

## ROCK1 geni Lys222Glu ve Arg1262Gln polimorfizmleri ile meme kanseri arasındaki ilişkinin araştırılması

Investigation of the association between *ROCK1* gene Lys222Glu ve Arg1262Gln polymorphisms and breast cancer

Mehmet Emin Kalender<sup>1</sup>, Şeniz Demiryürek<sup>2</sup>, Serdar Öztuzcu<sup>3</sup>, Ayşe Kızılyer<sup>1</sup>,  
Abdullah Tuncay Demiryürek<sup>4</sup>, Ozan Balakan<sup>1</sup>, Celalettin Camcı<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı, Gaziantep

<sup>2</sup>Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Gaziantep

<sup>3</sup>Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Gaziantep

<sup>4</sup>Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Gaziantep

### Özet

Bu çalışmanın amacı, Türk popülasyonunda *ROCK1* gen polimorfizmleri ile meme kanserinin metastaz yapma özelliği arasındaki muhtemel ilişkiyi araştırmaktır. Bu çalışmada, *ROCK1* geninin G15741A (Lys222Glu) ve G156064A (Arg1262Gln) polimorfizmleri için genotip dağılımlarını ve allel frekansını araştırmak ve bu polimorfizmler ile tümör metastazı arasındaki ilişkiyi ortaya koymak amaçlanmıştır. Bu çalışmada, en az 5 yıl süreyle metastaz gelişmemiş meme kanseri olan hastalar (nonmetastatik grup, n=92), metastaz gelişmiş meme kanserli hastalar (metastatik grup, n=101) ve herhangi bir hastalığı olmayan, kanser geçmişi olmayan, ilaç kullanmayan, sigara içmeyen ve alkol kullanmayan sağlıklı bayan gönüllüler (kontrol grubu, n=128) çalışmaya alındı. Hastalardan ve kontrol grubundan alınan kan örneklerinden DNA izole edildi ve LightCycler cihazıyla PCR yöntemi kullanılarak erime eğrisi analizi yapıldı. *ROCK1* geni Lys222Glu ve Arg1262Gln polimorfizmlerinin kontrol grubu ile hasta grupları arasında genotip ve allel frekansları bakımından anlamlı fark gözlenmemiştir (P>0.05). Meme kanserinde *ROCK1* gen polimorfizmlerinin rolünü araştıran bu ilk çalışmada, Lys222Glu ve Arg1262Gln polimorfizmlerinin meme kanseri gelişme riski veya metastazı ile ilişkili olmadığı bulunmuştur.

**Anahtar kelimeler:** Meme kanseri; polimorfizm; Rho-kinaz; ROCK1

### Abstract

The purpose of this study was to evaluate the possible relationship between breast cancer metastasis and *ROCK1* gene polymorphisms in Turkish population. In this study, investigation of genotypic distribution and allele frequency of *ROCK1* genes G15741A (Lys222Glu) and G156064A (Arg1262Gln) polymorphisms, and studying the association between these polymorphisms and tumor metastasis were aimed. In the present study, we enrolled patients with breast cancer without metastasis at least 5 years (non-metastatic group, n=92), metastatic breast cancer patients (metastatic group, n= 101), and voluntary healthy women, with no disease and cancer history, no drug usage, no smoking and no alcohol abuse (control group, n=128). DNA was isolated from blood samples of patients and control group, and melting curve analyses were made with PCR method at LightCycler equipment. No significant differences in *ROCK1* genes Lys222Glu and Arg1262Gln polymorphisms were observed between the control group and patients in terms of genotype and allele frequencies (P>0.05). In this research, which is the first study to evaluate the role of *ROCK1* gene polymorphisms in breast cancer, no associations between the Lys222Glu and Arg1262Gln polymorphisms and risk of developing breast cancer or metastasis have been found.

**Keywords:** Breast cancer; polymorphism; Rho-kinase; ROCK1

### Giriş

Meme kanseri kadınlarda en sık görülen malignite tipidir. Kadınlarda görülen malign hastalıkların yaklaşık %28'ini meme kanseri oluşturur (1). Avrupa'da kadınlarda bütün kanser vakalarının %13.5'ini meme kanseri oluşturmaktadır (2). Yaşla birlikte meme kanseri sıklığı artmaktadır ve gelişiminde genetik, çevresel, hormonal, sosyobiyojik ve fizyolojik faktörler suçlanmaktadır (1,2). Meme kanseri gelişiminde çeşitli faktörlerin etken olduğunun bilinmesine rağmen, olguların %70-80'inde hiç bir risk faktörü saptanamamaktadır.

Rho-kinaz bir serin/treonin protein kinazdır ve moleküler ağırlığı yaklaşık 160 kDa'dur (3). Rho-kinaz enziminin ROCK1 (ROCK I, p160ROCK, ROCKβ,

ROKβ) ve ROCK2 (ROCK II, ROCKα, ROKα) olan iki izoformu vardır (4). Her iki enzim tüm hücrelerde eksprese edilir. ROCK2 mRNA özellikle kas ve beyin hücrelerinde daha fazla eksprese edilmektedir. Başlıca sitoplazmada çözünür halde dağılmıştır fakat RhoA aktivasyonu üzerinden kısmen periferel membranlara transloke olur. ROCK2'nin çekirdekte yerleştiği de gösterilmiştir (5). Bu proteinler sitoplazmada dağılmış halde bulunur ve özellikle gelişmekte olan hücrelerde membran içerisinde yerleşirler (4). İnsan *ROCK1* geni 18. kromozomda (18q11.1) ve *ROCK2* geni ise 2. kromozomda (2p24) yerleşiktir. Rho ile etkileşen ve aktive olan Rho-kinaz, düz kas kasılması, hücre büyümesi, adezyonu, migrasyonu, hareketliliği, gen ekspresyonunu ve apoptozu de içeren farklı hücre fonksiyonlara aracılık eder (6-8). Rho-kinaz inhibitörleri ile bu hücre fonksiyonların azaltıldığı ve kanser hücrelerinde metastazın baskılandığı gösterilmiştir (9,10). Onkogenik değişim, hücre çoğalmasındaki

**İletişim/Correspondence to:** Mehmet Emin Kalender, Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı, Gaziantep, TÜRKİYE  
Tel: +90 342 4720711 kalender@gantep.edu.tr

**Received:** 18.04.2011 **Accepted:** 09.05.2011  
**Geliş Tarihi:** 18.04.2011 **Kabul Tarihi:** 09.05.2011

DOI: 10.5455/GMJ-30-2011-37  
www.gantep.edu.tr/~tipdergi  
ISSN 1300-0888

kontrolün kaybı ve hücrenin morfolojik değişiklikleri ile karakterizedir. Hücre morfolojik değişiklikleri aktin stres lifleri vasıtası ile sağlanmaktadır. Hücrelerin onkolojik değişikliğe uğramasında Rho proteinleri ve dolayısı ile Rho-kinazın aktivasyonu önemli rol oynamaktadır (11).

Genetik faktörlerin ve polimorfizmlerin meme kanserinde önemli olduğunun bildirilmesine karşın (12), meme kanserinde Rho-kinaz polimorfizmi ile yapılmış bir çalışma bulunmaktadır, bu da ROCK2 ile ilgilidir (13). Bu çalışmanın amacı, Türk popülasyonunda Rho-kinaz enzimleri olan ve metastaz biyolojisinde etkinlikleri bilinen *ROCK1* gen polimorfizmleri ile meme kanserinin metastaz yapma özelliği arasındaki muhtemel ilişkiyi araştırmaktır. Bu çalışmada, *ROCK1* geninin G15741A (Lys222Glu) ve G156064A (Arg1262Gln) polimorfizmleri olmak üzere 2 farklı polimorfizm için genotip dağılımlarını ve allel frekansını araştırmak ve bu polimorfizmler ile meme kanseri ve tümör metastazı arasındaki ilişkiyi ortaya koymak amaçlanmıştır.

#### Gereç ve Yöntemler

Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Gaziantep Onkoloji Hastanesi, Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı'nda meme kanseri tanısıyla takip edilen hastalar ve sağlıklı gönüllü kadınlar bilgilendirilmiş onam formları okutulup imzalandıktan sonra çalışmaya alındı. Bu araştırmada, en az 5 yıl süreyle metastaz gelişmemiş meme kanseri olan hastalar (nonmetastatik grup, n=92), metastaz gelişmiş meme kanseri hastaları (metastatik grup, n=101) ve herhangi bir hastalığı olmayan, kanser geçmişi olmayan, ilaç kullanmayan, sigara içmeyen ve alkol kullanmayan sağlıklı bayan gönüllüler (kontrol grubu, n=128) çalışmaya alındı. Meme kanserli hastaların tamamının tanıları patolojik inceleme sonucu konmuştur. Bu çalışma Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nda onay almıştır.

**Tablo 2.** *ROCK1* geni için çalışma için kullanılan primer prob setleri

Ekzon	Primer/Probe
Ekzon 6 (rs2271255)	Forward 5' - TCTggCAATCCATATTACCT Reverse 5' - CCTgCAGAgTgTgAAgCCT Probe1 5' - CCTTATTCATCTCCATACAAgTACCA-FL Probe 2 5' - LC640-TCTgCTAACTTCAAATgTCCAgATTTATCC-PH
Ekzon 31 (rs1045142)	Forward 5' - gTAgAgATGGAACCAgTACAACAAG Reverse 5' - CACTACACATAAgTTAgTTCATTgAgAC Probe1 5' - CCTgCCCTAgAgTgTCAAAAAG-FL Probe 2 5' - LC640-gCCATgTAAAgTgCCACAgAgATCAC-PH

PCR karışımı için 1 µl genomik DNA, 5 µM primer ve prop, 1 µl LightCycler FastStart DNA Master HybProbe kit (Roche), 2.5 mM MgCl<sub>2</sub> kullanılarak hazırlandı. Karışım kapiller tüplere aktararak reaksiyona geçildi. 95°C'de 10 dakika denatürasyon yapıldı. Daha sonra 50 döngü amplifikasyon için denatürasyon (95°C 10 s), anealing (50°C 10 s), ekstansiyon (72°C 15 s) yapıldı. Amplifikasyonun tamamlanmasından sonra, sıcaklığın saniyede 0.2°C artırılarak 40°C'den 85°C'ye yükseltilmesiyle erime eğrileri oluşturuldu. Floresan/sıcaklık negatif türevinin sıcaklığa göre çizilmesiyle de, erime eğrileri, erime tepelerine dönüştürüldü.

#### Klinik tanı ve veri toplanması için yapılan işlemler

Hastalar hazırlanmış standart bir protokole uygun olarak değerlendirildi ve tetkikleri yapıldı. Değerlendirmeye alınan tüm hastaların anamnez, fizik muayene, demografik özellikleri, tedavi öyküleri, görüntüleme yöntemleri, tümör belirteçleri ve rutin laboratuvar özellikleri kaydedildi. Aile anamnezi sorgulandı. Metastatik meme kanseri grubundaki hastalar, metastaz ortaya çıkan organlara göre sınıflandırıldı. Plevra metastazı, akciğer metastazı ile aynı grupta değerlendirildi. Hastaların metastazları tutulan organa göre toraks bilgisayarlı tomografi (BT), bütin BT, beyin BT, tüm vücut kemik sintigrafisi ve lüzum halinde kemik BT veya direkt grafilerle değerlendirildi. Araştırmanın moleküler analizleri Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Onkoloji Hastanesi Moleküler Onkoloji Laboratuvarı'nda yapıldı. Her bireyden 5 ml periferik kan alınarak EDTA'lı tüplere konuldu ve DNA izolasyonu yapıldı.

#### Real Time PCR

Çalışmaya dahil edilen *ROCK1* geni tek nükleotid değişimleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

**Tablo 1.** Çalışmaya dahil edilen *ROCK1* geni tek nükleotid değişimleri

SNP	Yerleşim	Referans SNP no.	Protein değişikliği
G15741A	Ekzon 6	rs2271255	Lys222Glu
G156064A	Ekzon 31	rs1045142	Arg1262Gln

SNP'lere ait veriler NCBI SNP data base ([http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp\\_ref.cgi?locusId=6093](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?locusId=6093))'den alınmıştır. Elde edilen DNA'lerden LightCycler (Roche, Almanya) cihazı ile floresan PCR yöntemi kullanılarak erime eğrisi analizi yapıldı. Çalışma için kullanılan primer prob setleri (TIB Molbiol, Almanya) Tablo 2'de verilmiştir.

#### İstatistiksel analiz

Hasta-kontrol grubu için istatistiksel analizler GraphPad Instat (v.3.05, GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA) yazılımı kullanıldı. Veriler ortalama ± standart sapma olarak ifade edildi. Genotip dağılımı ve allel sıklıkları gruplar arasında  $\chi^2$  testi kullanılarak karşılaştırıldı. 0.05'den az olan P değerleri anlamlı olarak kabul edildi.

#### Sonuçlar

Çalışmaya toplam 193 meme kanseri tanısı olan kadın hasta ve kontrol grubu olarak 128 sağlıklı kadın dahil edildi.

**Tablo 3.** Hastaların demografik özellikleri ve risk faktörleri

	Remisyon Grubu (n=92)	Metastatik Grup (n=101)
<b>Eğitim düzeyi</b>		
Düşük	66 (%71.7)	85 (%84.2)
Orta	7 (%7.6)	11 (%10.9)
Yüksek	7 (%7.6)	5 (%4.9)
<b>Menapoz durumu</b>		
Premenapozal	13 (%14.1)	38 (%37.6)
Postmenapozal	79 (%85.9)	63 (%62.4)
<b>Birinci derece akrabada meme kanseri öyküsü</b>	6 (%6.7)	11(%10.89)
<b>Hormonoterapi</b>		
Hiç kullanmamış	27 (%29.3)	49 (%48.5)
Geçmişte kullanmış veya halen kullanan	65 (%70.7)	52 (%51.5)
<b>Hormonal reseptör durumu</b>		
ER-pozitif	44 (%47.8)	52 (%51.5)
ER-negatif	23 (%25.0)	38 (%37.6)
PR-pozitif	37 (%40.2)	51 (%50.5)
PR-negatif	27 (%29.3)	35 (%34.5)

**Tablo 4.** Metastatik hasta grubunun metastaz yerleri, aksiler diseksiyonda saptanan lenf nodu tutulum sayıları, tümör gradi, kemoterapi, radyoterapi ve hormonoterapi öyküleri, ER, PR, HER2 durumları.

<b>Metastaz yerleri</b>	
Akciğer	50 (%49.5)
Kemik	46 (%45.5)
Karaciğer	31 (%30.7)
Karşı aksilla	10 (%9.9)
Beyin	9 (%8.9)
Plevra	8 (%7.9)
Over	1 (%0.9)
Periton	1 (%0.9)
<b>Aksiller diseksiyon sonrası lenf nodu tutulumu sayısı</b>	
0	10 (%15.4)
1 (1-3)	17 (%26.2)
2 (4-9)	18 (%27.7)
3 (>10)	20 (%30.8)
<b>Grade</b>	
1	1 (%1.4)
2	41 (%59.4)
3	27 (%39.1)
<b>Kemoterapi</b>	
Alanlar	96 (%97.0)
Almayanlar	3 (%3.0)
<b>Radyoterapi</b>	
Alanlar	53 (%58.2)
Almayanlar	38 (%41.8)
<b>Tamoksifen</b>	
Alanlar	29 (%29.0)
Almayanlar	71 (%71.0)
<b>Aromataz inhibitörü</b>	
Alanlar	23 (%23.0)
Almayanlar	77 (%77.0)
<b>Estrojen Reseptörü</b>	
Pozitif (sayı/toplam sayı)	52/90 (%57.8)
<b>Progesteron Reseptörü</b>	
Pozitif (sayı/toplam sayı)	51/86 (%59.3)
<b>HER2 (IHC)</b>	
0	38 (%45.8)
1+	5 (%6.0)
2+	6 (%7.2)
3+	34 (%41.0)

Hasta grubunda 101 (%52.3) kişi metastatik meme kanseri, 92 (%47.7) kişi ise en az 60 aydır remisyonunda takip edilen meme kanseri hastasıydı. Kontrol grubunun yaş ortalaması 47.07±13.78 yıl, metastatik grubun yaş ortalaması 51.31±12.16 yıl, remisyonunda takip edilen grubun yaş ortalaması ise 55.99±9.27 yıl saptandı. Tüm

hastaların yaş ortalaması 53.54±11.1 yıl idi. Menapoz durumlarına göre hastalar sınıflandırıldığında metastatik grupta 38 (%37.6) hasta premenapozal, 63 (%62.4) hasta postmenapozal dönemdedi. Remisyondaki grupta ise 12 (%13.3) hasta premenapozal, 78 (%86.7) hasta postmenapozal dönemdedi.

Metastatik hasta grubunda 11 (%10.9) kişide ve remisyondaki hasta grubunda ise 6 (%6.7) kişide ailede meme kanseri öyküsü vardı. Hastaların tanı sırasındaki yaşları değerlendirildiğinde, metastatik grupta  $48.15 \pm 12.05$ , remisyondaki grupta ise  $49.03 \pm 9.66$  idi. Hasta grubunun ortalama vücut kitle indeksleri birbirine yakın değerlerdeydi (metastatik grup;  $1.73 \pm 0.15$  kg/m<sup>2</sup>, remiyon grubu;  $1.72 \pm 0.6$  kg/m<sup>2</sup>). Hastaların demografik özellikleri ve risk faktörleri Tablo 3’de verilmiştir.

Metastatik hasta grubunun metastaz yerleri, aksiler disseksiyonda saptanan lenf nodu tutulum sayıları, tümör grade’i, kemoterapi, radyoterapi ve hormonoterapi öyküleri, ER, PR, HER2/neu durumları Tablo 4’de verilmiştir. *ROCK1* geni ekzon 6 Lys222Glu ve ekzon 31 Arg1262Gln polimorfizmleri kontrol ve hasta gruplarında herhangi bir farklılık saptanmamıştır (Tablo 5 ve 6).

**Tablo 5.** Meme kanseri ve kontrol grubunda *ROCK1* geni ekzon 6 Lys222Glu polimorfizmi genotip dağılımı ve allel sıklıkları

	N	Genotip n (%)			P	Allel n (%)		P
		Lys-Lys	Lys-Arg	Arg-Arg		Lys	Arg	
Kontrol	128	128 (100)	0 (0)	0 (0)	>0.05	256 (100)	0 (0)	>0.05
Nonmetastatik	92	92 (100)	0 (0)	0 (0)		184 (100)	0 (0)	
Metastatik	101	101 (100)	0 (0)	0 (0)		202 (100)	0 (0)	

**Tablo 6.** Meme kanseri ve kontrol grubunda *ROCK1* geni ekzon 31 Arg1262Gln polimorfizmi genotip dağılımı ve allel sıklıkları

	N	Genotip n (%)			P	Allel n (%)		P
		Arg-Arg	Arg-Gln	Gln-Gln		Arg	Gln	
Kontrol	128	128 (100)	0 (0)	0 (0)	>0.05	256 (100)	0 (0)	>0.05
Nonmetastatik	92	92 (100)	0 (0)	0 (0)		184 (100)	0 (0)	
Metastatik	101	101 (100)	0 (0)	0 (0)		202 (100)	0 (0)	

### Tartışma

*ROCK1* gen polimorfizmlerinin meme kanseri ile ilişkisinin araştırıldığı bu ilk çalışmada, *ROCK1* geni Lys222Glu ve Arg1262Gln polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları karşılaştırıldığında kontrol grubuna göre anlamlı bir değişiklik oluşturmadığı saptanmıştır. Kadınlarda premenopozal dönemde yaşla birlikte meme kanseri sıklığı artmaktadır ve bu artış menopoza kadar devam etmektedir. Menopozdan sonra da meme kanseri sıklığı artmakla birlikte, bu artış oranı premenopozal döneme göre altıda bir oranında olmaktadır (14). Bizim hastaların %73.6 (142/193)’sı postmenopozal, %26.4 (51/193)’ü premenopozal dönemdeydi ve tüm hastaların yaş ortalaması  $53.54 \pm 11.1$  yıl saptandı.

Genellikle meme kanserli hastaların çoğunda ailede meme kanseri öyküsü yoktur ve olguların sadece %5-10’unda ailevi yatkınlık vardır (14). Çalışmamızdaki hastaların soygeçmişleri sorgulandığında, hastaların %8.8 (17/193)’ünün birinci derece akrabasında meme kanseri öyküsü vardı. Ancak BRCA1 veya BRCA2 gibi genetik mutasyon çalışmaları yapılmadığından, hastalar genetik yatkınlık yönünden değerlendirilemedi.

Tüm kanser tiplerinde olduğu gibi meme kanserinde de yaşam süresini belirleyen en önemli faktör metastaz gelişimidir. Metastaz gelişim riskinin önceden belirlenmesine ilişkin tanı ve/veya tarama yöntemleri hastalığın tedavisinde önemli başarılar elde edilmesine zemin oluşturacaktır. İlgili mekanizmaların aydınlatılması ile potansiyel tedavi hedefleri belirlenebilecek ve bu sayede daha az toksik etki ve

daha spesifik hedeflerin yok edilmesi sonucunda hastalığın tamamen eradikasyonu sağlanabilecektir.

Rho/Rho-kinaz yolağı hücre adezyonu, migrasyonu, şekil değişimleri ve sitokinezde etkili olmaktadır (7). Trombosit kökenli endotel hücre büyüme faktörü (PD-EDGF) uygulanan kültür hücrelerinde ROCK1’in aşırı ekspresyonuna ve kanser hücresi hareketliliğinin artmasına neden olduğu bulunmuştur (15). Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ile indüklenen endotel hücre migrasyon ve angiogenezde Rho/Rho-kinaz yolağının aktive olduğu gösterilmiştir (16). Ayrıca, hipoksi ile indüklenen angiogeneze Rho-kinaz aracılık eder ve Rho-kinaz inhibisyonu angiogenezi inhibe eder (17). Rho proteinleri ve Rho-kinaz aktivitesinin çeşitli kanser modellerinde etkin role sahip olduğu gösterilmiştir (15,18). Meme kanseri migrasyon ve metastazında Rho/Rho-kinaz yolağının aktif rol aldığı gösterilmiştir (19). Yapılan hücre kültürü ve hayvan deneylerinde çeşitli Rho-kinaz inhibitörlerinin kullanımı ile kanser hücrelerinde migrasyonun ve metastaz özelliklerinin baskılandığı gösterilmiştir (20). Yüksek metastatik özelliği olan MCF-7 insan meme kanser hücre serisinde, ROCK ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (21). Ayrıca Rho-kinaz inhibitörlerinin hayvan modelinde meme tümörü gelişimini inhibe ettiği de gösterilmiştir (10). Rho-kinaz inhibitörleri kullanılarak kanser hücrelerinde metastatik özelliklerin azaltıldığı in vitro çalışmalarla gösterilmiştir (22). İnsan metastatik meme tümör hücresi (MDA-MB-231) kültüründe sitokin (M-CSF) oluşumu, tümör hücre gelişimi ve invazyonunda Rho-kinazın rolü olduğu (23), Rho-kinaz inhibitörü Y-27632’nin tümör migrasyonu ve

invazyonunu baskıladığı ortaya konmuştur (24). Rho-kinaz gen polimorfizmi ile ilgili şimdiki kadar yayınlanmış araştırmalar hipertansiyon (25), diyabetik retinopati (26) ve kronik böbrek hastalığı (27) ile ilişkilidir. Kanserli hastalarda *ROCK1* gen polimorfizminin incelendiği bir araştırma literatürde yoktur. Daha önce meme kanserli hastalarda yaptığımız bir çalışmada ise *ROCK2* geni Thr431Asn polimorfizminin meme kanseri metastazı için bir risk faktörü olabileceği ve prognoza yardımcı olabileceği gösterilmiştir (13). Bu çalışma meme kanserinde *ROCK1* gen polimorfizmlerinin rolünü araştıran ilk çalışmadır. Araştırmamızın sonucunda *ROCK1* geninde kontrol grubu ile meme kanserli hasta grupları arasında anlamlı bir fark saptanmadı.

Bu çalışmadan elde edilen bulgular, Türk popülasyonunda Rho-kinaz ailesinden olan *ROCK1* geni Lys222Glu ve Arg1262Gln polimorfizmlerinin meme kanseri olma riski ile ve metastaz gelişimi ile ilişkili olmadığını ortaya koymuştur.

#### Teşekkür

Bu çalışma, TÜBİTAK Hızlı Destek (SBAG-HD-222, 107S127) projesi ile desteklenmiştir.

#### Kaynaklar

1. Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin* 2010;60(5):277-300.
2. Ferlay J, Autier P, Boniol M, Heanue M, Colombet M, Boyle P. Estimates of the cancer incidence and mortality in Europe in 2006. *Ann Oncol* 2007;18(3):581-92.
3. Fukata Y, Amano M, Kaibuchi K. Rho-Rho-kinase pathway in smooth muscle contraction and cytoskeletal reorganization of non-muscle cells. *Trends Pharmacol Sci* 2001;22(1):32-9.
4. Matsui T, Amano M, Yamamoto T, Chihara K, Nakafuku M, Ito M, et al. Rho-associated kinase, a novel serine/threonine kinase, as a putative target for small GTP binding protein Rho. *EMBO J* 1996;15(9):2208-16.
5. Tanaka T, Nishimura D, Wu RC, Amano M, Iso T, Kedes L, et al. Nuclear Rho kinase, ROCK2, targets p300 acetyltransferase. *J Biol Chem* 2006;281(22):15320-9.
6. Noma K, Oyama N, Liao JK. Physiological role of ROCKs in the cardiovascular system. *Am J Physiol* 2006;290(3):C661-8.
7. Kimura K, Ito M, Amano M, Chihara K, Fukata Y, Nakafuku M, et al. Regulation of myosin phosphatase by Rho and Rho-associated kinase (Rho-kinase). *Science* 1996;273(5272):245-8.
8. Fukata Y, Oshiro N, Kinoshita N, Kawano Y, Matsuoka Y, Bennett V, et al. Phosphorylation of adducin by Rho-kinase plays a crucial role in cell motility. *J Cell Biol* 1999;145(2):347-61.
9. Takamura M, Sakamoto M, Genda T, Ichida T, Asakura H, Hirohashi S. Inhibition of intrahepatic metastasis of human hepatocellular carcinoma by Rho-associated protein kinase inhibitor Y-27632. *Hepatology* 2001;33(3):577-81.
10. Ying H, Biroc SL, Li WW, Aliche B, Xuan JA, Pagila R, et al. Rho kinase inhibitor fasudil inhibits tumor progression in human and rat tumor models. *Mol Cancer Ther* 2006;5(9):2158-64.
11. Itoh K, Yoshioka K, Akedo H, Uehata M, Ishizaki T, Narumiya S. An essential part for Rho-associated kinase in the transcellular invasion of tumor cells. *Nat Med* 1999;5(2):221-5.
12. Ruhi HI. Meme kanserinde farmakogenetik. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Derg* 2010;30(Ek 1):16-21.
13. Kalender ME, Demiryürek S, Oztuzcu S, Kızılyer A, Demiryürek AT, Sevinc A, et al. Association between the Thr431Asn polymorphism of the *ROCK2* gene and risk of developing metastases of breast cancer. *Oncol Res* 2010;18(11-12):583-91.
14. Burstein HJ, Haris JR, Morrow M. Malignant tumors of the Breast. In: DeVita VT, Lawrence TS, Rosenberg SA (eds). *Cancer Principles and Practice of Oncology*. (8th ed). Philadelphia, Lippincott Williams and Wilkins, 2008:1606-54.
15. Yoshinaga K, Inoue H, Tanaka F, Mimori K, Utsunomiya T, Mori M. Platelet-derived endothelial cell growth factor mediates Rho-associated coiled-coil domain kinase messenger RNA expression and promotes cell motility. *Ann Surg Oncol* 2003;10(5):582-7.
16. van Nieuw Amerongen GP, Koolwijk P, Versteilen A, van Hinsbergh VW. Involvement of RhoA/Rho kinase signaling in VEGF-induced endothelial cell migration and angiogenesis in vitro. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23(2):211-7.
17. Yin L, Morishige K, Takahashi T, Hashimoto K, Ogata S, Tsutsumi S, et al. Fasudil inhibits vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis in vitro and in vivo. *Mol Cancer Ther* 2007;6(5):1517-25.
18. Fritz G, Brchetti C, Bahlmann F, Schmidt M, Kaina B. Rho GTPases in human breast tumours: expression and mutation analyses and correlation with clinical parameters. *Br J Cancer* 2002;87(6):635-44.
19. Lin M, van Golen KL. Rho-regulatory proteins in breast cancer cell motility and invasion. *Breast Cancer Res Treat* 2004;84(1):49-60.
20. Nakajima M, Hayashi K, Katayama K, Amano Y, Egi Y, Uehata M, et al. Wf-536 prevents tumor metastasis by inhibiting both tumor motility and angiogenic actions. *Eur J Pharmacol* 2003;459(2-3):113-20.
21. Nishimura Y, Itoh K, Yoshioka K, Tokuda K, Himeno M. Overexpression of ROCK in human breast cancer cells: evidence that ROCK activity mediates intracellular membrane traffic of lysosomes. *Pathol Oncol Res* 2003;9(2):83-95.
22. Ogawa T, Tashiro H, Miyata Y, Ushitora Y, Fudaba Y, Kobayashi T, et al. Rho-associated kinase inhibitor reduces tumor recurrence after liver transplantation in a rat hepatoma model. *Am J Transplant* 2007;7(2):347-55.
23. Bourguignon LY, Singleton PA, Zhu H, Diedrich F. Hyaluronan-mediated CD44 interaction with RhoGEF and Rho kinase promotes Grb2-associated binder-1 phosphorylation and phosphatidylinositol 3-kinase signaling leading to cytokine (macrophage-colony stimulating factor) production and breast tumor progression. *J Biol Chem* 2003;278(32):29420-34.
24. Bourguignon LY, Singleton PA, Diedrich F, Stern R, Gilad E. CD44 interaction with Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup> exchanger (NHE1) creates acidic microenvironments leading to hyaluronidase-2 and cathepsin B activation and breast tumor cell invasion. *J Biol Chem* 2004;279(26):26991-7007.
25. Seasholtz TM, Wessel J, Rao F, Rana BK, Khandrika S, Kennedy BP, et al. Rho kinase polymorphism influences blood pressure and systemic vascular resistance in human twins: role of heredity. *Hypertension* 2006;47(5):937-47.
26. Demiryürek AT, Erbagci I, Oztuzcu S, Alasehirli B, Ozkara E, Seker M, et al. Lack of association between the Thr431Asn and Arg83Lys polymorphisms of the *ROCK2* gene and diabetic retinopathy. *Curr Eye Res* 2010;35(12):1128-34.
27. Yoshida T, Kato K, Yokoi K, Oguri M, Watanabe S, Metoki N, et al. Association of genetic variants with chronic kidney disease in individuals with different lipid profiles. *Int J Mol Med* 2009;24(2):233-46.