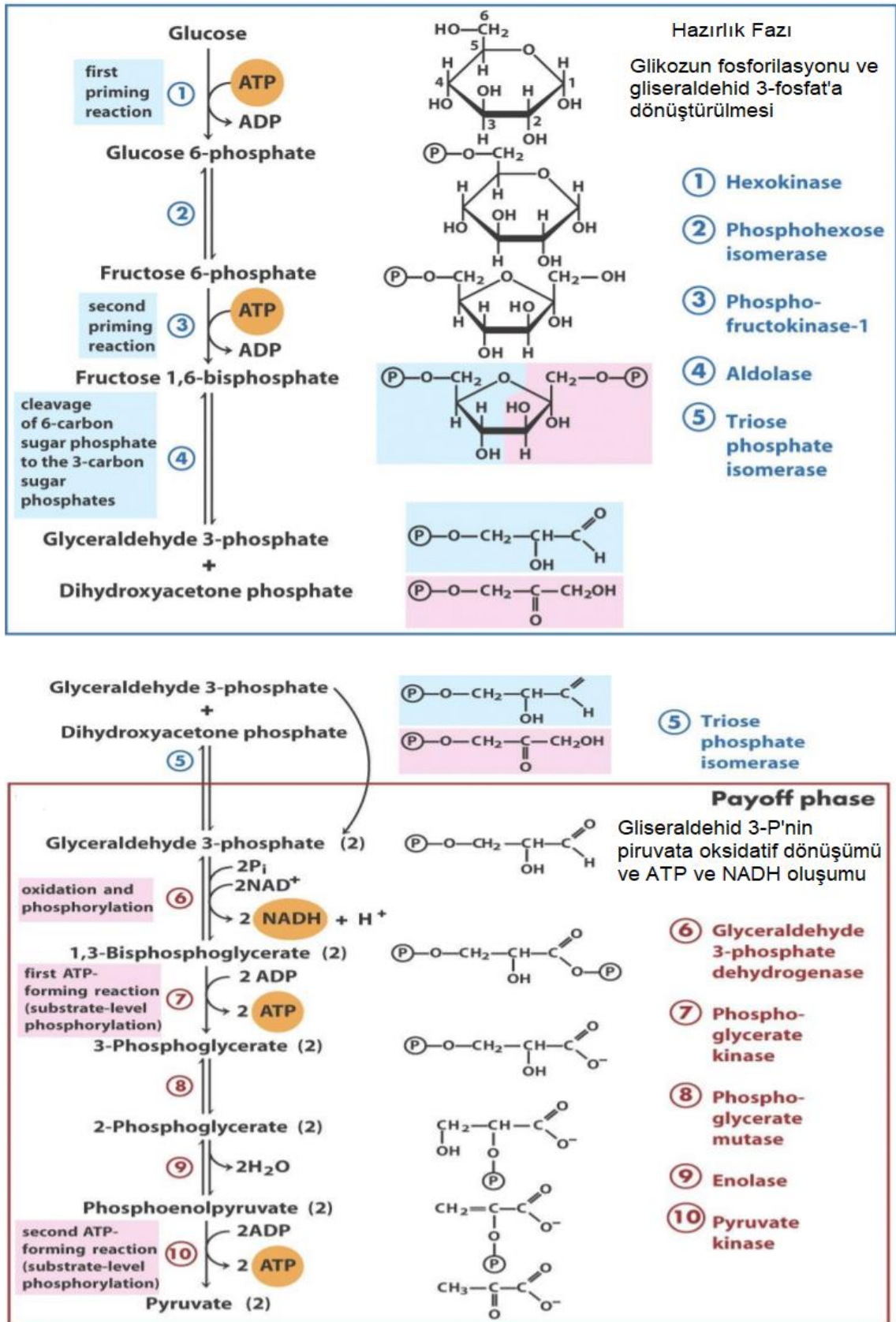
### 2.1. Glikoz Tanımı ve Fonksiyonu

Glikoz,  $C_6H_{12}O_6$  kimyasal formülüne sahip 6 karbonlu bir yapıdır. Dünyadaki her organizmanın her yerde bulabildiği bir enerji kaynağıdır. Aerobik ve anaerobik hücre sel solunumu beslemesinde zorunludur. Glikoz genellikle vücuda monosakarit (galaktoz ve fruktoz) olarak alınır, iki birimli şekerler (disakkaritler- laktoz ve sakaroz) veya polisakkarit (nişasta) gibi izometrik formlarda girer. Vücudumuz fazla glikozu, glikojen (bir glikoz polimeri) olarak depolar ve bunu açlık zamanlarında serbest bırakır. Bir de glikoz glukoneogenez süreci boyunca yağ ve proteinin parçalanması sonucunda ürünlerinden de elde edilebilir. Glikozun homeostaz için ne kadar hayati olduğu düşünüldüğünde, bunun için çok sayıda kaynağın olması şaşırtıcı değildir.

Glikoz vücuda girdikten sonra kan yoluyla enerji gerektiren dokularada geçer. Orada glikoz, Adenozin Tri Fosfat (ATP) şeklinde enerji açığa çıkaran biyokimyasal reaksiyonda parçalanır. Bu süreçlerden elde edilen ATP, vücuttaki hemen hemen her enerji gerektiren süreci beslemek için kullanılır. Ökaryotlarda çoğu enerji, bir glikoz molekülü ile başlayan aerobik (oksijen gerektiren) süreçlerden elde edilir. Glikoz, önce anaerobik glikoliz süreci boyunca parçalanır, bu da bazı ATP ve piruvat son ürününün üretimine yol açar. Anaerobik koşullarda piruvat, indirgeme yoluyla laktata dönüşür. Aerobik koşullarda piruvat, elektron taşıma zincirinde (ETC) ATP üretilmesine yardımcı olan enerji açısından zengin elektron taşıyıcıları vermek için sitrik asit döngüsüne girebilir (Gurung vd 2021).

### 2.2. Glukozun ATP tarafından fosforilasyonu

Glikolizin ilk reaksiyon basamağında glikoz, C-6'da fosfatlanır -aktifleşir- glukoz-6-fosfata dönüşür. Reaksiyonda fosfat kaynağı ATP'dir. Reaksiyonu katalizleyen enzim heksokinaz enzimidir. Heksokinaz enzimi  $Mg^{+2}$  iyonlarını kullanır.  $ATP-Mg^{+2}$  ATP'nin aktif şeklidir. Heksokinaz farklı dokularda da yaygın yer alır glikoz dışındaki hegzozları da fosfatlayarak aktifleştirir (fruktoz, mannoz, galaktoz). Fakat her substratın  $K_m$  (Michaelis sabiti) değeri farklıdır. Bu enzimin glikoza affinitesi (bağlanma isteği) yüksektir, affinitesi yüksek olması demek  $K_m$  değerinin düşük olduğu anlamına gelir (0,1 mM). Heksokinaz enzimi glikoz konsantrasyonunun düşük olduğu yerde daha etkindir. Bu enzim, allosterik bir enzimdir ve tüm hücre tiplerinde bulunur. Hücredeki glukoz-6-fosfat miktarı arttığı zaman inhibe edilir ve glikoliz durur (Berg vd 2002).



Şekil1. Glikoliz Mekanizması (<https://acikders.ankara.edu.tr/10.12.2021>)

Glikoz rezervleri insanlarda polimer glikojen olarak depolanır. Glikojen, karaciğer ve kas dokularında en yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Glikojenin ve dolayısıyla glikozun düzenlenmesi, öncelikle insülin ve glukagon peptid hormonları aracılığıyla kontrol edilir. Bu hormonların her ikisi de pankreas Langerhans Adası'nda, alfa hücrelerinden glukagon ve beta hücrelerinden insülin üretilir. Vücudun metabolik durumuna (açlık veya enerji açısından zengin) bağlı olarak bu iki hormon arasında, enerji açısından zengin durumlar sırasında daha yüksek konsantrasyonlarda insülin ve açlık sırasında glukagon ile bir denge vardır. Bu hormonlar tarafından düzenlenen bir sinyal kaskadları süreci aracılığıyla, glikojen, glikozu serbest bırakarak katabolize edilir (açlık zamanlarında glukagon tarafından teşvik edilir) veya daha fazla glikoz tüketerek sentezlenir (enerji zenginliği zamanlarında insülin tarafından kolaylaştırılır). İnsülin ve glukagon (diğer hormonların yanı sıra), bir tür glikoz taşıyıcısı olan GLUT4'ün ifadesini değiştirerek glikozun hücre içine ve dışına taşınmasını da kontrol eder (Daghlav vd 2021).

Glikoz için iki spesifik taşıyıcı aracılı taşıma mekanizması önerilmiştir. Bunlardan biri pasif bir taşıma sistemine (kolaylaştırılmış difüzyon), ikincisi ise aktif bir taşıma sistemine yanıt verir. Birincisi, enerjinin gerçekleştirilmesini gerektirmez ve bir konsantrasyon gradyanı yoluyla, yani yüksek glikoz konsantrasyonu olan bir yerden konsantrasyonun düşük olduğu bir yere kadar meydana gelir. Aktif glikoz taşınması, sodyum iyonunun birlikte taşınmasından enerji elde eden taşıyıcılar tarafından gerçekleştirilir. Bunun tersine, glikozun kolaylaştırılmış (pasif) difüzyonu, GLUT adı verilen kapı benzeri taşıyıcılar ailesi tarafından gerçekleştirilir. Bunlar, hücrenin dışındaki glikozu bağlar ve onu sitozole taşır. Bunlardan en az 5 tanesi tanımlanmıştır ve farklı memeli dokularında dağılımları farklı görünmektedir (Berg vd 2002).

İnsan vücudunda doku tipine göre değişen farklı ifadelerle sahip birkaç tip glikoz taşıyıcı vardır. Bu taşıyıcılar iki ana kategoriye ayrılır: sodyum bağımlı taşıyıcılar (SGLT'ler) ve sodyumdan bağımsız taşıyıcılar (GLUT). Sodyum bağımlı taşıyıcılar, hücre zarı boyunca sodyumun aktif taşınmasına dayanır, bu daha sonra konsantrasyon gradyanını bir glikoz molekülü (ikincil aktif taşıma) ile birlikte yayar. Sodyumdan bağımsız taşıyıcılar, sodyuma güvenmez ve glikozu kolaylaştırılmış difüzyon kullanarak taşır. Sodyumdan bağımsız taşıyıcılardan sadece GLUT4'ün ifadesi insülin ve glukagondan etkilenir. Aşağıda en önemli glikoz taşıyıcı sınıfları ve özellikleri listelenmiştir.

- **SGLT** : Öncelikle renal tübüllerde ve bağırsak epitelinde bulunan **SGLT'ler** , sırasıyla glukoz reabsorpsiyonu ve absorpsiyonu için önemlidir. Bu taşıyıcı,

ATP'nin sodyumu hücreden ve lümene aktif olarak pompalamasını gerektirdiğinden ikincil aktif taşıma yoluyla çalışır, bu da sodyumun konsantrasyon gradyanını aşağı doğru pasif olarak hücre duvarından geçerken glikozun birlikte taşınmasını kolaylaştırır (Holesh vd 2021).

- **GLUT1** : Öncelikle pankreas beta hücrelerinde, kırmızı kan hücrelerinde ve hepatositlerde bulunur. Bu çift yönlü taşıyıcı, kan şekerini endojen insülin ile kontrol etmede geri bildirim mekanizmasının önemli bir yönü olan pankreas tarafından glikoz algılaması için gereklidir (Navale vd 2016).
- **GLUT2** : Öncelikle hepatositlerde, pankreas beta hücrelerinde, bağırsak epitelinde ve renal tübüler hücrelerde bulunur. Bu çift yönlü taşıyıcı, karaciğerdeki glikoz metabolizmasını düzenlemek için önemlidir (Navale vd 2016).
- **GLUT3** : Öncelikle MSS'de bulunur. Bu taşıyıcı, beynin artan metabolik talepleri ile tutarlı olarak, glikoz için çok yüksek bir afiniteye sahiptir (Navale vd 2016).
- **GLUT4** : Esas olarak iskelet kası, kalp kası, yağ dokusu ve beyin dokusunda bulunur. Bu taşıyıcı, insülin tarafından uyarıldığında hücre zarı ile birleşecek olan sitoplazmik veziküllerde (aktif olmayan) depolanır. Bu taşıyıcılar, kan glikozundaki bir düşüşün net etkisi ile insülin salınımı üzerine aşırı enerji zamanlarında yoğunlukta 10 ila 20 katlık bir artış yaşayacaklardır (glikoz, yüzeylerinde GLUT4 bulunan hücrelere daha kolay girecektir).

### 2.3. GLUT1 (SCL2A1)

SLC2A1 geni, kromozom 1p34.2'de yer alan 35 kb uzunluğunda bir gen olup, 10 ekzon ve 9 intron içermektedir. SLC2A1 geni, GLUT1 (taşıyıcı protein tipi 1) adı verilen bir proteinin üretilmesi için emirler sağlar. GLUT1 proteini, glikoz olarak adlandırılan basit şekeri kandan veya başka hücrelerden yakıt olarak kullanmak üzere taşıyan dış zar üzerine gömülü transmembran bir proteindir (Ornek vd 2018).

Glukoz transporter-1 GLUT-1 ya da SLC2A1 olarak da bilinen ve insanda SLC2A1 geni tarafından kodlanan bir proteindir (Mueckler vd, 1985). En yaygın eksprese olan heksoz transporterı birçok hücre tipinde temel glukoz taşıma görevini sürdüren GLUT-1 dir (Manolescu vd 2007).

Fizyolojik olarak sentez edilen ve immünohistokimyasal olarak, glukoz kullanan tüm hücre ve dokularda saptanabilir (Zimman vd, 2002, Froehner vd, 1998). Glikoliz

kanser hücresinde normal hücreye göre çok daha fazla artmıştır. Kanser hücrelerinde glukoz ihtiyaç seviyesine göre glukoz taşıyıcılarının değişik derecelerde artmış ekspresyon seviyeleri gözlenir (Cantuaria vd, 2000).

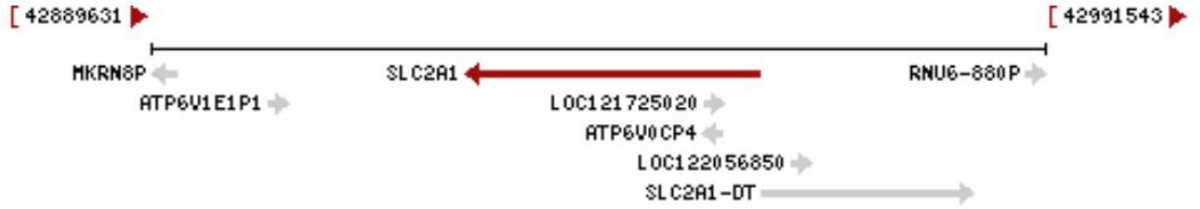
GLUT-1 glukoz alımının yanı sıra vitamin C' ninde alımından sorumlu bir reseptördür (Montel-hagen ve ark. 2008). Malign tümörlerde GLUT-1 ekspresyonu çok yaygın olarak çalışılmıştır (Brown ve Wahl 1993, Younes vd, 1995, Brown vd, 1996, Binder vd, 1997, Alo vd. 2001, Avril vd. 2001, Bos vd. 2002, Brown vd. 2002, Kang vd. 2002, Ravazoula vd. 2003).

GLUT-1 ekspresyonu bir çok tümörün özellikleri ve nitelikleri ile ilişkilendirilmiştir (Younes ve ark. 1995, Ravazoula vd. 2003). Birçok çalışma GLUT-1 ekspresyonunun birçok tümörde, tümör gelişimi, karsinogenez ve kötü prognozla çok yakından ilişkili olduğunu göstermiştir (Younes vd. 1996, Haber vd. 1998, Airley vd. 2001).

GLUT-1 malign hücrelerde poliferasyon aktivitesinin, enerji gereksinimleri ve agresif davranışları açısından olumlu yönde etkilidir. GLUT-1 birçok kanser hücre tiplerinde en etkili glukoz transporter olarak görünür (Kang vd. 2002, Godoy vd. 2006, Amann vd. 2009).

GLUT-1 baş ve boyun yassı hücreli karsinomlarında (squamous cell carsinome) en baskın ve en yaygın olarak eksprese olan üyedir (Kunkel vd. 2003). GLUT-1 geninde oluşacak mutasyonlar GLUT-1 defektine yada daha az olarak otozomal dominant bir hastalık olan DEVİVO (glukoz transporter protein sendrom) hastalığına sebep olmaktadır (Seidner vd. 1998). GLUT-1 patolojide sıkça kullanılan bir markerdir. Onun ekspresyonu bebeklik döneminde oluşan vasküler tumor ile diğer vasküler lezyonları ayırmak için kullanılır. GLUT-1 ayrıca perineurial (sinir liflerinin oluşturduğu demeti saran zar tabakası) hücrelerinin ve perinöra tümörlerin tanınmasında kullanılır. GLUT-1 malign mesothelioma (asbestos nedenli akciğer kanseri) da reaktif mesothelial lezyonlardan daha çok eksprese olduğu görülmüştür. Ayrıca GLUT-1' in onkolojide teröpetik hedef olabileceği önerilmiştir (Thomas de Montpréville vd. 2015). GLUT-1 ekspresyonu insan meme kanserinde bilinen diğer prognostik markerlarla ilişki içindedir (Younes vd. 1995). GLUT-1' in yüksek seviyesi beyin, meme, baş ve boyu, mesane, böbrek, kolorektal, akciğer ve over kanserlerini içeren hemen hemen tüm kanser türlerinde gösterilmiştir (Macheda vd. 2005). GLUT-1 ekspresyonu, akciğer, kolorektal, gastrik ve over kanserlerinde artan malignite, invazyon ve kötü prognozla ilişkilendirilmiştir (Kawamura vd. 2001, Sakashita vd. 2001, Kalir vd. 2002). Daha ileri evre kanserlerinde ve poliferatif indeksi daha yüksek ve farklılaşma derecesi daha düşük derecede olan kanserlerde GLUT-1 ekspresyonu kısmen daha yüksektir. Ayrıca Kang vd. (2002) yaptıkları

çalışmada GLUT-1' in östrojen ve progesteron hormon reseptörleri ile arasında önemli bir ilişki olduğunu göstermiştir.



**Şekil 2.** SLC2A1 (GLUT1) geninin kromozoma yerleşimi

Kanser hücrelerinde genellikle glukoz taşıyıcılarının aşırı ekspresyonu gözlenir. Bu muhtemelen gelecek süreçlerde gerçekleşecek olan kontrolsüz çoğalma ve metastaz için gerekli olacak enerjiyi sağlamak için olan bir mekanizmadır (Joost ve Thorens 2001). Kanser hücresi büyümek için enerji gereksimi duyacaktır. Glikoz alımında artış gerekecektir. Glikoz taşıyıcıları ile ilgili yapılan birçok çalışmada bugüne kadar tanımlanan 13 adet glukoz taşıyıcısı olan transmembran GLUT (glukoz transporter) proteinleri halen 3 grup halinde sınıflandırılmakta ve bunlardan en yaygını GLUT-1 olarak kabul edilmektedir (Salas-Burgos vd. 2004, Vander Heiden 2011). GLUT-1, en fazla bulunan üyedir ve dokuya özgüdür. Birçok fetal ve erişkin memeli hücrelerinde ve dokularında bulunmaktadır. GLUT-1'in mRNA ekspresyonu tüm erken gelişim evrelerinde gösterilmiştir. Daha sonraki evrelerde dağılım ise dokuya göre değişir (Castello vd. 1994, Thomas de Montpréville vd. 2015). Meme, akciğer, kolon, serviks, over ve mide karsinomu gibi birçok kanser türünde GLUT-1' in yüksek ekspresyonunun varlığı gösterilmiştir (Brown ve Vahl 1993, Ogawa vd. 1997, Haber vd. 1998, Rudlowksi vd. 2004, Cantuaria vd. 2001). Bunlardan bazılarında ekspresyonun artışı, kötü prognoz, lenf nodunun metastaz yapması ve mortalitede artış ile ilişkilendirilmiştir (Younes vd. 1996, Roh vd. 2009). Tüm bunlardan yola çıkılarak meme kanser hücre hatlarında, normal ve insan meme kanser dokularında glukoz taşıyıcılarının ifadeleri ve fonksiyonları araştırılmıştır (SalasBurgos vd. 2004). Sadece tümör hücrelerine özgü olan bu glukoz metabolizması, tümör büyümesi için önemli avantajlar sahiptir. Bu avantajlar şunlardır; hücreler, değişen oksijen düzeyinden etkilenmeden yaşamlarını ve gelişimlerini devam ettirebilirler. Anaerobik glikolizis ile tümör hücreleri, laktat oluştururlar. Oluşturulan bu laktik asit, tümörün mikro derecedeki çevresinde pH'ı düşük seviyelerde bir ortam oluşturarak tümörün dokuya girmesini kolaylaştırır. Ayrıca tümör hücrelerinin oluşturduğu laktik asit, ortamda bulunan stromal hücreler tarafından pürivata çevrilir. Stromal hücrelerin oluşturduğu bu piruvat başka işlevlerde kullanabileceği gibi aynı

zamanda kanser hücrelerini de besleyebilir. Bu sayede tümörün büyümesi ve gelişmesi için gerekli enerji sağlanır. Kanser hücresi, glikozu pentoz-fosfat yoluyla ile metabolize edebilir. Kötü huylu hücreler bu sayede hücreyi kemoterapötiklere karşı koruyan bir antioksidan olan nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oluşumunu sağlamaktadır (Kroemer ve Pouyssegur 2008, Vander Heiden 2011).

#### **2.4. Tek Nükleotid Değişiklikleri ( Single Nucleotide Polymorphisms, SNP)**

Tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler), genomun tek bir nükleotidi bir türün üyeleri arasında farklılık gösterdiğinde ortaya çıkan DNA sekansının varyasyonlarıdır. DNA sekansının bu küçük varyansı, belirli hastalıkların gelişimini veya patojenlere, ilaçlara veya diğer ajanlara tepkiyi etkileyebilir. Buna göre, kromozom 1p35-p31.3 üzerinde bulunan GLUT1 geninin SNP'lerinin diyabetik nefropati, vasküler kalsifikasyonlar ve renal karsinom riski ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte, GLUT1 SNP'lerin PET tarafından veya tümör agresifliği tarafından belirlenen [<sup>18</sup>F]-FDG alımı üzerindeki olası fonksiyonel etkisi, şimdiye kadar insan kanserinde araştırılmamıştır. Birkaç SNP, meme kanseri riski ile ilişkilendirilmiştir, ancak meme kanserinde bir insan SNP'si ile [<sup>18</sup>F]-FDG alımı arasındaki tek ilişki, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) geninin 936C.T SNP'si için gösterilmiştir. Vasküler endotelial büyüme faktörü geni, tümör anjiyogenezinde baskın bir role sahip olduğu için, bu genetik varyantın, kan ve glikoz tedarikinin verimliliğindeki ardışık değişikliklerle birlikte, tümör damarlarının değişmiş bir oluşumuna bağlı olduğu düşünülmüştür (Lars vd 2006).

#### **2.5. Pozitron Bozunma ( $\beta^+$ )**

Pozitronların varlığını 1928'de İngiliz bilim adamı Paul Dirac ispatlamıştır, bu buluşu sayesinde 1933'te Nobel Fizik Ödülünü almıştır. Carl Anderson ise kozmik ışınları keşfederek, kozmik ışınların sahip olduğu pozitronların gözlemlenebildiğini kanıtlamış ve bununla 1936'da Nobel Fizik Ödülünü almıştır.

Pozitronun emisyonuyla ortaya çıkan radyoaktif parçalanmada protonun, nötrona ve pozitif yüklü bir elektrona dönüşmesi gerçekleşir. Pozitif yüklü olan elektron ya da pozitron ( $\beta^+$ ) ve nötrinonun çekirdekten dışarı doğru fırlaması gerçekleşir. Bu olay aşağıdaki şemada gösterilmiştir;

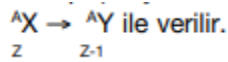


Atomun kararsızlığı nötron azlığından veya proton fazlalığından ileri geliyorsa protonlardan biri nötron ve pozitif yüklü elektrona dönüşür.

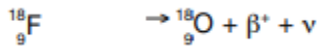
$P^+ \rightarrow n^0 + \beta^+ + \nu + \text{enerji}$  şeklinde verilir.

(+) yükle yüklenmiş  $\beta^+$ , (-) yükle yüklenmiş olan elektronun antipartikülüdür ve ikisinin de kütlesi vardır. Pozitron çekirdekten fırladıktan hemen sonra enerjiye sahip olur. Misal  $^{18}\text{F}$  bozunduğunda stabil haldeki  $^{18}\text{O}$ 'ya dönüşürken dışarıya 695 keV enerjili pozitronlar salınır. Pozitronun, elektron ile çarpışması sonucunda iki ayrı kütle enerjiye dönüşerek yok olur. Bu olaya anihilasyon (yok olma) reaksiyonu denir. Anihilasyon reaksiyonunda her bir partikülün kütle-enerji eşdeğeri 511 keV'dir (Valk vd, 2003).

Standart gösterimde  $\beta^+$  parçalanma;



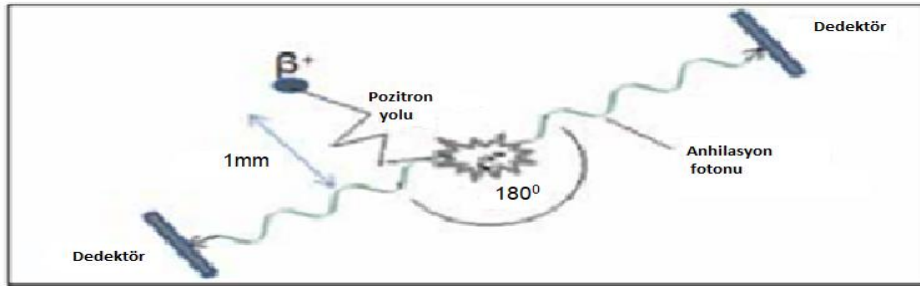
$^{18}\text{F}$ 'in parçalanma şeması  $\beta^+$  salınımına bir örnektir. Bu olay şu şekilde sembolize edilir.



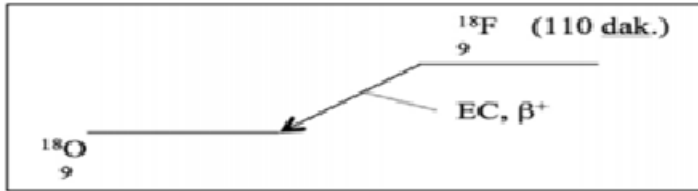
$^{18}\text{F}$ 'in parçalanması sonucunda bir  ${}^{18}_8\text{O}$ , bir  $\beta^+$  ve bir nötrino ( $\nu$ ) salınımı olur.

(+) yüklü elektron olan Pozitron, izlediği yol üzerinde negatif yüklü herhangi bir elektrona çarptığı anda, kütlelerin enerjiye dönüşümü olayı meydana gelir. Kanuna göre çarpışan kütleler yok olur ve 511 keV enerjiye sahip olan iki tane anihilasyon (yok olma) fotonu birbiriyle tam zıt yönlerde ya da matematiksel ifadeyle  $180^\circ$  açı yaparak tam ters doğrultuda salınım gerçekleştirir. Bu olaya anihilasyon (yok olma), oluşan fotonlara da anihilasyon fotonları denir (Şekil 3). Anihilasyon fotonlarının birbiri ile  $180^\circ$  zıt doğrultuda yayıldığı yol boyuna ise eş cevap eğrisi yani Line of Response (LOR) olarak adlandırılır. Bu mekaniğe göre tasarlanan PET kamerada ise detektörler tam karşılıklı gelecek şekilde yerleştirilir. Fotonlar detektörlere düştüğü zaman eğer aynı zamanda ve  $180^\circ$  doğrultusunda yayılan iki anihilasyon fotonunu eş zamanlı olarak detekte ettiklerinden anihilasyon koincidans deteksiyon sistemi de denilir. Nükleer tıp görüntülerinde rastgele saçılmış fotonların olumsuz etkileri çok fazladır. PET görüntüleme teknolojisi ve koincidans tekniği ile bu olumsuzluğun çok büyük oranda önüne geçilmiştir. Sistem aynı anda ve aynı doğrultuda gelen fotonlar varsa bunlar gerçek foton olarak algılanır ve

sistem tarafından belirlenir. Eğer aynı zaman diliminde koinsidans devresine gelmiyorsa bu fotonlar gerçek olmayan (random) sinyal olarak kaydedilir (Şekil 3).



**Şekil 3.** Pozitron ve elektronun anihilasyon fotonunun oluşumunun şematik temsili. LOR hatları boyunca iki tane anihilasyon fotonu yayılır ve aynı anda dedektöre düşer.  $180^\circ$  açı ile yayılır ve aynı anda dedektöre düşer.



**Şekil 4.**  $^{18}\text{F}$ 'in bozunum şeması

Gerçek data ile randomlar arasındaki fark eğer  $180^\circ$  açıyla yayılıp eş zamanlı olarak dedektör tarafından algılanıyorsa gerçek sinyal, fakat farklı koinsidans merkezlerinde meydana gelip aynı zaman diliminde dedektörlere düşmüyorsa bu anihilasyon fotonları random sinyal olarak kaydedilir. Random sinyallerin meydana getirdiği görüntüyü bilgisayar yazılımları aracılığı ile gerçek sinyallerin görüntüsünden ayırt edilebilir.



**Şekil 5.** Koinsidans olaylarının gösterimi.

### 2.5.1. PET (Pozitron Emisyon Tomografisi)

Pozitron emisyon tomografisi (PET), çeşitli malignitelerin teşhisinde evrelemesinde ve takibinde zaman geçtikçe daha fazla kullanılmaktadır. Büyük hücreli

akciğer karsinomu, lenfoma, melanom, meme kanseri ve kolorektal kanser dahil ancak bunlarla sınırlı olmamak üzere çeşitli tümörlerin değerlendirilmesinde çalışılmıştır (Vesselle vd, 2000; Kostakoglu vd, 2003). Prensibi 511 keV enerjiye sahip anihilasyon fotonlarının saptanmasına dayanır. Pozitron Emisyon Tomografide, vücuda  $\beta^+$  (pozitron) ışını yayan radyofarmasötikler verilir. Kullanımı yaygın olan  $^{18}\text{F}$  ve  $^{68}\text{Ga}$  PET radyofarmasötikleri olup radyoaktif bozulma sırasında +yükü beta ışını ( $\beta^+$ ) salınımı yaparlar.

Protonlar ve nötronlar atom çekirdeklerinin temel tanecikleridir. Kararlı yapıdaki atomlarda bunlar en alt enerji düzeylerinde bulunurlar. Proton ve nötron sayıları dengeli olmayan radyoaktif atomların çekirdeği ise uyarılmıştır. Uyarılan çekirdek enerji düzeylerinden temel hale dönme eğilimindedir. Temel hale dönerken ise sahip olduğu enerjinin çok kısmını salar. Fazlası salınmış olan enerji gama fotonudur ve çekirdeğin sahip olduğu yükleri uyarıldıysa çekirdek bozunmaz yani parçalanmaz. Eğer çekirdekteki proton veya nötron sayılarının dengesizliği sebebiyle enerji salınımı yapılmışsa bu durumda çekirdek bozunur. Çekirdekten dışarıya alfa ( $\alpha$ ) veya beta ( $\beta$ ) partikülleri salınımı gerçekleşir.

Fiziksel yarılanma süresi, numune içindeki radyoaktif atomların sayısı zamanla azalır, sıradan bir anda atom sayısının yarısının bozunduğu süreye fiziksel yarı ömür denir. Onkolojik çalışmaların PET görüntülemelerinde en çok kullanılan  $^{18}\text{F}$ 'in fiziksel yarı ömrü 110 dakika,  $^{68}\text{Ga}$ 'in fiziksel yarıömrü ise 69 dakikadır.

Pozitron salınımı yapan ve nükleer tıp kliniğinde kullanılan izotoplar Tablo 1'de verilmiştir. Bu izotopların özellikleri çekirdeklerinde proton fazlalığı olmasıdır, çekirdek dengeye ulaşabilmek için,

$p = n + \beta^+ + \nu$  dönüşümünü gerçekleştirir.

Pozitron ( $\beta^+$ ) ve nötrino ( $\nu$ ) çekirdek dışına salınırlar. Pozitron tüm kinetik enerjisini çevre atomlarla etkileşerek kaybeder ve yavaşlar. Ortamda bulunan bir elektron ile etkileşerek yok olur bu olaya anihilasyon denir. Elektron ve pozitronun durgun kütle enerjilerine eşdeğer enerjide iki foton (anihilasyon fotonu) birbiri ile zıt yönde salınırlar. (Şekil 3)

Ancak anihilasyon olayı gerçekleştiğinde anihilasyon fotonları tam bir doğru boyunca değil az bir miktar sapma ile yayınlanabilirler bu ise ayırma gücünün bir miktar bozulmasına yol açar. Diğer taraftan pozitronun salınımı sonrasında enerjisini kaybedinceye kadar aldığı yol, yani menzili azalım yapan çekirdeğin pozisyonunda

belirsizlik meydana getirir. Bu belirsizlik pozitronun artan kinetik enerjisiyle fazlalaşır. Gerek pozitron menzilineki belirsizlik gerekse 180°'den sapma PET sisteminin uzaysal ayırma gücüne bir sınırlama getirir (Brady vd, 2008).

### 2.5.2. PET Radyonüklidleri

İnsan vücudunun sahip olduğu elementlerle Pozitron Emisyon Tomografi radyonüklidleri benzer biyokimyasal özellikler taşır. Bu sayede insanda hücrese düzeyde araştırma yapılabilmektedir. Hastalıkların sebebi olan biyolojik ve biyokimyasal süreçlerin araştırılarak ortaya çıkarılması imkanını verir. Kullanılan bu radyonüklidlerinin dezavantajı fiziksel yarıömürleri oldukça kısa olmasıdır. <sup>18</sup>F'in yarılanma süresi ~110 dakika olduğu için üretim yerinden alınıp kullanıcıya ulaştırılabilmekte ve ticari kullanım kolaylığı sağlamaktadır (Tablo 1).

**Tablo 1.** En yaygın PET Radyofarmasötikleri ve Fiziksel Özellikleri

Radyonüklid	Üretim Metodu	Yarılanma Süresi (dk)	Max(ve ortalama) pozitron enerjisi (keV)	Ortalama Pozitron range (suda, mm)
<sup>11</sup> C	Siklotron	20,4	970 (390)	1,1
<sup>13</sup> N	Siklotron	9,96	1190 (490)	1,3
<sup>15</sup> O	Siklotron	2,07	1720 (70)	2,5
<sup>18</sup> F	Siklotron	110	635 (250)	0,5
<sup>68</sup> Ga	Jeneratör	69	1899 (836)	0,8
<sup>82</sup> Rb	Jeneratör	1,25	3350 (1532)	1,5

### 2.6. <sup>18</sup>F'in Elde Edilişi

<sup>18</sup>Flor siklotronda hızlandırılmış proton, döteryum veya <sup>3</sup>He iyonlarının nükleer reaksiyonları ile elde edilir. Kullanılan genel üretim yöntemleri çizelgede gösterilmiştir.

**Tablo 2.** Flor-18 üretim yolları (Wester, 2004)

Nükleer Reaksiyon	$O^{18} (p,n)$ $^{18}F$	$O^{16} (He,n)$ $^{18}F$	$Ne^{20}(d,\alpha)$ $^{18}F$	$O^{18} (p,n)$ $^{18}F$
Hedef	$H^2^{18}O$	$H_2O$	$Ne (0,1-0,2$ $\%F_2, 18 atm)$	$^{18}O_2, 20 atm$
Bombardıman Eden Parçacığın Enerji Aralığı (MeV)	16→0	36→0	11,2→0	10→0
Kimyasal Form	$[^{18}F]F^-_{aq}$	$[^{18}F]F^-_{aq}$	$[^{18}F]F_2$	$[^{18}F]F_2$
Kalın Hedef Verimi (MBqμA <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	2200	250	350-450	~350
Spesifik Aktivite(GBqμmol <sup>-1</sup> )	40x10 <sup>3</sup>	40x10 <sup>3</sup>	0,04-0,4	0,04-2

atm:atmosfer basıncı, aq: sulu ortam

### 2.6.1. <sup>18</sup>F'in Florinasyon Metodları

#### 2.6.1.1. Nükleofilik Florinasyon

Bu hazırlama yöntemiyle geniş sayıda radyofarmasötik yüksek radyokimyasal verimle ve yüksek spesifik aktivite ile hazırlanabilir.

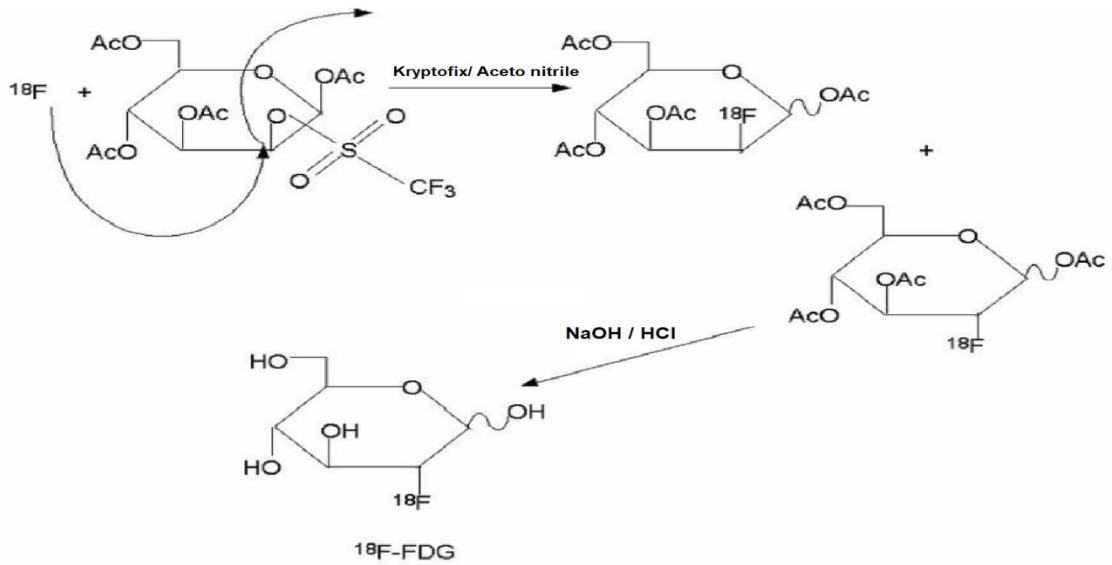


**Şekil 6.** 2-deoksi-2-(F-18) fluoro-D-glukoz [<sup>18</sup>F]-FDG'nin'un molekül yapısı

İlk basamaktan sonra yani [<sup>18</sup>F]florür üretimi ve elde edilmesinden sonra çeşitli seçenekler mevcuttur:

1. [<sup>18</sup>F]Florürün işaretlenmesi istenen molekülün uygun ayrılan grubuyla doğrudan sübstitüsyonu, daha sonra koruyucu grupların hidrolizi.
2. Alkilasyon gibi ikinci bir reaksiyondan sonra reaktif <sup>18</sup>F'lü ara ürünü bir nükleofilik sübstitüsyonla hazırlamak. Sonuçta deprotonasyon reaksiyonu gerekir (Ünak, 2003).

Örnek olarak şekil 7'de [ $^{18}\text{F}$ ]-FDG'nin elektrophilic fluorination ile sentezi verilmiştir.



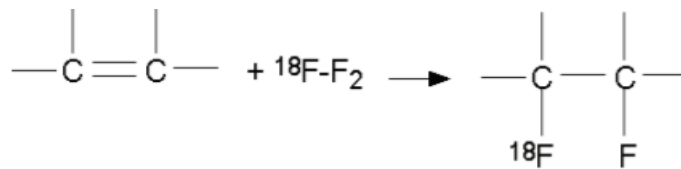
Şekil 7. [ $^{18}\text{F}$ ]-FDG nükleofilik florinasyon ile sentezi (Yu, 2006)

### 2.6.1.2 Elektrophilic fluorination

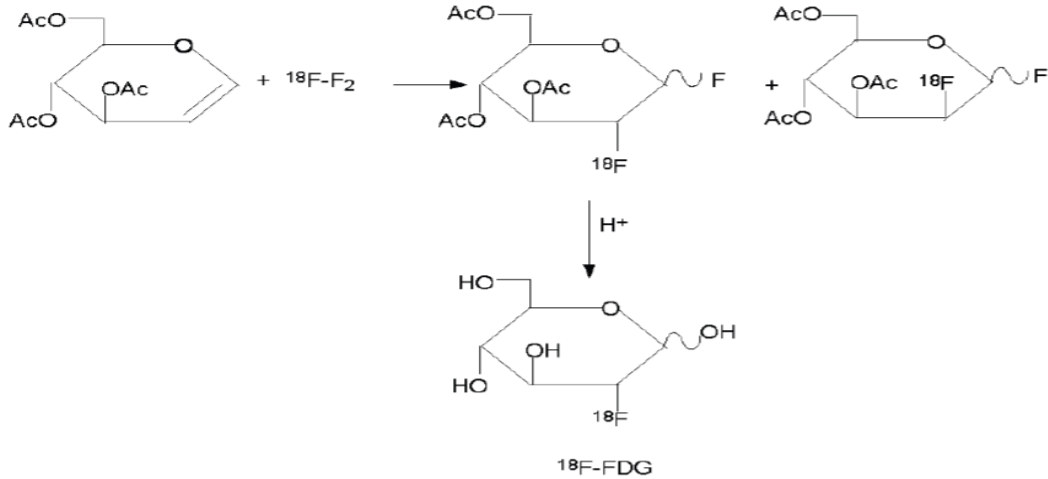
Elemental fluor ( $\text{F}_2$ ) çok reaktif olduğu için hedefe inaktif  $\text{F}_2$  katmak [ $^{18}\text{F}$ ]'un hedefin duvarlarına absorpsiyonunu önlemek için gereklidir. Elektrophilic [ $^{18}\text{F}$ ]florür spesifik aktivitesi düşüktür.

Florinasyon [ $^{18}\text{F}_2$ ] ile doğrudan yapılabilir fakat genellikle [ $^{18}\text{F}_2$ ] reaksiyondan önce [ $^{18}\text{F}$ ]acetylhypofluorite'e çevrilir. N- $^{18}\text{F}$  fluoropyridinium tuzlarına çevrildiği de rapor edilmiştir. Bu dönüşümlerin avantajı [ $^{18}\text{F}$ ]'in girdiği pozisyona daha yüksek oranda seçici olmasıdır. Bununla beraber reaktivite düşer (Ünak, 2003).

Oluşabilecek mümkün reaksiyonlar çift bağa katılma veya aromatik sübstitüsyondur.



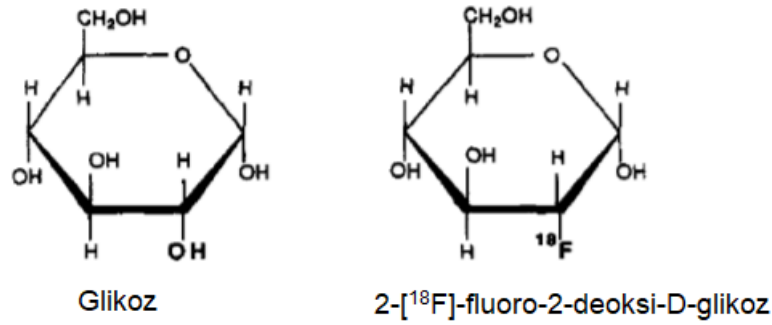
Şekil 8. Elektrophilic Florinasyon (Yu, 2006)



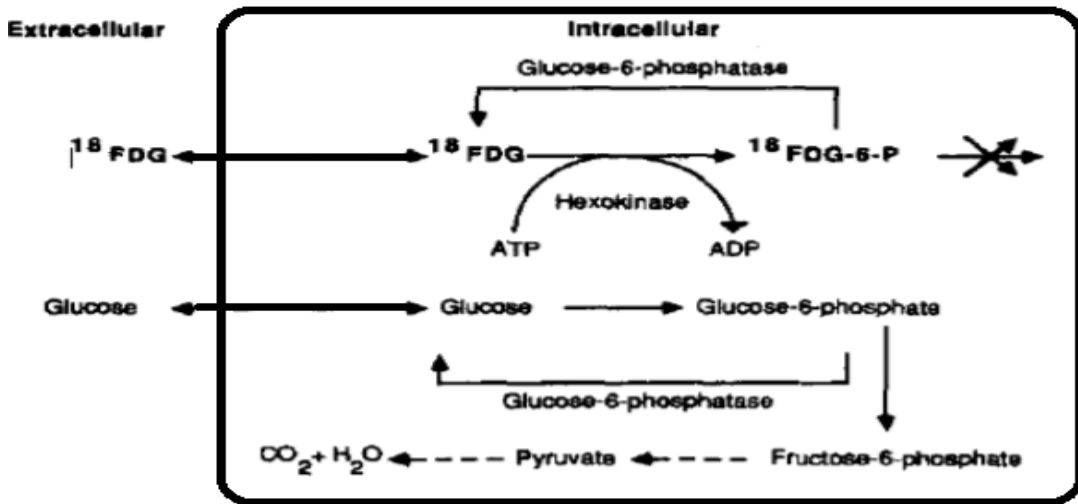
**Şekil 9.**  $^{18}\text{F}$ -FDG'nin elektrofilik florinasyon ile sentezi. (Yu,2006)

## 2.7. $^{18}\text{F}$ -FDG'nin Tümörde Tutulum Mekanizması

Glikoz metabolizması tümör hücrelerinde sağlıklı hücrelere göre artmış olarak görülür.  $^{18}\text{F}$ -FDG'nin tümör görüntüleme temelinde buraya dayanır. Tümör hücrelerindeki artan glikoliz reaksiyonları, glukoz transport proteinlerinin artmasına (özellikle GLUT1) ve intraselüler hekzokinaz enzim düzeylerinin de artmasına neden olmaktadır.  $^{18}\text{F}$ -FDG ve glikoz intravenöz olarak verildikten sonra glikoz metabolizmasının belli bir basamağa kadar aynı yolu izlerler.  $^{18}\text{F}$ -FDG, glikoz gibi insülin bağımlı olmayan GLUT1 ile tümör hücresi içine alındıktan sonra hekzokinaz enzimi ile fosforile edilir ve  $^{18}\text{F}$ -FDG-6P formuna dönüştürülür.  $^{18}\text{F}$ -FDG-6P, glukoz-6-izomeraz enzimi için uygun bir substrat olmadığı için glikolizin diğer metabolik reaksiyonlarına girmez.  $^{18}\text{F}$ -FDG-6P, kandan yeni  $^{18}\text{F}$ -FDG geldiği ölçüde tümör hücresinde giderek artarak birikmeye başlar.  $^{18}\text{F}$ -FDG-6P'nin tümör hücresinden çıkması gereklidir. Bunun da tek yolu fosforilaz enzimleri ile  $^{18}\text{F}$ -FDG'ye dönüşüp hücre dışına taşınmasıdır. Fakat,  $^{18}\text{F}$ -FDG'yi  $^{18}\text{F}$ -FDG'ye dönüştürecek olan glukoz-6-fosfotaz enziminin hepatositler dışında dokularda çok az sayıda bulunması sebebiyle geri dönüşüm çok az miktarda olur ve  $^{18}\text{F}$ -FDG-6P aktif glikoliz gösteren dokularda (özellikle beyin, kalp ve tümör dokusunda) glikoliz hızına bağlı olarak birikmeye devam eder. Bu olaya "metabolik kapan" da denmektedir (Muehllehner vd 2008).



Şekil 10: Glikoz ve FDG yapısı



Şekil 11: Glikoz ve FDG metabolizması

## 2.8. <sup>18</sup>F-FDG PET/BT

Pozitron emisyon tomografisi (PET), klinikte tanı koymak için gerekli bilgileri fizyolojik açıdan değerlendirebilmek adına doku metabolizmasındaki değişikliğe dayalı şekilde veren moleküler bir görüntüleme yöntemidir. F-18 izotopu ile işaretlenmiş fluoro-2-deoksi-glikoz (FDG) ile yapılan PET ile malign tümörlerin birçoğu, artan glikoz metabolizmaları nedeniyle noninvaziv olarak görüntülenebilmektedir. Daha sonra bilgisayarlı tomografi (BT)'den elde edilen görüntüler üst üste çakıştırılarak PET tarayıcıların (PET/BT) geliştirilmesi ile onkolojik PET uygulamaları önemli ölçüde yaygınlaşmıştır. [<sup>18</sup>F]-FDG'nin alım mekanizması ve biyokimyasal yolu ve [<sup>18</sup>F]-FDG'nin glikoz taşıma proteinleri yoluyla hücre zarından taşınması ve heksokinaz ile hücre içi



fosforilasyon, izleyicinin dokuda ki birikimi tanı, evreleme, tedaviye yanıtın değerlendirilmesi, yeniden evreleme, radyoterapi planlaması ve prognoz tayini amacıyla kullanılmaktadır (Kitajima vd 2016).

[<sup>18</sup>F]-FDG hücreye kolaylaştırılmış diffüzyon ile yani GLUT ile girip hekzokinaz tarafından aktive edilir yani [<sup>18</sup>F]-FDG-6-fosfata dönüştürülür ve hücre içinde birikir. Kanser hücrelerinde GLUT1 aşırı eksprese edilir. Tek nükleotid polimorfizmleri gibi genetik varyasyon büyük ölçüde gen ifadesini ve proteinlerin fonksiyonlarını etkileyebilir (Detterbeck vd 2009)

Dokuda [<sup>18</sup>F]-FDG tutulumu glikoz kullanımı ile orantılıdır, glikoz gibi hücre içine alınır ancak metabolize olmaz. Yapılan kantitasyon ile elde edilen maksimal standart uptake değeri (SUVmaks) [<sup>18</sup>F]-FDG'nin lezyon tarafından tutulumunun semikantitatif bir indikatörüdür ve intensitesi tümör hücrelerinin artmış proliferasyonu ile ilişkilidir. [<sup>18</sup>F]-FDG'nin enjeksiyonundan sonra malign hücreler tarafından radyofarmasötüğün dolaşımdan hücre içine alınması saatler içinde artar (Karapolat vd 2018).

FDG tutulumu tümoral lezyonlarda birçok faktöre bağlıdır, lezyonun FDG alımı ile kanser hücrelerinin sayısı arasında büyük bir ilişki vardır. FDG tutulum değerinin az olması canlı tümör hücrelerinin sayısında da azalma gösterir. Eğer FDG tutulum değeri artmışsa ve enflamasyon yoksa canlı tümör hücrelerinin sayısında artma gözlenir ve bu durum tümörde progresyon ile alakalıdır. Bu nedenle tedavi sonrasındaki aşamada FDG ve PET incelemesinin negatif olması, çalışılan doku ya da bölge de kanser hücrelerinin olmadığını veya 10<sup>7</sup> hücreden daha fazla sayıda kanser hücresi içeren lezyon olmadığı anlamına gelmektedir. Birçok hastada tümör rekürrensünün mikroskobik rezidüel hastalık varlığı nedeniyle oluştuğu düşünülmektedir. Bununla birlikte tedavinin tamamlanmasının ardından yüzde yüz negatif PET çalışması tipik bir iyi prognoz göstergesi olmakla beraber, pozitif PET çalışması ise (enflamasyon yokluğunda) kalan tümörün göstergesi olarak kabul edilmektedir.

## **2.9. Görüntü Analizi ve Değerlendirme**

### **2.9.1. SUV (Standardized Uptake Value) (Standartlaştırılmış Alım Değeri)**

SUV fonksiyonu her PET/BT cihazında bulunur ve pek çok radyofarmasötüğe uyarlanabilir. SUV en sık onkolojik uygulamalarda kullanılmaktadır ve aşağıdaki gibi formülize edilir:

SUV=ilgi alanı içindeki radyoaktivite konsantrasyonu (kBq/mL) / enjekte edilen radyoaktivite konsantrasyonu (kBq) / gram cinsinden vücut ağırlığı. 1 gr vücut ağırlığı 1 mL olarak kabul edildiğinde; ölçülen SUV, SUVbw'dir [bw: body weight (vücut ağırlığı)]. SUV değeri enjeksiyon yapılan radyoaktivite vücutta homojen bir şekilde dağılırsa eğer, radyoaktivite miktarı o zaman vücut ağırlığından bağımsız olacak şekilde 1 olmalıdır. [<sup>18</sup>F]-FDG vücutta eşit olarak dağılıma uğramaz.

Maksimum SUV (SUV<sub>maks</sub>) pratikte en çok kullanılan parametredir. Ortalama SUV (SUV<sub>mean</sub>) tümör çevresinden çizilen ilgi hacmi (volume of interest) içerisindeki ortalama piksel değerini yansıtır ve klinik pratikte daha az kullanılmaktadır. SUV formülü her ne kadar vücut ağırlığına göre ayarlama yapsa da, SUV vücut kütlesi ve boyutu ile ilgilidir. Vücut ağırlığı ve vücut kütle indeksi arttığı zaman kanda ve normal dokuda SUV artmaktadır (Karapolat vd 2018).

### 2.9.2. SUV (standartlaştırılmış alım değeri) Hesaplamaları

Görüntülerin değerlendirilmesini yapabilen yazılım PET ve BT verisini görüntüleyebilmeli ve SUV ölçümü yapabilmelidir. Görüntüyü değerlendirmek amacıyla kullanılacak olan monitör nükleer tıp ve radyoloji klinik amaçlarına uygun olmalıdır. Görüntüler onaylı bir PACS (Picture Archiving and Communication Systems) sisteminde -görüntüyü saklama ve iletişim sistemi- DICOM ( DICOM: Medikal görüntüleme aletlerinden çıkan çıktılarının iki ya da üç boyutlu olarak verilerin depolanması formatıdır.) formatında depolanmalıdır. Görüntülere atenüasyon düzeltmesi yapılmalı ve birde düzeltme yapılmadan orjinal haliyle kaydedilmelidir. Atenüasyon düzeltmesi yapılmış tüm kesitler de [<sup>18</sup>F]-FDG tutulumunun kantitatif değeri ve boyutu ölçülebilmelidir.

PET görüntüleri özellikle anormal derecede [<sup>18</sup>F]-FDG tutulumu olup olmadığına bakılarak yoğunluğuna ve anatomik boyutuna göre birlikte değerlendirilmelidir. Görsel değerlendirmenin yanında SUV ölçümleri klinik çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. SUV, tümördeki tutulum oranının dağıldığı hacme göre normalizasyonunu gösteren bir sayısal değerdir.

Hastanın cinsiyeti, boyu ve vücut ağırlığı bilgileri SUV değerinin sonradan normalizasyonuna olanak sağlayabilmek için hasta raporunda yer almalıdır. Daha önce belirtildiği üzere eğer plazma glikoz düzeyine göre SUV normalizasyonu yapılacak ise plazma glikoz düzeyi mutlaka geçerliliği kanıtlanmış bir yöntem ile ölçülmelidir.

Literatürdeki basılı bilginin büyük kısmı vücut ağırlığına göre normalize edilmiş SUV değerini kullanır. Vücut kas kütleğine göre normalize edilen  $SUV_{LBM}$  değeri SUL olarak adlandırılır.

SUL ( $SUV_{LBM}$ ) şu şekilde hesaplanır;

$$SUL = \text{Aktivite}^{VOI}(\text{kBq/mL}) / \text{Aktivite}^{\text{uygulanan}}(\text{MBq}) / \text{vücut kas kütlesi (kg)}$$

SUL değerinde plazma glukoz düzeyine göre düzeltme yapılacak ise şu formül kullanılır;

$$SUL_{glu} = \text{Aktivite}^{VOI}(\text{kBq/mL}) \times \text{Glukoz}^{\text{plazma}}(\text{mmol/L}) / \text{Aktivite}^{\text{uygulanan}}(\text{MBq}) / \text{vücut kas kütlesi (kg)} \times 5,0 (\text{mmol/L})$$

Vücut Kas kütlesi (LBM) ise şu şekilde hesaplanır;

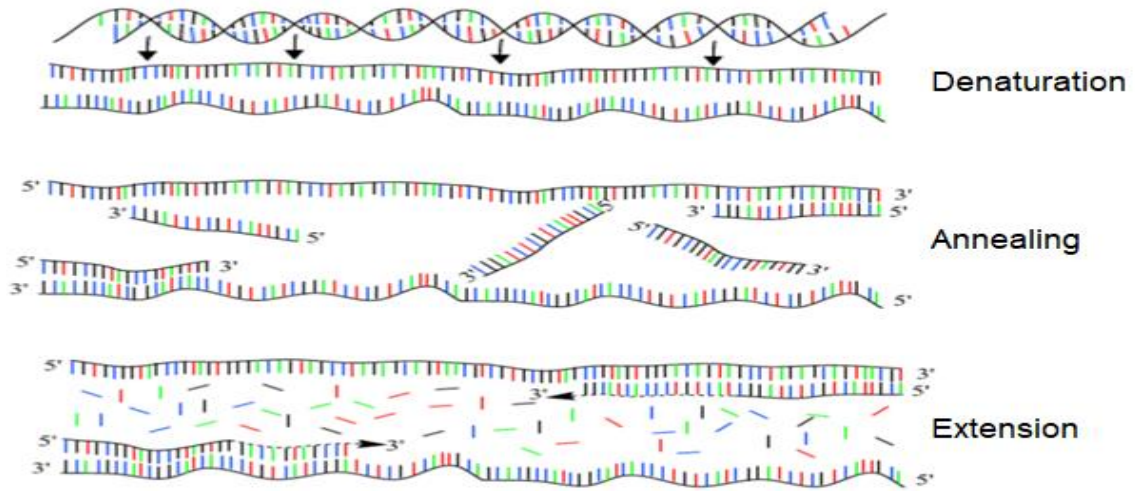
$$LBM^E = 9,270 \times \text{vücut ağırlığı} / (6,680 + 216 \times \text{beden kitle indeksi})$$

$$LBM^K = 9,270 \times \text{vücut ağırlığı} / (8,780 + 244 \times \text{BKİ})$$

## 2.10. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) (*Polymerase Chain Reaction – PCR*)

Moleküler analiz çalışmaları için Polimeraz Zincir Reaksiyonu tekniği çok önemli bir dönüm noktasıdır. PCR, DNA replikasyon işleminin temel bileşen yapıları kullanılarak DNA'nın ependorflar içinde kopyalanması ve çoğaltılmasıdır. Bütün genom replike edilebilmektedir. DNA ikili sarmal yapısı açılmakta, ana şablon olan DNA'nın her bir zinciri kalıp olarak kullanılır ve yeni iki tamamlayıcı (komplementer) eksen sentezlenir. Yeni eksenlerin sentezlenmesi, Watson and Crick kurallarına göre A-T ve G-C arasında olacak şekilde baz çiftlerinin oluşması yeteneğine bağlıdır. Ayrıca DNA replikasyonunun başlayabilmesi için kalıp DNA ile komplementer olan RNA primerlerinin de sentezlenmesi gerekmektedir. DNA polimeraz enzimi, kısa oligonükleotidlerin (primer) 3' OH ucuna yeni nükleotidleri ekleyerek yeni oluşan DNA eksenini uzatabilmektedir. DNA'nın çoğaltılması için; 6-30 nükleotid uzunluğunda primerlere, optimum pH seviyesine ve optimum tuz konsantrasyonu sağlayan tampon çözeltiye, DNA polimeraz enzimi için magnezyum'a ve dNTP' lere ihtiyaç duyulmaktadır. PCR bu üç basamağın defalarca tekrarlanmasına dayanan yöntem olup üç basamaktan oluşmaktadır.

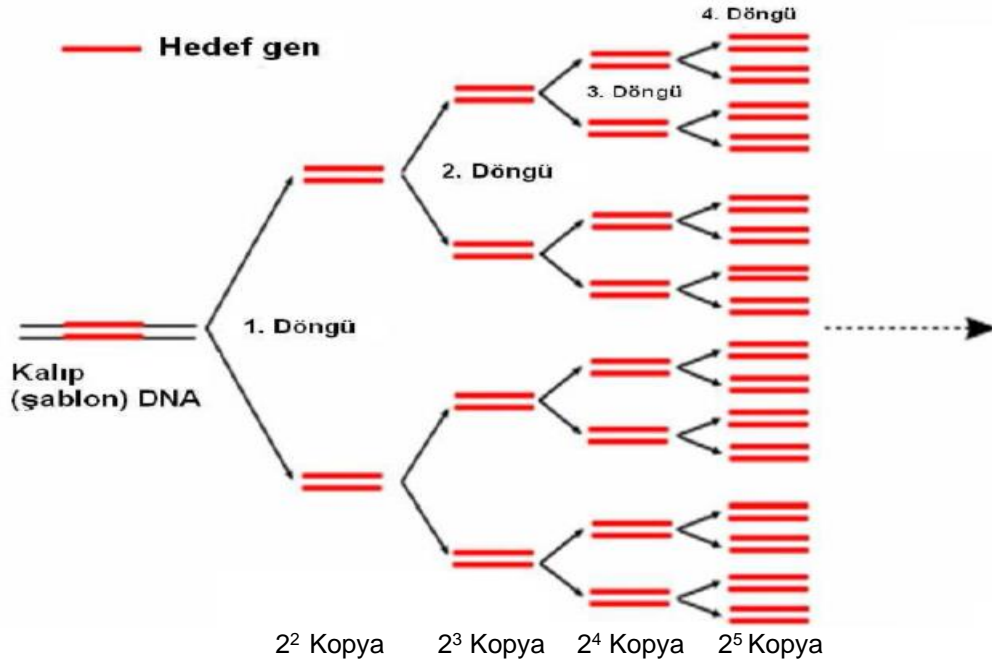
- DNA zincirinin açılması (denaturation),
- Primerlerin Açılan DNA Zincirlerine Yapışması -hibritleşme- (annealing)
- Primer uzaması (extension)'dir.



**Şekil 12:** Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Ozdil, F., 2007: s.27)

Kalıp DNA'nın iki zinciride, yaklaşık 94-95°C'ye maruz kaldığında birbirinden ayrılmaktadır. PCR'ın ilk aşaması bu denatürasyon basamağıdır. DNA zincirlerinin birbirinden ayrılmasıdır. Zincir ayrılması, 15 saniyeden birkaç dakikaya kadar olabilmektedir. İkinci aşama oligonükleotid primerlerinin (6-30 bazlık) kalıp DNA üzerindeki tamamlayıcı (komplementer) sıralara eşlenmeleri ve hibritlenme olayının olmasıdır. Bunun için hibritlenme aşamasında reaksiyon soğutulur. Primerlerin doğru bir biçimde hibritlenmesi için sıcaklığın 40-72°C aralığında (optimum 55°C) olması gerekir. Primerlerin bağlanması için 55°C'de 1-2 dk tutmak yeterlidir. Son aşamada ise optimum sentez sıcaklığında (72°C), sıcaklığa dayanıklı özgün bir DNA polimeraz enzimi primerlerin 3'OH uçlarına deoksiribonükleotidleri ekleyerek yeni zincirleri kalıp sıraya komplementer olacak şekilde sentezlemektedir. Bu son aşama yeni DNA zincirlerinin sentezinin yapılması olarak bilinmektedir. Uzama aşaması 1-3 dk kadar olmalıdır.

Bu üç döngüde DNA molekülü, iki katına çıkarılarak hedeflenen DNA parçacığı üssel bir artışla çoğaltılmakta ve bu DNA parçacıkları agaroz gibi destek ortamlarında tespit edilebilmektedir (Güzelgöl, F., 2010: s 46)



**Şekil 13:** PCR döngüsü üssel çoğalım(Ozdil, F., 2007: s.29)

### 2.11. DNA Dizi Analizi

Genetik farklılıkların tespit edilmesinde kullanılan etkin yöntemlerin başında DNA dizi analizi yöntemi gelmektedir. Aynı yıllarda ortaya konan yöntemler DNA dizi analizinin temelini oluşturmaktadır. İlk olarak Maxam and Gilbert (1977) tarafından ortaya konan ve bazı nükleotidlere (A, T, C ya da G) özgü kimyasal kesim reaksiyonu temelinde geliştirilen yöntemdir. Maxam–Gilbert yönteminde dizi analizi yapılacak olan hedef DNA bölgesinin uç kısımları radyoaktif madde ile işaretlenmekte ve bazlara özgün noktalardan kesim yapabilen çeşitli kimyasal maddeler ile DNA molekülü 4 ayrı reaksiyon alt grubunda incelenmektedir. Farklı bileşiklerle muamele edilen DNA örneğin G nükleotid pozisyonundan kesilmiş olsun. G nükleotidi ile son bulmuş olan farklı uzunluklardaki DNA parçacıkları elde edilmiştir. Jel elektroforezinde yürütülen nükleotid parçacıkları ayrılmakta ve otoradyografi ile görüntülenmektedir. Diğer üç nükleotide benzer reaksiyonlar yapılarak elde edilen parçacıklar jel elektroforezi ile ayrılmaktadır. En son olarak otoradyografi sonucu görüntülenen bantlar anlamlandırılarak DNA dizisi elde edilmektedir (Güzelgöl, F., 2010: s .50)

Günümüzde kullnılmakta olan otomatik DNA dizi analizi yöntemlerinin öncüsü kabul edilen Sanger yöntemi Sanger et al. (1977) tarafından ortaya konmuştur. Bu yöntem laboratuvar ortamında (in-vitro) gerçekleştirilen DNA replikasyonu işleminin kontrollü bir şekilde yarıda kesilmesi temeline dayanmaktadır. Denatüre edilen DNA ve hedef DNA



## 2.12. Hipotezler

GLUT1-Xbal G>T'nin (rs2754218) [<sup>18</sup>F]-FDG alımı üzerindeki olası fonksiyonel etkisini ve standart hale getirilmiş alım değeri (SUV), bir ilgi bölgesi tekniği kullanılarak ve vücut ağırlığı için düzeltme kullanılarak [<sup>18</sup>F]-FDG alımının bir ölçüsü olarak tümör dokusunda belirlemek amacıyla GLUT1 genindeki GLUT1-Xbal G>T (rs2754218) ve HaeIII T>C (rs1385129) polimorfizminin [<sup>18</sup>F]-FDG alımına tutulum oranlarına etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

H<sub>1</sub> : Glut1—Xbal G>T (Rs2754218) Ve HaeIII T>C (Rs1385129) Polimorfizmlerinin [<sup>18</sup>F]-FDG Tutulum Oranlarının Üzerine Etkisi vardır

H<sub>2</sub>: Glut1—Xbal G>T (Rs2754218) Ve HaeIII T>C (Rs1385129) Polimorfizmlerinin [<sup>18</sup>F]-FDG Tutulum Oranlarının Üzerine Etkisi yoktur.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

#### 3.1. Gereçler

##### 3.1.1. Cihazlar

PET/BT Ünitesi (Philips, Cleveland, OH, ABD)

DNA Dizi Analizi

Thermal Cyclers

Hassas Teraziler

Santrifüj

Elektroforez Güç Kaynağı

Derin Dondurucu Beko

Etüv

Vorteks

##### 3.1.2. Kullanılan Malezemeler

Glisin

EDTA

Tris

Borik asit

HCl

Etanol

Sodyum dietil barbital

Asetik asit

Selüloz asetat kağıdı

Taq polimeraz

DNA izolasyon kiti

dNTP'ler

Primerler



### 3.2. Örnek Seçimi

Çalışmamız, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Nükleer Tıp Anabilim Dalı PET/BT ünitesinde, malignite araştırması nedeniyle F-18 onkolojik tüm vücut FDG PET/BT çekilmek üzere başvuran her hangi bir kanser ön tanısı veya tanısı konmuş, tedavi almamış ve ilk defa [<sup>18</sup>F]-FDG PET uygulanacak hastalar çalışmaya dahil edildi. Çalışmamızda 100 hasta birey, kontrol grubunda ise 100 sağlıklı birey araştırmaya dahil edildi. Hastaların PET/BT görüntüleri değerlendirilerek kütle lezyonu metabolizması (SUVmax) ve beraberinde metastatik odakların olup olmadığı değerlendirildi. PET/BT çalışmasından hemen önce hastaların periferik kanından elde edilen DNA'lar manuel olarak izole edilip +4 derecede saklanmıştır. Polimorfizmleri saptamada PCR ve DNA dizi analizi yöntemi tanımlanmıştır. GLUT1-XbaI G>T (rs2754218) ve HaeIII T>C (rs1385129) polimorfizmleri hastalarda belirlenerek [<sup>18</sup>F]-FDG tutulum oranlarının üzerine etkisini araştırıldı.

### 3.3. Yöntemler

#### 3.3.1. Kandan Genomik DNA İzolasyonu

Kaotropik tuzlar ve proteinaz K içeren tamponla örnekler parçalanır. Parçalanan maddeler yıkama basamaklarıyla uzaklaştırılıp saflaştırılmış DNA toplanır.

#### Yöntem

- 1) Kan örnekleri ependorfa alınır.
- 2) 200 mikrolitre (µl) dH<sub>2</sub>O eklenir ve vortekslenip santrifüj edilir.
- 3) 450 µl STE üzerine 70 µl SDS koyulup sadece vortekslenir.
- 4) 10 µl Proteinaz K eklenir, vortekslenir. Etüve gece boyuna bırakılır.
- 5) Gece boyundan çıkarılan örneklere 500 µl Fenol eklenip 1200 rpmde 15 dk santrifüjlenir. Bu zaman zarfında her bir örnek için ikişer tane ependorf hazırlanıp etiketlenir.
- 6) Santrifüjden çıkan ependorflardan alttaki fenol fazı hareketlendirmeden üst faz alınır yeni ependorfa koyulur.
- 7) Üst fazı içeren tüplere 500 mikrolitre kloroform eklenip vortekslenir -tüpün içi beyaz olana kadar-

8) 12000 rpm'de 15 dk santrifüj edilir.

9) Beklerken her örnek için hazırlanmış olan ikinci ependorfa 600 µl saf alkol 100 mikrolitre amonyum asetat eklenir.

10) Santrifüjden çıkan kloroformlu tüplerden üst faz alıp ikinci ependorfa eklenir. -20 santigrat derecede bekletilir.

11) -20 santigrat derecede bekleyen örnekler oda sıcaklığında eridikten sonra 12000 rpm'de 5 dk santrifüj edilip üst faz dökülür.

12) Önceden hazırladığımız %70'lik alkolden 200 µl örneklerin son halinin bulunduğu ependorfa eklenip 12000 rpm'de 2 dk santrifüj edildikten sonra çökeltiye dikkat ederek üst faz dökülür.

13) Son aşama olarak çökeltinin olduğu ependorfa 150 µl dH<sub>2</sub>O eklenerek oda sıcaklığında kurutmaya bırakılır.

### 3.3.2. PCR

#### Gereçler

##### Çözeltiler

- 1) 10x PCR Tamponu
- 2) 25 mM MgCl<sub>2</sub>
- 3) 6 mM dNTP
- 4) Taq polimeraz
- 5) Primer

#### PCR Karışımı ( 28,45 µl )

10x PCR Tamponu 2,5 µl

5x GC Geliştirici 2,5 µl

25mM MgCl<sub>2</sub> 1,5 µl

6 mM dNTP 0,75 µl

10pmol primer (Forward ) 1 µl

10pmol primer (Reverse) 1 µl

Taq polimeraz (5 U/µl) 0,2 µl

Saf su 16,5 µl

DNA(0.5-1mg/µl) 2,5 µl

### **PCR Programı**

PCR programı 1. döngü, 95°C'de 5 dk olacak şekilde başlatılmıştır. 35 döngü; 95°C'de 45 sn (denatürasyon), 60°C'de 1 dk (Annealing) ve 72°C'de 1 dk 30 sn (extension) olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Son döngü 72°C'de 5 dk olacak şekilde tamamlanmıştır.

### **3.3.3. Agaroz Jel Elektroforezi**

#### **Gereçler**

%1,5'lik Agaroz Jel

Agaroz 1,5 g

100 ml 0,5 X TBE tamponu içinde mikrodalga fırında çözülerek hazırlanmıştır.

#### **Yükleme Tamponu**

Brom fenol mavisi %0,05

#### **5 X TBE Tamponu pH 8,0**

Tris baz 54,0 g

Borik asit 27,5 g

EDTA (0,5M pH 8,0) 20 µl

1 L saf suda çözülerek hazırlanmıştır.

#### **Etidyum Bromür Çözeltisi**

EtBr 5 µg/µl olacak şekilde saf suda çözülerek hazırlanmıştır.

### 3.3.4. DNA Dizi Analizi

DNA dizi analizinde Sanger ve Coulson'un tekniği olan zincir sonlandırma tekniği kullanılmıştır. Bu yöntemde, DNA polimeraz enzimi dNTP'lerin yanında deoksiribozin 3' pozisyonunda OH grubu taşımayan ddNTP'leri de substrat olarak kullanmaktadır. Sentezlenen DNA iplikiğine dNTP eklendiğinde uzama devam ederken, ddNTP'ler eklenince zincir uzaması durmaktadır. Otomatize DNA dizi analizinde reaksiyonların başlangıcında floresans veren madde ile işaretli primer veya nükleotidler kullanılarak baz dizilimi gözlenebilir hale getirilmektedir.

Elektroforetik görünümün, anlamlı verilere dönüştürülmesi için algoritmalara ve dizi derlemesine gerek duyulur. Elektroforetik nitelerde bulunan lazer işık kaynağı DNA'nın bulunduğu jelmatriksi tarar. Elektroforez süresince DNA'ya bağlanan floresan boya işık ile taranan bölgeye geldiğinde uyarılır. Uyarılan boya kendi için karakteristik olan dalga boyunda işiği geri yansıtır. Yansıyan bu işık demeti bir detektör tarafından kaydedilir. Kaydedilen veriler bilgisayar programları ile değerlendirilerek sonuçlar grafiksel ya da matematiksel olarak bilgisayar ekranına aktarılır. Otomatize dizi analizinde, heterozigot olguların elektroforez pikleri üst üste gelmektedir.

### 3.3.5. [<sup>18</sup>F]-FDG PET / BT

Tüm hastalara, yaklaşık 270 MBq [<sup>18</sup>F]-FDG intravenöz uygulamasından önce 4 saat a kalmaları istendi. Enjeksiyondan yaklaşık 80 dakika sonra, bir PET / BT nitesi (Gemini TF TOF PET-BT; Philips, Cleveland, OH, ABD) kullanılarak tüm vücut PET / BT taramaları elde edildi. Sistem, tam halka zel PET tarayıcı ve 2 dilimli spiral BT tarayıcıdan oluşur. Görüntüleme protokolü, 1.500 ml su bazlı oral kontrast madde ile hastanın hazırlanmasını ve 140 ml kontrast ortamın (Ultravist 300; Schering AG) intravenöz enjeksiyonunu içermiştir. nce bir BT taraması (130 kV'de 100 mA), ardından bir PET taraması (3 boyut; emisyon süresi, vücut ağırlığına göre 4-6 dakika / yatak konumu) alındı. Nefes almanın neden olduğu artefaktlardan kaçınmak için sınırlı bir nefes tutma tekniği kullanıldı.

### 3.3.6. Kantitatif PET Ölçümleri

Standardize edilmiş alım değeri (SUV), bir ilgi bölgesi tekniği kullanılarak [<sup>18</sup>F]-FDG alımının bir ölçüsü olarak tümör dokusunda belirlendi. Ayrıntılı olarak, tümörden maksimum PET sinyali ile dilimdeki tümörün üzerine dairesel bir ilgi bölgesi yerleştirildi. Bu ilgi bölgesi dahilinde, en yüksek PET sinyaline sahip piksel belirlendi ve aşağıdaki formüle göre maksimum SUV olarak verildi:

$$\text{SUV} = \frac{\text{ilgi alanı içindeki radyoaktivite konsantrasyonu (kBq/ml)}}{\text{enjekte edilen radyoaktivite konsantrasyonu (kBq) / vücut ağırlığı (g)}}$$

### 3.3.7. GLUT1 Genotiplerinin Belirlenmesi

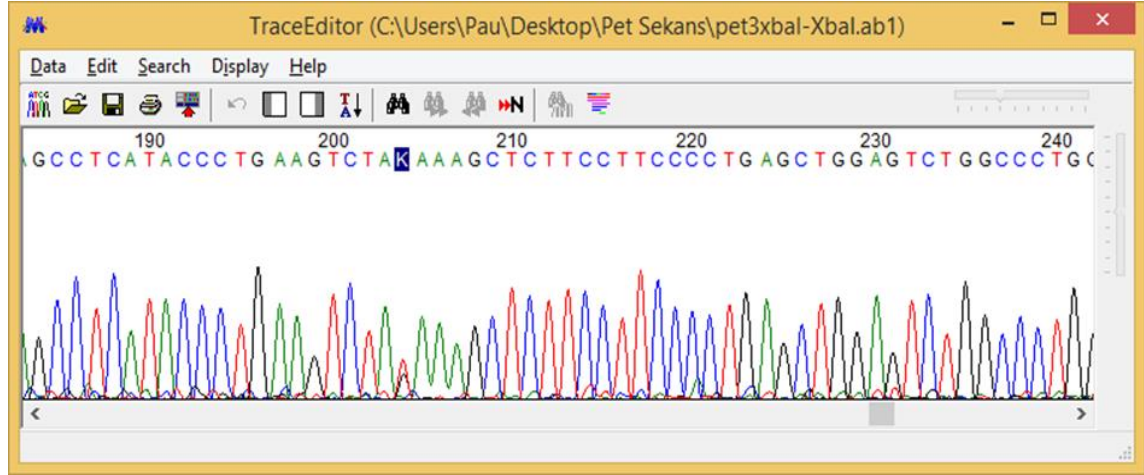
Elde edilen genomik DNA'dan, GLUT1 Polimorfizm Detection PCR kiti ve DNA dizi analizi yöntemiyle (ABI Prism) kullanılarak hedeflenen GLUT1—XbaI G>T(rs2754218) ve HaeIII T>C (rs1385129) polimorfizmleri belirlendi. Kullanılan primerler tablo 3'de belirtilmiştir.

**Tablo 3.** GLUT 1 Polimorfizmleri Belirlerken Kullanılan Primerler

Polimorfik Bölge	Primerler	PCR Ürünü
GLUT-1 G>T(rs2754218)	F-TGC AAC CCA TGA GCT AAC AA R-GAA CCC AGC ACT CTG TAG CC	305bp
GLUT-1 T>C (rs1385129)	F-CTC CCA GAC ACG CCT ATA ACA GT R-GGC TGG TGT CCA TAA GCC AAC G	173bp

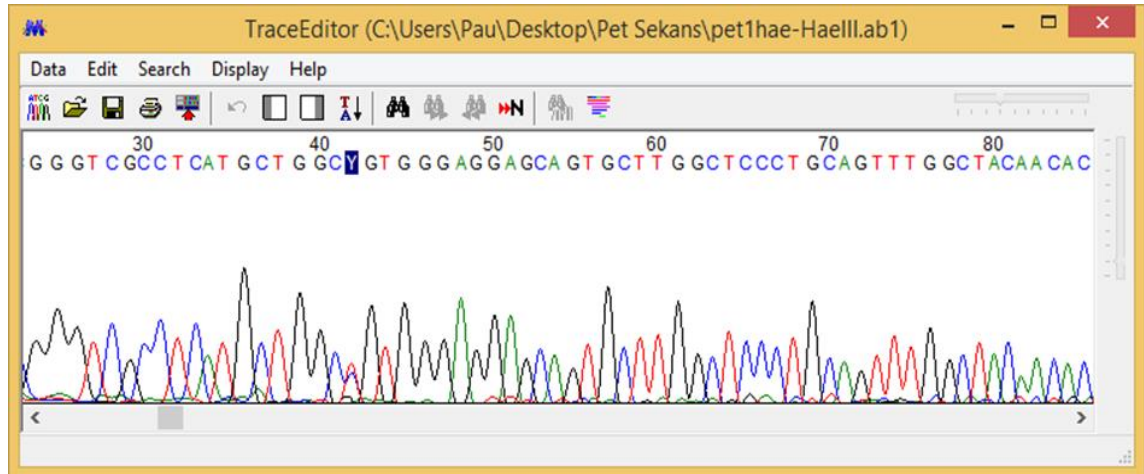
#### 4. BULGULAR

GLUT-1 XbaI G>T(rs2754218) polimorfizmine ait DNA dizi analizi sonucu şekil 10 ve 11’de gösterilmiştir.



**Şekil 15:** K, dizi analizindeki G>T nükleotid değişiminin heterozigot formda kalıtıldığını belirtmektedir.

GLUT-1 HaeIII T>C (rs1385129) polimorfizmine ait DNA dizi analizi sonucu şekil 11’de gösterilmiştir.



**Şekil 16:** Y, dizi analizindeki C>T nükleotid değişiminin heterozigot formda kalıtıldığını belirtmektedir.

**Tablo 4.** Hastalardaki genotip dağılımları

	<b>Genotip n (%)</b>
<b>GLUT-1 XbaI G&gt;T(rs2754218)</b>	<b>G/G, 87 (%87)</b> <b>G/T, 12 (%12)</b> <b>T/T, 1 (%1)</b>
<b>GLUT-1 HaeIII T&gt;C (rs1385129)</b>	<b>C/C, 54(%54)</b> <b>T/C, 31(%31)</b> <b>T/T, 15(%15)</b>

XbaI G>T genotip dağılımına bakıldığında XbaI G/G genotipi %87 oranında; XbaI G/T genotipi ise %12 oranında görüldü. Sadece 1 hastada (%1) ise XbaI T/T genotipi saptandı. HaeIII T/C genotip dağılımında ise HaeIII C/C genotip %54; HaeIII T/C genotip %31; HaeIII T/T genotip ise %15 oranında saptandı.

**Tablo 5.** Kontrol grubu genotip dağılımları

	<b>Genotip n (%)</b>
<b>GLUT-1 XbaI G&gt;T(rs2754218)</b>	<b>G/G, 87 (%87)</b> <b>G/T, 13 (%13)</b>
<b>GLUT-1 HaeIII T&gt;C (rs1385129)</b>	<b>C/C, 48(%48)</b> <b>T/C, 42(%42)</b> <b>T/T, 10(%10)</b>

**Tablo 6.** Kanser türleri ve SUV sonuçları

<b>Kanser Türü</b>	<b>SUVmaxPrimer Ort±Std. Sapma</b>
<b>Melanoma</b>	11,65±12,7
<b>Akciğer-Bronşial Tm</b>	11,09±5,48
<b>Üro-genital Tm</b>	10,73±3
<b>GİS Tümörleri</b>	2,15±4,8
<b>Meme CA</b>	5,26±2,19
<b>Diğer</b>	9,75±5,38
<b><i>p-Değeri</i></b>	0,071

SUVmaxPrimer değerleri melanoma grubunda 11,65±12,7; akciğer bronşial tümörler grubunda 11,09±5,48; ürogenital tümörler grubunda 10,73±3; GİS tümörler grubunda 2,15±4,8; meme ca grubunda 5,26±2,19 olarak saptandı.



**Tablo 7.** Kanser türleri ve GLUT-1 Genotip Sonuçları

<b>GLUT-1 Xbal G&gt;T(rs2754218)</b>	<b>Genotip n (%)</b>
<b>Melanom</b>	<b>G/G, 4 (%100)</b> <b>G/T, 0</b> <b>T/T, 0</b>
<b>Akciğer-Bronşiyal Tümörler</b>	<b>G/G, 19 (%52,77)</b> <b>G/T, 17 (%47,23)</b> <b>T/T,</b>
<b>Ürogenital Tümörler</b>	<b>G/G, 17 (%100)</b> <b>G/T,</b> <b>T/T,</b>
<b>GİS Tümörleri</b>	<b>G/G, 15 (%100)</b> <b>G/T,</b> <b>T/T,</b>
<b>Meme CA</b>	<b>G/G, 16(%100)</b> <b>G/T,</b> <b>T/T,</b>
<b>Diğer</b>	<b>G/G, 11(%100)</b> <b>G/T,</b> <b>T/T,</b>
<b>GLUT-1 HaellI T&gt;C (rs1385129)</b>	
<b>Melanom</b>	<b>C/C, 4 (%100)</b> <b>T/C,</b> <b>T/T,</b>
<b>Akciğer-Bronşiyal Tümörler</b>	<b>C/C, 10 (%27,77)</b> <b>T/C, 15 (%41,66)</b> <b>T/T,</b>
<b>Ürogenital Tümörler</b>	<b>C/C, 17 (%100)</b> <b>T/C,</b> <b>T/T,</b>
<b>GİS Tümörleri</b>	<b>C/C, 11 (%73,33)</b> <b>T/C, 4 (%26,67)</b> <b>T/T,</b>
<b>Meme CA</b>	<b>C/C, 8 (%50)</b> <b>T/C, 6 (%37,5)</b> <b>T/T, 2 (%12,5)</b>
<b>Diğer</b>	<b>C/C, 4 (%33,3)</b> <b>T/C, 6 (%50)</b> <b>T/T, 2 (%16,7)</b>

Kanser tipleri kanserin görüldüğü sisteme bakıldığında hasta grubu melanom, akciğer bronşial tümörleri, ürogenital tümörler, gastrointestinal sistem tümörleri, meme ca ve diğer olarak alt gruplara ayrıldı. Melanom, ürogenital tümörler, GİS tümörleri, meme ca ve diğer kanser alt gruplarında tüm hastalar Xbal G/G genotipine sahipken, bronşial tümörlerde %42,2 oranında Xbal G>T genotipi görüldü.

**Tablo 8.** Xbal ve HaeIII genotiplerinin birlikte incelenmesi ve SUV ilişkisi

Genotip (N=100)	%	SUVmax Primer Ort±Std. Sapma
Xbal G/G &HaeIII C/C	54	10,89±5,85
Xbal G/T &HaeIII T/T	9	10,65±6,75
Xbal G/T &HaeIII T/C	8	9,54±5,02
Xbal T/T &HaeIII T/T	1	
Xbal G/G &HaeIII T/T	5	4,28±3,48
Xbal G/G &HaeIII T/C	23	6,81±2,67
p-Değeri		0,678

Xbal ve HaeIII genotipleri birlikte değerlendirilerek kanser türleri ve bu her iki genotipin ilişkisi incelendiğinde özellikle akciğer ve bronşial tümör grubunda polimorfik genotiplerin sayısının diğer kanser türlerine göre belirgin olarak fazla olduğu gösterilmektedir. Akciğer- bronşial tümör grubunda yer alan toplam 36 hastanın 26'sının (%72,2) her iki gen bölgesinden en az birinde mutasyona sahip olduğu görüldü.

#### 4.1. İstatistiksel Analiz

Benzer olarak düzenlenmiş referans bir çalışma olmadığından, varsayımlar doğrultusunda yapılan güç analizi sonucunda, çalışmadan beklediğimiz etki büyüklüğünün orta-yüksek düzey olacağı ( $f=0.4$ ) varsayıldığında %95 güvenle %90 güç elde edebilmek için çalışmaya en az 84 kişi alınması gerekli olduğu saptandı. Çalışmaya %15 veri kaybı ön görüşüyle 100 hasta alındı. Veriler SPSS paket programıyla analiz edildi. Sürekli değişkenler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak, kategorik değişkenler sayı ve yüzde olarak verildi. Hastaların genotip verileri frekans analizi ile saptandı. Hasta grubu kanser görülen bölgesine göre alt gruplara ayrıldı. Alt gruplardaki genotip verileri için de frekans analizi kullanıldı.

Parametrik test varsayımları sağlandığında bağımsız ikiden fazla grup farklılıkların karşılaştırılmasında tek yönlü ANOVA testi kullanıldı. Parametrik test

varsayımları sağlanmadığında ise bağımsız grup farklılıkların karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanıldı. Ayrıca sürekli değişkenlerin arasındaki ilişkiler Spearman korelasyon analizleriyle ve kategorik değişkenler arasındaki farklılıklar ise Fisher exact test ile incelendi. Tüm incelemelerde  $p < 0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 5. TARTIŞMA

Glukoz ökaryotik organizmaların ana enerji kaynağıdır ve hücre homeostazisini farklı metabolik fonksiyonları korumada önemli bir rol oynar. Glukoz molekülünün hücre içine alınımında integral transmembrane protein olan GLUT'lar rol oynamaktadır. Dizi benzerlikleri temelinde ve polimorfizmleri sonucu kansere sebep olan, GLUT ailesi üç alt sınıfa ayrılmıştır; GLUT1, GLUT2 ve GLUT3. Her bir sınıf içerisinde yer alan isoform glukoz metabolizmasında farklı rol oynamaktadır. Sınıf I içerisinde yer alan GLUT1, yaygın olarak fetal dokularda, dağılmaktadır. 492 aminoasit içeren GLUT1, *SLC2A1* geni tarafından kodlanmaktadır. Yetişkinlerde, eritrositlerde ve aynı zamanda, kan-beyin bariyer bariyeri gibi dokuların endotel hücrelerinde yüksek seviyelerde bulunmaktadır. Bununla birlikte, bütün hücrelerde solunumu sürdürmek için gerekli temel glukoz alınımında düşük seviyede sorumludur.

Tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP) gibi genetik varyasyon büyük ölçüde gen ifadesinin ve proteinlerin fonksiyonlarını etkileyebilir. DNA dizisinin bu küçük bir değişiklik, belirli hastalıkların gelişimini veya patojenler, ilaçlar veya diğer ajanlarla tedaviye yanıtı etkileyebilir. Yapılan çalışmalarda, glikoz taşıyıcı proteinlere ait genler üzerindeki polimorfizmlerin diyabet, kanser ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.

PET görüntüleme çeşitli kanserlerde tanı, evreleme ve takipte kullanımı giderek artmaktadır. Tümör fonksiyonunun ve anatomisinin korele edilebildiği PET/BT onkolojik tedavi ve tanısal doğruluğun artmasını sağlamıştır. Bu amaçla en çok kullanılan görüntüleme ajanı Flor-18 florodeoksiglukoz [<sup>18</sup>F]-FDG'dur. Kanserli hastalarda mortalite ve morbiditeyi düzeltmede yardımcı olarak onkolojide hasta takibinde olağanüstü fayda sağlayan PET/BT kullanımı dünya genelinde kabul görmüş noninvaziv görüntüleme tekniğidir. Genelde tümör agresifliğini yansıtan [<sup>18</sup>F]-FDG tutulum düzeyi, canlı tümör dokusu belirteci ve artmış glukoz metabolizması göstergesi olarak tümörlerdeki [<sup>18</sup>F]-FDG akümüasyonu bilinen doğal tümör davranışını göstermektedir.

Çok hızlı gelişme gösteren görüntüleme yöntemi olan PET/BT, yorumlamada doğruluğu arttırması ve tamamlayıcı bilgi sağlaması nedeni ile güçlü bir multimodalite görüntüleme tekniği olarak kabul görmektedir. PET/BT için, sentez modülüne radyoaktif ajan üretimine gitmeden önce, siklotrondan üretilen pozitron yayıcı radyonüklid gereklidir. Dual görüntüleme yöntemi olan PET/BT, tomografik görüntüler ve dokulardaki perfüzyon, hücre canlılığı, proliferasyon ve/ veya metabolik aktiviteyi yani anormal metabolik dokulardaki fonksiyonel ve yapısal değişiklikleri saptar. PET/BT'de en çok kullanılan radyoaktif ajan glukoz derivesi olan 2-(<sup>18</sup>F) fluoro-2-deoxy-D-glucose veya ticari ismi ile [<sup>18</sup>F]-FDG'dir.

Glikoz analogu olan FDG normal glikoz yolağının ilk basamağında canlı hücreler tarafından tutulur. Neoplastik hücrelerdeki artmış glikolitik aktiviteye bağlı olarak kanser tanısında kullanılır. Glukoz metabolizma hızı ile FDG tutulum hızı uyumludur. Tümör dokularında artmış oranda glukoz transporter proteinleri (GLUT1 ve GLUT3) ile çok aktif hegzokinaz izoformu bulunur. Normal dokularda ve tümör dokularında FDG'nin hücre içine taşınması ve girişi bu glukoz transporter'ları ile hücre içinde tutulması hegzokinaz enzim aktivitesine bağlı fosforilasyonu ile gerçekleşir. Tümöral dokularda sıklıkla görülen hipoksi de, anaerobik glikolitik yolaktaki metabolik basamağı aktive edip FDG tutulumunu arttırabilir. 2-deoxy-D-glucose (FDG) gibi bazı glukoz analogları GLUT1 tarafından taşınır ve hücreye girince de hegzokinaz ile fosforile edilerek 2-deoxy-D-glucose-6-fosfat'a çevrilir ve daha ileriye metabolize edilemez, hücre içinde tutsak kalır. GLUT1'in transport aktivitesi cytochalasin B, fosfokolin, floretin ve diğer flavonoidler gibi çeşitli bileşikler ile inhibe edilebilir. GLUT1 pekçok kanserde (beyin, meme, servikal, kolorektal, kutanöz, endometrial, özefageal, hepatik, akciğer, oral, over, pankreatik, prostat ve renal gibi) çok fazla artış gösterir.

[<sup>18</sup>F]-FDG'nin hücre içine alım mekanizması in vitro ve in vivo olarak çalışılmıştır. Yapılan çalışmalarda GLUT1 taşıyıcı proteindeki polimorfizmler [<sup>18</sup>F]-FDG'nin hücre içine alımını etkilediği gösterilmiştir. Bu polimorfizmler GLUT1—Xbal G>T (rs2754218), HpyCH4V A>T (rs710218), and HaellI T>C (rs1385129) olarak saptanmıştır. GLUT1 genindeki polimorfizmin, artmış [<sup>18</sup>F]-FDG tutulumu, tümör büyümelerinde hızlanma ve meme kanseri ile ilişkisi gözlenmiştir.

Çalışmamızda, hastaların Xbal G>T genotip dağılımına bakıldığında Xbal G/G genotipi %87 oranında; Xbal G/T genotipi ise %12 oranında görüldü. Sadece 1 hastada (%1) ise Xbal T/T genotipi saptandı. HaellI T>C genotip dağılımında ise HaellI C/C genotip %54; HaellI T/C genotip %31; HaellI T/T genotip ise %15 oranında saptandı (tablo 4). Her iki gen bölgesindeki genotip dağılımları kanser türlerine göre değişiklik göstermektedir (p=0.0001 ve p=0.0001) (tablo 5). Gerek Xbal gerekse HaellI genotipleri arasında SUVmaxPrimer değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi (p değerleri sırasıyla; p=0,89 ve p=0,541).

SUVmaxPrimer değerleri melanoma grubunda 11,65±12,7; akciğer-bronşial tümörler grubunda 11,09±5,48; ürogenital tümörler grubunda 10,73±3; GİS tümörler grubunda 2153±4776,5; meme ca grubunda 5,26±2,19 olarak saptandı. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yaratmamıştır (p=0,071) (Tablo 6).

Kanser tipleri kanserin görüldüğü sisteme bakıldığında hasta grubu melanom, akciğer bronşial tümörleri, ürogenital tümörler, gastrointestinal sistem tümörleri, meme ca ve diğer olarak alt gruplara ayrıldı. Melanom, ürogenital tümörler, GİS tümörleri,

meme ca ve diğerkanser alt gruplarında tüm hastalar Xbal G/G genotipine sahipken, bronşial tümörlerde %42.2 oranında Xbal G/T genotipi görüldü (Tablo 7).

Xbal ve HaeIII Genotipleri birlikte değerlendirilerek kanser türleri ve bu her iki genotipin ilişkisi incelendiğinde özellikle akciğerve bronşial tümör grubunda polimorfik genotiplerin sayısının diğerkanser türlerine göre belirgin olarak fazla olduğu görülmektedir. Akciğerve bronşial tümör grubunda yer alan toplam 36 hastanın 26'sının (%72,2) her iki gen bölgesinden en az birinde mutasyona sahip olduğu görülmektedir ( $p=0,0001$ ) (Tablo 8).

Glikoz transport molekülleri kanser hücresinde normale oranla daha fazla bulunan glikoproteinlerdir. Kanser hücrelerinde özellikle heksokinaz II olmak üzere heksokinaz ekspresyonu ve enzimin fonksiyonel afinitesi normal hücrelere oranla artmıştır. Normal hücrelerde FDG-6-fosfat glukoz 6-fosfataz ile defosforile edilerek hücre dışına çıkar. Malign hücrelerde ise bu enzim aktivitesi belirgin azaldığı için FDG -6 fosfat hücre içinde kalır. [ $^{18}\text{F}$ ]-FDG PET/ BT görüntüleri görsel ve kantitatif olarak değerlendirilebilmektedir. Standart tutulum değeri ( SUV ) ilgi alanındaki ortalama aktivitenin verilen doz ve hastanın ağırlığına göre düzeltilmiş değeridir. Tümör histopatolojisine göre F-18 FDG tutulum yoğunluğu değişiklik göstermektedir. Epidermoid, adeno ca gibi KHDAK (Küçük hücreli dışı akciğerkanseri)'leri iyi derecede tutulum gösterirken bronkoalveolar ve karsinoid tümörler gibi yoğun müsinoz içerikli veya yavaş büyüyen tümörler patolojik düzeyde [ $^{18}\text{F}$ ]-FDG tutulumu göstermeyebilirler.

## 6. SONUÇ

Sonuç olarak, glikoz, transforme hücreler de dahil olmak üzere tüm hücreler için ana enerji kaynağıdır. Glikozun taşınması, taşıyıcı proteinler tarafından gerçekleştirilir, bunların arasında GLUT1 her yerde bulunur ve transforme hücrelerde aşırı eksprese edilir. GLUT1 hem fizyoloji hem de patolojide hayati bir rol oynar. GLUT1 ile ilgili bilgi, onun karsinomlardaki rolünü anlamamıza ve hastalar için daha iyi bir tedavi planı formüle etmemize yardımcı olur. Bu çalışmada elde edilen veriler ile F GLUT1 genindeki GLUT1-XbaI G>T (rs2754218) ve HaeIII T>C (rs1385129) polimorfizminin F-18 FDG alımının bir ölçüsü olarak tümör dokusunda tutulumların farkını gözlemleyerek ileride yapılacak çalışmalara katkı sağlamaktayız.

## 7. KAYNAKLAR

Berg, JM., Tymoczko, LJ., Stryer, L.. Biochemistry, WH Freeman and Company Press, New York, 2002, s. 87

Brady, Z., Taylor, M.L., Haynes, M., et al., The clinical application of PET / CT: a contemporary review, Australas Phys Eng Sci Med, 2008, 90-109p.  
DOI: 10.1007/BF03178584

Brown, RS., Wahl, RL.. Overexpression of Glut-1 glucose transporter in human breast cancer: an immunohistochemical study. Cancer. 1993;72:2979–2985.  
[https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19931115\)72:10<2979::AID-CNCR2820721020>3.0.CO;2-X](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19931115)72:10<2979::AID-CNCR2820721020>3.0.CO;2-X)

C.Xu, X.Yang, Y.Wang, N.Ding, R.Han, Y.Sun and Y.Wang; An analysis of the polymorphisms of the GLUT1 gene in urothelial cell carcinomas of the bladder and its correlation with p53, Ki67 and GLUT1 expressions, Cancer Gene Therapy (2017) 24, 297–303

Daghlas, SA., Mohiuddin, SS.. StatPearls [İnternet]. StatPearls Yayıncılık; Treasure Island (FL): 12 Mayıs 2021. Biyokimya, Glikojen.

Detterbeck, FC., Boffa, DJ., Tanoue, LT.. The new lung cancer staging system. Chest 2009;136:260-271.

Dündar. B., Glut-1 (SLC2A1) Ve Glut-3 (SLC2A3) Genlerinin Ve Bu Genleri Hedefleyen Mikrona Ekspresyonlarının Farklı Meme Kanseri Hücre Hatlarında (Skbr-3, Mda-Mb-231, Mcf-7, Htert) Karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Uludağ Üniversitesi, 2017.

Eroles, P., Bosch, A., Pérez-Fidalgo, J.A., Lluch, A. Molecular biology in breast cancer: intrinsic subtypes and signaling pathways. Cancer Treat Rev,. 2012, 38(6): 698-707.

Grabellus, F., Sheu, SY., Bachmann, HS., Lehmann, N., Otterbach, F., Heusner, TA et al. The XbaI G4T polymorphism of the glucose transporter 1 gene modulates [<sup>18</sup>F]-FDG uptake and tumor aggressiveness in breast cancer. J Nucl Med 2010; 51: 1191–1197.  
<https://doi.org/10.2967/jnumed.110.075721>

Gurung, P., Jialal, I.. StatPearls [İnternet]. StatPearls Publishing; Treasure Island (FL): Aug 11, 2021. Plasma Glucose.

Güzelgöl, F., Alfa Talasemi Mutasyonlarının DNA Dizi Analizi İle Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, 2010.

Hodgkinson, AD., Millward, BA., Demaine, AG.. Polymorphisms of the glucose transporter (GLUT1) gene are associated with diabetic nephropathy. Kidney Int. 2001;59:985–989. <http://dx.doi.org/10.2967/jnumed.110.075721>

Hodgkinson, AD., Ollerenshaw, M., Hammonds, JC., Demaine, AG.. Glucose transporter polymorphisms are associated with clear-cell renal carcinoma. Cancer Genet Cytogenet. 2005;163:151–155).

Holesh, JE., Aslam, S., Martin, A.. StatPearls [İnternet]. StatPearls Yayıncılık; Treasure Island (FL): 26 Temmuz 2021. Fizyoloji, Karbonhidratlar.

Karapolat. İ., Akciğer Kanserinde Tedavi Yanıtını Değerlendirmede FDG PET/BT Görüntüleme, Nuclear Medicine Seminars, 2018;4(1):43-51.



Kitajima, K., Doi, H., Kanda, T., et al. Present and future roles of FDG-PET/CT imaging in the management of lung cancer. *Jpn J Radiol* 2016;34:387-399.  
<https://doi.org/10.1007/s11604-016-0546-2>

Lars, F., Andrew, R., Carson & Stephen W. Schere, Structural variation in the human genome. *Nature Reviews Genetics* 7, 85-97 (February 2006) | doi:10.1038/nrg1767.

Navale, AM., Paranjape, AN.. Glikoz taşıyıcıları: fizyolojik ve patolojik roller. *Biophys Rev.* 2016 Mart; 8 (1):5-9.

Norbert, A.. GLUT1 Expression in Tissue and [<sup>18</sup>F]-FDG Uptake. *The Journal of Nuclear Medicine.* 2004; vol:45:no.6:930-935

Ornek. C., Glut1 Eksikliği Sendromunda Genetik Analizler, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi. 2018.

Patching SG. Roles of facilitative glucose transporter GLUT1 in [<sup>18</sup>F]-FDG positron emission tomography (PET) imaging of human diseases. *Journal of Diagnostic Imaging in Therapy.* 2015; 2(1): 30-102.

Ramadan, R.A., Zaki, A.M., Magour, G.M., Zaki, M.A., Aglan, S.A., Madkour, M.A. and Shamseya, M.M. Association of XbaI GLUT1 Polymorphism with Susceptibility to Type 2 Diabetes Mellitus and Diabetic Nephropathy. *American Journal of Molecular Biology,* 2016, 6, 71-78. <http://dx.doi.org/10.4236/ajmb.2016.62008>

Reis, H., Tschirdewahn, S., Szarvas, T., Rubben, H., Schmid, KW., Grabellus, F.. Expression of GLUT1 is associated with increasing grade of malignancy in non-invasive and invasive urothelial carcinomas of the bladder. *Oncol Lett* 2011; 2: 1149–1153.

Robey, IF., Stephen, RM., Brown, KS., Baggett, BK., Gatenby, RA., Gillies, RJ.. Regulation of the Warburg effect in early-passage breast cancer cells. *Neoplasia.* 2008;10:745–756.

Roellaard, R., Delgado-Bolton, R., Oyen, WJG. et al. FDG PET/CT: EANM procedure guidelines for tumour imaging: version 2.0. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* (2015) 42:328–354 DOI: 10.1007/s00259-014-2961-x

Sönmezoğlu, K.. Akciğer kanserinde pozitron emisyon tomografisi (PET) kullanımı. *İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri* 2007;58:133-140.  
<https://doi.org/10.4274/nts.2018.007>

The XbaI G>T Polymorphism of the Glucose Transporter 1 Gene Modulates [<sup>18</sup>F]-FDG Uptake and Tumor Aggressiveness in Breast Cancer. *The Journal of Nuclear Medicine,* vol.5, no.8 1191-1197. <http://dx.doi.org/10.2967/jnumed.110.075721>

Thorens, B., Mueckler, M. Glucose transporters in the 21st Century. *Am J Physiol Endocrinol Metab.*, 2010, 298: E141-E14.

Toksöz. F, <sup>18</sup>F İşaretili Magnetit Nanoparçacıkların Sentezi Ve Biyo-Affinitelerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, 2009.

Tümkaya, E., Büyükdereli, G.. Akciğer Kanserinde F-18-FDG PET ve PET/BT'nin Rolü. *Çukurova Üniversitesi Arşiv Kaynak Tarama Dergisi* 2013;22:470-485.  
<https://doi.org/10.4274/nts.2018.007>

Valk, PE., Bailey, DE., Townsend, DW., Maisey, MN.. Positron emission tomography: basic science and clinical practice. London: Springer-Verlag; 2003.

Vander Heiden, MG., Cantley, LC., Thompson, CB.. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. *Science*. 2009;324:1029– 1033.

Vesselle, H., Schmidt, RA., Pugsley, JM. et al. Lung cancer proliferation correlates with (F-18)fluorodeoxyglucose uptake by positron emission tomography. *Clin Cancer Res*; 2000, 6:3837-3844.

Wester, H.J., Handbook of Nuclear Chemistry, Ed. Vertes, A, Nagy Z., Klenczar Z., Springer Publ., 2004 vol 4, Ch.5

Wood, IS., Trayhurn, P.. Glucose transporters (GLUT and SGLT): expanded families of sugar transport proteins. *Br J Nutr*. 2003;89:3-9. <https://doi.org/10.1079/BJN2002763>

Wuest, F., Berndt, M., Bergmann, R., Hoff, J, Pietzsch, J., Synthesis and application of [<sup>18</sup>F]-FDG maleimidehexyloxime ([<sup>18</sup>F]-FDG -MHO): a [<sup>18</sup>F]-FDG based prosthetic group for the chemoselective <sup>18</sup>F labeling of peptides and proteins, *Bioconjug Chem*. 2008 1202- 10p.

Yaylali, O., Kiraç, F, S., Yuksel, D., The role of 18F-FDG PET-CT in the detection of unknown primary malignancy: a retrospective study. *Turkish Journal of Medical Sciences*, (2016) 46: 474-482. doi:10.3906/sag-1502-99

Yaylali, O., Koseler, A., Sakarya, D.K., Yuksel, D., Sengoz, T. and Fenkci, V. Effect of XbaI G > T Polymorphism of the Glucose Transporter 1 Gene on F. *European Journal Of Nuclear Medicine And Molecular Imaging*, (2017) vol.44, 723-723. <http://dx.doi.org/10.1007/s00259-017-3822-1>

Yu. S.; Review of [<sup>18</sup>F]-FDG synthesis and quality control,, *Biomedical Imaging and Intervention Journal*, 2006; 2(4):e57, 3-4p.

Zhao, FQ., Keating, AF.. Functional properties and genomics of glucose transporters. *Curr Genomics*. 2007;8:113–128

Anonim, 2017. GLUT1: özellikler, yapı, işlevler, <https://tr.nsp-ie.org/glut1-1817->(Erişim tarihi: 11/12/21).

Anonim, 2017. SLC2A1 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/6513->(Erişim tarihi: 11/12/20).