

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PRİMER VE METASTATİK AKCİĞER ADENOKARSİNOMUNDA CYP  
İZOZİMLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Oğuz Kağan UĞURELLİ

HAZİRAN 2015

Biyoloji Anabilim Dalında Oğuz Kağan UĞURELLİ tarafından hazırlanan PRİMER VE METASTATİK AKCİĞER ADENOKARSİNOMUNDA CYP İZOZİMLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ adlı Yüksek Lisans Tezinin Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. İlhami TÜZÜN

Anabilim Dalı Başkanı

Bu tezi okuduğumu ve tezin **Yüksek Lisans Tezi** olarak bütün gereklilikleri yerine getirdiğini onaylarım.

Doç. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN

Danışman

Jüri Üyeleri

Başkan :Prof.Dr. Nazife YİĞİT KAYHAN \_\_\_\_\_

Üye (Danışman) :Doç. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN \_\_\_\_\_

Üye :Doç. Dr. Ahmet Oğuz ADA \_\_\_\_\_

...../...../.....

Bu tez ile Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Yüksek Lisans derecesini onaylamıştır.

Prof.Dr. Mustafa YİĞİTOĞLU

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## ÖZET

### PRİMER VE METASTATİK AKCİĞER ADENOKARSİNOMUNDA CYP İZOZİMLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

UĞURELLİ, Oğuz Kağan

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN

Haziran 2015, 56 sayfa

Primer ve metastatik akciğer adenokarsinomlu 30 hastada Sitokrom P450 enzimlerinden CYP1A1, CYP1B1 ve CYP2E1 immunohistokimyasal bulguları değerlendirildi. Bu hastalara ait primer ve metastatik dokular boyanma şiddetine göre karşılaştırıldığında; CYP1A1 izoziminin 11 hastada (%36,6), CYP1B1 izoziminin 7 hastada (%23,3), CYP2E1 izoziminin ise 10 (%33,3) protein ifadesinin metastatik dokularda primer dokulara oranla fazla olduğu görüldü. Ayrıca CYP1A1, CYP1B1 ve CYP2E1 izozimlerinin 12 hastada (%40,0), 14 hastada (%46,6) ve 7 hastada (%23,3) protein ifadesinin primer dokularda metastaza oranla daha fazla olduğu görüldü. CYP1A1 ve CYP1B1 metastatik dokulardaki ekspresyon düzeyleri primer dokulardaki ekspresyon düzeylerine göre %40 ve %46,6 daha yüksektir. Primer dokulardaki CYP2E1 ekspresyon düzeyi %33,3 metastatik dokulardaki ekspresyon düzeylerinden daha yüksektir. CYP izozimleri immunohistokimya sonuçları, klinik parametrelerle karşılaştırıldığında; Yaş, sigara içimi ve tümör evresi ile CYP izozimlerinin ekspresyon düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ( $p>0,005$ ).

**Anahtar kelimeler:** Sitokrom P450 (CYP) CYP1A1, CYP1B1, CYP2E1, Akciğer Adenokarsinomu,

## ABSTRACT

### EVALUATIONS OF GST ISOENZYMES WITH METASTATIC MARKERS IN PRIMER AND METASTATIC LUNG ADENOCARCINOM

UĞURELLİ, Oğuz Kağan

Kırıkkale University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology, M.Sc. Thesis

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN

April 2015, 56 pages

Cytochrome P450 (CYP) 1A1, CYP1B1 and CYP2E1 immunohistochemical staining results were evaluated in thirteen lung adenocarcinoma cases. When the primary and metastatic tissues of these cases were compared according to their staining intensity, CYP1A1 11 cases (36.6%) CYP1B1 7 cases (23.3%) CYP2E1 10 cases (33.3%) expression of metastatic tissues was more than that of primary tissues. Moreover, CYP1A1 12 cases (40%) CYP1B1 14 cases (46.6%) CYP2E1 7 cases (23.3%) expression of primary tissues was more than that of metastatic tissues. CYP1A1(40%) and CYP1B1(46.6%) expressions levels in metastatic tissues were more than in primary tissues. CYP2E1 (33.3%) expression level in metastatic tissues was more in primary tissues. When we compare the clinical parameters and immunohistochemical staining results of CYP isozymes, there is no significant relationship between with age, smoking and tumor stage and the expression levels ( $p>0,005$ ).

**Key words:** Cytochrome P450 (CYP) CYP1A1, CYP1B1, CYP2E1, Lung Adenocarcinoma,

## TEŞEKKÜR

Tez alıőmamın bütün aőamalarında tecrübelerinden yararlandığım, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle bana yardımcı olan Sayın Hocam Do. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN'e teőekkürlerimi sunarım.

Çalıőmalarımnda her konuda yardımlarını, desteklerini ve dostluklarını benden esirgemeyen, her zaman yanımda olan Hocam Murat KILIÇ ve Deđerli arkadaşım Büőra MORAN'a desteklerinden dolayı teőekkürler ederim.

Bu zamana kadar maddi ve manevi her konuda her zaman arkamda olan ve destekleriyle bana güç veren Babam Niyazi UĞURELLİ ve Annem Ayten UĞURELLİ'ye sonsuz teőekkürlerimi bir borç bilirim.

# İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
<b>ÖZET</b> .....	iii
<b>ABSTRACT</b> .....	iv
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	v
<b>İÇİNDEKİLER DİZİNİ</b> .....	vi
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	ix
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	x
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	xi
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
1.1. Kanser Etyolojisi ve Epidemiyolojisi.....	2
1.2. Akciğer Kanseri.....	3
1.2.1.. Akciğer Kanser Tipleri.....	4
1.2.1.1. Küçük Hücreli Akciğer Kanseri.....	4
1.2.1.2. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri.....	5
1.2.1.2.1.Epidermoid (squamous) Karsinoma.....	5
1.2.1.2.2.Adenokarsinoma.....	5
1.2.1.2.3.Büyük Hücre Karsinoma.....	5
1.3.1.Akciğer kanser Evrelendirilmesi.....	6
1.3.1.2. Akciğer Kanseri TNM Evrelendirilmesi.....	6
1.4. Ksenobiyotik Metabolizması.....	10
1.5. FAZ I ve FAZ II Reaksiyonları.....	11
1.5.1.Faz I Reaksiyon Tipleri ve Başlıca Enzimleri.....	12
1.5.2. FAZ II Reaksiyon Enzimleri ve Başlıca Enzimleri.....	13

1.6. Sitokrom P450 (CYP).....	14
1.6.1. Sitokrom P450'lerin sınıflandırılması.....	14
1.6.1.1.Sitokrom P4501A1 (CYP1A1).....	14
1.6.1.2.Sitokrom p4501B1(CYP1B1).....	15
1.6.1.3.Sitokrom P4502E1 (CYP2E1).....	15
1.6.2. Sitokrom P450 Sınıflandırılması.....	15
1.6.3.Sitokrom P450'nin Detoksifikasyondaki Rolü.....	16
1.7. CYP Enzimleri ve Akciğer Kanseri.....	16
<b>2.MATERYAL VE YÖNTEM.....</b>	<b>19</b>
2.1.Materyal.....	19
2.1.1.Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	19
2.1.1.1.Solusyonların Hazırlanışı.....	20
2.1.2.Kullanılan Cihazlar.....	20
2.2.Kullanılan Metod.....	21
2.2.1.Materyal Kazanımı ve Hazırlanışı.....	21
2.2.2.İmmunohistokimya Prosedürü.....	23

<b>3. ARAŞTIRMA BULGULARI</b> .....	25
3.1. CYP İzozimlerinin Primer ve Metastatik Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanser Dokularındaki Boyanma Şiddetleri ve Dağılımları .....	25
3.1.1. CYP İzozimlerinin Primer Dokulardaki Dağılımları.....	25
3.1.2. CYP İzozimlerinin Metastatik Dokulardaki Dağılımları.....	27
3.2 CYP İzozimlerinin Primer ve Metastatik Küçük Hücreli Dışı Akciğer kanser dokularındaki ekspresyonlarının karşılaştırılması.....	29
3.3. CYP İzozimlerinin Klinik Parametrelerle Karşılaştırılması.....	35
<b>4.SONUÇLAR VE TARTIŞMA</b> .....	37
<b>5. KAYNAKLAR</b> .....	40



## ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

1. Küçük hücreli dışı akciğer kanserlerinde TNM evrelendirilmesi .....	7
2. Akciğer Kanseri Evrelendirilmesinde Tümör (T)Tanımlayıcısı .....	8
3. Akciğer Kanseri Evrelendirilmesinde Lenf Nodu (N) Tanımlayıcısı .....	9
4. Akciğer Kanseri Evrelemesinde Metastaz (M) Tanımlayıcısı .....	9
5.Faz I reaksiyon tipleri ve başlıca enzimler.....	12
6. Faz II reaksiyon tipleri ve başlıca enzimler .....	13
7-Hasta bilgileri.....	21
8.CYP izozimlerinin primer KHDAK dokularındaki dağılımı.....	25
9. CYP izozimlerinin metastatik KHDAK dokularındaki dağılımı.....	27
10. CYP izozimlerinin primer dokularda metastatik dokulara oranla daha fazla eksprese olmuş hasta sayısı.....	29
11. CYP izoenzimlerinin metastatik dokularda primer dokulara oranla daha fazla eksprese olmuş hasta sayısı.....	30
12.KHDAK Hastaların Primer ve Metastatik dokularda CYP izozimlerinin ifadeleri.....	34
13. CYP izozimlerinin Yaş ile Karşılaştırılması.....	35
14.CYP izozimlerinin Sigara içimi ile Karşılaştırılması.....	36
15. CYP izozimlerinin Tümör evresi ile Karşılaştırılması.....	36

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

1.Ksenobiyotik Metabolizması .....	10
2.CYP izozimlerinin primer KHDAK dokularında immünohistokimyasal boyanma görüntüleri.....	26
3.CYP izozimlerinin metastatik KHDAK dokularında immünohistokimyasal boyanma görüntüleri .....	28
4.KHDAK'li Hastaların Primer ve Metastatik dokularında CYP1A1 izoziminin protein ifadeleri .....	31
5.KHDAK'li Hastaların Primer ve Metastatik dokularında CYP1B1 izoziminin protein ifadeleri .....	32
6.KHDAK'li Hastaların Primer ve Metastatik dokularında CYP2E1 izoziminin protein ifadeleri.....	33

## **SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ**

WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
GST	: Glutasyon-S-Transferaz
CYP	: Sitokrom P450
KHDAK	: Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri
KHAK	: Küçük Hücreli Akciğer Kanseri
PAH	: Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar
TNM	:T:primer tümör; N: bölgesel lenf bezi; M: uzak metastaz

## 1.GİRİŞ

Kanser, hücrelerin kontrolsüz bir şekilde çoğalması, apoptozdan kaçabilmesi ve metastaz yapması ile açıklanırken halen gelişmiş ülkelerin ölüm istatistiklerinde kalp-damar hastalıklarından sonra ikinci sırada yer alan öldürücü bir hastalık olarak görülmektedir [1]. Kanser, bazı hücrelerde normal bölünmeyi kontrol eden mekanizmaların çalışmamasına neden olur ve anormal büyüme göstererek çoğalma eğilimi gösterir [2]. Kanser dokunun otonom bir şekilde(kendi kendine)büyümesi olarak da tanımlanırken; metastaz ise kanserli hücrelerin buldukları doku ya da organ dışına doğrudan ya da kan-lenf damarlarıyla yayılmasına verilen isimdir. Kanser aktif olarak başladığı doku ve organdan vücudun başka bir bölümüne yayılım gerçekleştirdiğinde burada da aynı normal olmayan hücre olarak işlevine devam eder. Örneğin, akciğer kanseri beyine yayılım gösterdiğinde burada beyin tümörü olarak değil metastatik akciğer kanseri olarak görülmektedir [3]. Hücreler, belli bir kontrol altında, vücudun ihtiyacına göre bölünerek çoğalırlar. Hücre bir taraftan programlı hücre ölümü (apoptoz) denilen olay ile yok olurken, diğer taraftan da büyüme faktörlerinin yardımıyla çoğalma gerçekleştirirler. Büyüme faktörleri DNA' daki çeşitli genlerin etkisiyle oluşan proteinlerdir. Bu genler değişime uğrayarak hücrelerin aşırı büyümesine neden olurlarsa, o zaman kanser meydana gelmektedir ve bu genlere onkogen adı verilir. Kanser sıklığı bir toplumda bir yılda ortaya çıkan yeni kanser vakaları sayısının yüz bin nüfusa oranı şeklinde ifade edilir [4].

## 1.1.Kanser Etyolojisi ve Epidemiyolojisi

Kansere neden olan maddeler ‘Karsinojen’ madde olarak adlandırılır. Karsinojen madde radyasyon gibi fiziksel, polisiklik aromatik hidrokarbonlar gibi kimyasal ya da virüs gibi biyolojik ajan olabilmektedir. Karsinojenler DNA’da genotoksik etki yapabilir(radyasyon gibi), hücre poliferasyonunda artış gösterebilir (hormonlar gibi) yada her iki duruma da neden olabilir.(sigara dumanında olduğu gibi).Normal bir hücrenin çoğalması onkogenler yardımıyla gerçekleşir ve tümör supressör genler ile dengeye ulaşılmış olur. Kanserde onkogenlerin (kanserin gelişiminin başlangıcında rol oynayan genler) aktivasyona neden olduğu veya etkisinde değişme meydana geldiğinde bir tümör supressör geninin kaybı veya inaktivasyonu ya da her ikisinin birlikte görülmesi öne sürülmektedir [3,5].

Bununla beraber, kanser multifaktöriyel etiyojisinden dolayı sadece çevre, diyet, genetik ve epigenetik faktörlerle gösterilmeyip, aynı zamanda gen-çevre ve gen-beslenme ilişkisinin de etkili olduğu bir hastalıktır [6].

Ksenobiyotiklerin ve karsinojenlerin metabolizması genellikle faz I ve faz II olmak üzere ikiye ayrılır. Faz I genellikle ksenobiyotiklere ve karsinojenlere karşı ilk enzimatik savunma olarak bilinir.

En önemli faz I biyotransformasyon reaksiyonu oksidasyondur. Oksidasyon genellikle mikrozomal sitokrom P450 enzim sistemi ile gerçekleşir. Bu sistem oksijene, NADPH’a ve NADPH-sitokrom P-450 redüktaz enzimine ihtiyaç duymaktadır. Oksijenin bir atomu ksenobiyotiğe transfer edilip ksenobiyotik yükseltgenip diğer oksijen atomu suya indirgenir. Faz I basamağından çıkan ürünler reaksiyonlara girdiklerinden daha aktif ve toksik yapıya dönüşürler. Eğer reaktif moleküller faz II detoksifikasyona uğramazlarsa proteinlere, RNA ve DNA’ya zarar verebilirler. Faz I sistemin hızının artması ve Faz II’nin konjugasyon hızının azalması kanser, parkinson benzeri hastalıkların oluşma riskini artırır.

Faz I reaksiyonlarını Faz II konjugasyon reaksiyonları izlemektedir. Önceden faz I reaksiyonlarıyla aktif hale getirilen moleküller bu basamaktan sonra daha fazla suda çözünebilir hale gelirler. Konjugasyonun farklı tipleri bulunmaktadır. Bunlar; glukuronidasyon, sülfasyon, asetilasyon, glutasyon ve aminoasit konjugasyonlarıdır. Konjuge edilmiş karsinojen ve ksenobiyotikler idrar ya da safra yoluyla atılmaktadır [7].

Uluslararası Kanser ajansı 2012 verilerine göre dünyada yeni tanı alan kanserli hasta sayısı ve kanserden kaynaklanan ölüm sayısı sürekli artış göstermektedir. Verilere göre 2012 yılında dünyada 14,1 milyon yeni kanser vakası gelişmiş ve 8,2 milyon kansere bağlı olarak yaşamını yitirmiştir. Dünya’da en çok görülen kanser vakaları: akciğer (%13,0), meme (%11,9) ve kolon (%9,7) iken kanserden ölümlerin ise en çok akciğer (%19,4), karaciğer (%9,1) ve mideden (%8,8) gerçekleştiği belirtilmiştir. Dünya nüfusunun artışına ve nüfustaki yaşlanmaya bağlı olarak 2025 yılında toplam 19,3 milyon yeni kanser vakası olacağı belirtilmiştir. Gerek kanser vakalarının (%56,8) gerekse de kanserden kaynaklanan ölümlerin (%64,9) yarısından fazlasının az gelişmiş ülkelerde olduğu gösterilmiştir [8].

## **1.2.Akciğer Kanseri**

Akciğer kanseri 20.yüzyılın başlarında çok az rastlanan bir hastalık iken, sigara kullanan insan sayısındaki ve kullanımındaki artışıyla doğru orantılı olarak artmış, günümüzde en sık görülen kanser olarak karşımıza çıkmıştır. Akciğer kanseri tüm dünyadaki kanser çeşitlerinde görülme sıklığında %12,8’inden ve kanser kaynaklı ölümlerin %17,8’inden sorumlu bir kanser türüdür. Dünya genelinde her yıl bir milyon üzerinde insan akciğer kanserinden kaynaklı hastalıklardan dolayı hayatını kaybetmektedir [9].

Akciğer kanseri tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de oldukça sık görülmekte ve metastaz yapma eğilimi oldukça fazla olan bir kanser türüdür. Özellikle sigara kullanımı akciğer kanserinin tanısında ve gelişiminde en önemli risk faktörü olarak görülmektedir. Epidemiyolojik çalışmalar bazı ailelerde akciğer kanserinin görülme

yüzdesinin çok yüksek olduğunu göstermektedir. Bu durum akciğer kanserinde rastlanan varyasyonların genetik faktörlerle ilişkili olabileceğini göstermektedir.

Sigara dumanında bulunan polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH) ve N-Nitrozaminlerin sitokrom P450 (CYP) enzimleri ile oluşan aktif metabolitleri, mesleki yada çevresel olarak insanı etkilemekte olan asbest, iyonize radyasyon ve serbest radikaller akciğer kanserinin görülme ve gelişme yüzdesini artıran etmenlerdir [10].

Akciğer kanseri görülme yüzdesi erkeklerde daha fazla fazladır. Ülkemizde görülme yüzdesi erkeklerde: 100.000 de 61,6, kadınlarda: 100.000 5,1 olarak görülmektedir. Akciğer kanseri erkeklerde görülen kanserlerin %38,6 sını, kadınlarda ise % 5,2 sini oluşturmaktadır [11].

Etiyolojide en önemli faktör sigaradır. Akciğer kanserlerinin yaklaşık %85-90'ından sigara sorumludur. Sigara, akciğer kanseri riskini içmeyenlere göre 30 kat arttırmaktadır. Pasif içicilik de riski yaklaşık iki kat arttırmaktadır [12].

### **1.2.1. Akciğer kanser tipleri**

Akciğer kanserleri lokalizasyon ve Tümör özellikleri bakımından farklılıklar göstermektedir. Akciğer kanserinin başlıca 2 tipi vardır. Bunlar;

1-Küçük Hücreli Akciğer Kanseri (KHAK)

2-Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri (KHDAK)

#### **1.2.1.1.Küçük hücreli akciğer kanseri**

Küçük hücreli Akciğer kanseri, akciğer kanserinin %20'sinden daha azını oluşturan tiptir. Hızlı gelişen bir kanser türüdür ve vücudun diğer kısımlarına metastaz yapma oranı daha fazladır. Genellikle bronşlarda başlarlar ve oluşumunun en önemli nedeni sigara kullanımınıdır. Küçük hücreli akciğer kanseri daha çok karaciğer böbrek üstü bezleri, kemiklere yayılma göstermektedir. Küçük hücreli akciğer kanseri bayanlara oranla erkeklerde daha fazla görülmektedir. Bu neden sigara kullanımıyla ilişkilidir.

### **1.2.1.2.Küçük hücreli dışı akciğer kanseri**

Küçük hücreli dışı akciğer kanseri, Akciğer kanserinin yaklaşık %80 lik bir kısmını oluşturmaktadır. Gelişmesi ve vücudun diğer organlarına metastaz yapması bakımından KHAK' ne göre daha yavaş ilerleme göstermektedir. Küçük hücreli dışı akciğer kanserinin 3 tipi vardır. Bu tipler kanserin gelişim gösterdiği hücrenin tipine göre isimlendirilmektedir.

#### **1.2.1.2.1-Epidermoid (squamous) karsinoma:**

Akciğer kanserinin yaklaşık %35'lik bir bölümünü oluşturmaktadır. Squamöz hücreli karsinoma genel olarak geç büyüme gösterir ve metastaz yapması oldukça yavaştır. Squamöz hücreli karsinoma vücutta sadece bir bölgede yerleşim göstermektedir.

#### **1.2.1.2.2-Adenokarsinoma**

Akciğer kanserinin yaklaşık %30-%50 lik bir kısmını oluşturmaktadır. Büyüme ve gelişme hızı squamöz hücreli karsinomdan daha fazladır ve büyük bölgelere ulaşabilirler. Metastaz daha fazla belirgindir.

#### **1.2.1.2.3. Büyük hücre karsinoma**

Mikroskop altında incelendiğinde geniş ve abnormal olarak görülen hücrelerde başlar. Akciğer kanserinin %5'lik bir kısmını oluşturmaktadır. Hem çevresel hem merkezi yerleşimli olabilmektedir. Tanısını önceden belirlemek oldukça zordur [13]. Akciğer kanserine neden olan en önemli risk faktörleri sigara, mesleki ve çevresel maruziyet, genetik faktörler ve olasılıkla diyetdir. Akciğer kanserinin neden olarak meydana getirdiği ölümlerin erkeklerde %90, kadınlarda %78 oranıyla sigara kullanımıyla ilişkili olduğu tahmin edilmektedir. Çeşitli ülkelerde yapılan araştırmalarda akciğer kanserinin içilen sigara miktarıyla doğru orantılı olarak arttığı gözlemlenmiştir. Sigara içilen yıl sayısı da kritik bir öneme sahiptir. Sigara kullanımı 'paket-yıl' olarak belirlenir ve özellikle 20 paket-yıl dan sonra görece risk önemli bir



şekilde artış gösterir. Örneğin; 40 yıl 1 paket-gün sigara kullanan bir insanın akciğer kanserine yakalanma riski, 20 yıl 2 paket-yıl kullanan insandan akciğer kanserine yakalanma riski daha fazladır [14].

### **1.3.1.Akciğer kanserinin evrelendirilmesi;**

Akciğer kanserinin evrelendirilmesi hastalığın tanı ve tedavisinde önemli bir yere sahiptir. Evreleme türleri;

Klinik evreleme ; Öncelikli olarak fiziki olarak muayene , bronkoskopi, mediastinoskopi ile evreleme

Patolojik evreleme ; Bir organ veya vücut kısmının bir bölümünün veya tamamının çıkartılması ile patoloğun değerlendirmesi ile yapılan evreleme

Yeniden evreleme ; Kısmi veya tedavi hareketliliğini takip için yapılan evreleme

Rekürens evreleme ; Nüks tümörlerde yeniden evrelemedir.

Otopsi evrelemesi ; Otopsi sırasında olan evrelemedir.

Bu kanser tipinde hastalığın yaşama son verip vermeyeceğinin en önemli belirteci evreleme olduğu bilinmektedir. Evrelendirme tümörün büyüklüğüne yayılımına (T) , bölgesel lenf bezi tutulumuna(N), uzak metastaz varlığına (M) dayanan TNM evrelendirilmesi kullanılır [15].

### **1.3.1.2.Akciğer Kanserinin TNM evrelendirilmesi**

Akciğer kanserli bir hastada tedavi seçimi ve hastalığın prognozu, hastalığın tanı sırasındaki evresi ile yakından ilişkilidir. Analitik, terapötik ve prognostik amaçlarla tümörün yaygınlığının ölçülmesi, tümör evrelendirmesi olarak tanımlanmaktadır. Akciğer kanserinde prognozu belirleyen en önemli faktör tümörün evresidir. Akciğer kanserinin evrelendirilmesinde kullanılan TNM (T: primer tümör; N: bölgesel lenf bezi; M: uzak metastaz) evrelendirme sistemi tanı sırasında hastalığın anatomik yaygınlığını gösteren önemli bir rehber olarak primer akciğer kanseri olan tüm hastalara uygulanabilmektedir. Akciğer kanserinin evreleme sisteminin revizyonu

1997 yılında Mountain tarafından yapılmıştır. 2002 yılında yeniden TNM sınıflandırılması yapılmış ancak akciğer kanser evrelendirilmesinde değişiklik yapılmamıştır [16].

**Çizelge 1.** Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserlerinde TNM Evrelendirmesi

<b>EVRE</b>	<b>TNM</b>
<b>I</b>	IA: T1N0M0
	IB: T2N0M0
<b>II</b>	IIA: T1N1M0
	IIB: T2N1M0 T3N0M0
<b>III</b>	IIIA: T3N1M0 T1-2-3 N2 M0
	IIIB: T1-4 N3 M0 T4 N1-3 M0
<b>IV</b>	T1-4 N1-3 M1

**Çizelge 2.** Akciğer Kanseri Evrelemesinde T (Tümör) Tanımlayıcısı

<b>T (Primer Tümör)</b>	
TX	Primer tümörün değerlendirilemediği durumlar ya da balgam veya bronşial lavajda malign hücrelerin saptanması ile tümör varlığının gösterildiği ancak bronkoskopi ya da görüntüleme yöntemleri ile tümörün saptanamadığı durumlar
T0	Primer tümör kanıtı yok
Tis	İn-situ kanser
T1	Lob bronşundan daha proksimalde bronkoskopik invazyon kanıtı olmaksızın (ana bronşta tümör yok), normal akciğer veya viseral plevra ile çevrili, en geniş çapı 3 cm veya daha kısa tümör*
T1a	Tümör en geniş çapı 2 cm veya daha kısa
T1b	Tümörün en geniş çapı 2 cm den uzun ancak 3 cm veya daha kısa
T2	Tümörün en geniş çapı 3 cm den uzun ancak 7 cm veya daha kısa ya da Aşağıdaki özelliklerden birini taşıyan tümör; -Karinadan 2 cm veya daha distalde ana bronş invazyonu -Visseral plevra invazyonu -Bir akciğerin tamamını tutmayan, hiler bölgeye doğru uzanan obstruktif pnömoni veya atalektazi
T2a	Tümörün en geniş çapı 3 cm den uzun ancak 5 cm veya daha kısa
T2b	Tümörün en geniş çapı 5 cm den uzun ancak 7 cm veya daha kısa
T3	7 cm den büyük tümör ya da Aşağıdaki yapılara direkt olarak invazyon gösteren herhangi bir tümör; göğüs duvarı (süperior sulkus tümörleri dahil), diafragma, frenik sinir, mediastinal plevra, parietal perikart ya da ana bronşta invazyon gösteren tümör (karina*tutulumu olmaksızın, anabronşun 2 cm içinde) ya da bir akciğerin tamamında obstruktif pnömoni veya atalektaziye neden olan tümör ya da Primer tümör ile aynı lobda ayrı tümöral nodul/nodüllerin varlığı
T4	Aşağıdaki yapılardan birine invazyon gösteren herhangi bir tümör; Mediasten, kalp, büyük damarlar, rekküren larengeal sinir, özefagus, vertebra cismi, karina. Aynı taraf akciğerde, primer tümörden farklı lobda tümör nodul/nodüllerin

**Çizelge 3.** Akciğer Kanseri Evrelemesinde N (Lenf Nod) Tanımlayıcısı

<b>N (Bölgesel Lenf Nodları)</b>	
NX	Bölgesel lenf nod değerlendirmesi yapılamadı
N0	Bölgesel lenf nod metastazı yok
N1	Aynı taraf peribronşial ve/veya aynı taraf hiler ve/veya intrapulmoner lenf nod/nodlarında metastaz ya da direkt invazyonu
N2	Aynı taraf mediastinal ve/veya subkarinal lenf nodu/nodlarında metastaz
N3	Karşı taraf mediastinal, karşı taraf hiler, aynı taraf veya karşı taraf skalen veya supraklavikuler lenf nod/nodları metastazı

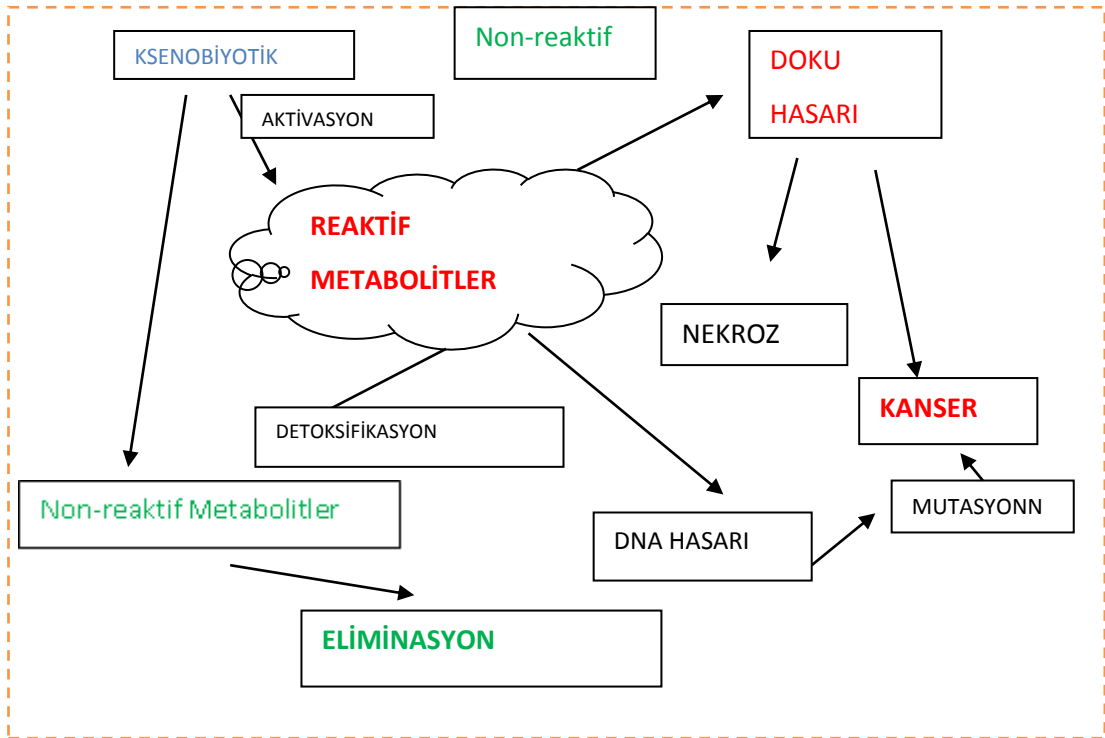
**Çizelge 4.** Akciğer Kanseri Evrelemesinde M (Metastaz) Tanımlayıcısı

<b>M (Uzak Metastaz)</b>	
MX	Uzak metastaz değerlendirilemedi
M0	Uzak metastaz yok
M1	Uzak metastaz var
M1a	Karşı akciğer ayrı tümör nodül/nodülleri Primer tümör ile aynı tarafta plevra nodüller veya malign plevra (veya perikardial) sıvı**
M1b	Uzak metastaz
<p>neyemretsög noyzavni anışıd iravud şnorb ,nelibanazu radak enilamiskorp nuşnorb anA * herhangi bir büyüklükte yüzeysel tümör. ızab kacnA .rıdılgab erömüt uğoç nıralıvıs (laidrakirep ev) larvelp edniresnak reğickA** hastalarda plevral (perikardial) sıvının tekrarlanan sitopatolojik değerlendirmelerinde tümör saptanamaz. Sıvı eksuda ve hemorojik değildir.Bu bulgular ve klinik değerlendirme sıvının tümör ile ilişkili olmadığını işaret ederse,sıvı evreleme esnasında dikkate alınmaz ve M0 olarak sınıflandırılır.</p>	

#### 1.4.Ksenobiyotik metabolizması

Değişik yollarla vücuda giren kimyasal karsinojenler ksenobiyotikler olarak adlandırılmaktadır. Bu bileşiklerin çoğu vücutta metabolize olmaktadır. Ksenobiyotiklerin bir canlı organizmada kimyasal değişim göstermesine biyotransformasyon denilmektedir. Bir ksenobiyotik metabolizmasında iki evre meydana gelmektedir. Bunlardan ilki Faz 1 reaksiyonları oksidasyon, redüksiyon ve hidroliz olaylarını oluşturmaktadır. İkinci reaksiyon ise çeşitli konjugasyon ve sentez olaylarını içermektedir.

Ksenobiyotik metabolizmasındaki iki fazın amacı bu zararlı bileşiklerin suda çözünmesini sağlayarak safra ile böbreklerden daha kolay atılmasını sağlayan ürünler haline dönüştürmektir [17].



Şekil 1: Ksenobiyotik Metabolizması [18].

## 1.5. Faz I ve Faz II Reaksiyonları

Ksenobiyotik metabolizmasında en önemli yollardan biri olan Faz I reaksiyonlarından oksidasyon-redüksiyon (redoks) reaksiyonları ve enzim sistemleri önemli yer oluşturmaktadır. Sitokrom P-450 enzim sistemi ve amin oksidaz enzimi bu sistemde önemli rol oynarlar. Sitokrom P-450 bağımlı monooksijenazların kataliz ettiği oksidasyon reaksiyonları olan alifatik hidroksilasyon, alifatik epoksidasyon, aromatik epoksidasyon ve hidroksilasyon, dealkilasyon, N-hidroksilasyon, deaminasyon, S-oksidasyon, P-oksidasyon, desülfürasyon ve ester kırılması, oksidatif dehalojenasyon reaksiyonlarında substrata (RH) moleküler oksijenin (O<sub>2</sub>) bir atomunu aktararak yükseltgenmesini sağlar (ROH). Sonuçta oksijenin diğer atomunda indirgenir. Tüm bu reaksiyonlarda NADPH kullanılmaktadır. Redüksiyon reaksiyonlarında substrat özelliğine göre, bu enzim sistemlerinden bir ya da iki elektron alarak indirgenir. Redüksiyon metabolizması azo indirgenmesi aromatik nitro indirgenmesi disülfürlerin indirgenmesi, keton ve aldehitlerin indirgenmesi, sülfoksit indirgenmesi olarak sıralanabilir. Hidroliz reaksiyonlarını kataliz eden enzimler esterazlar, amidazlar, epoksid hidrolaz ve DDT – klorinaz enzimleri olarak adlandırılmaktadır. Esterazlar amidleri, Amidazlar esterleri hidroliz ederler. Mikrozomal esterazlar ksenobiyotiklerin hidrolizlerini sağlarlar.

Faz I reaksiyonları sonucu oluşan metabolitler, sentez ve konjugasyon reaksiyonları olarak adlandırılan Faz II reaksiyonları sonucu daha polar hale gelerek vücuttan atımı kolaylaşır. Konjugasyon reaksiyonları, kimyasal maddelerin organizmadaki endojen maddelerle birleşmesiyle meydana gerçekleşir. Metilasyon diğer konjugasyon reaksiyonlarından farklılık göstermektedir. Metil transferaz enzimleri reaksiyonu kataliz ederler. Ksenobiyotiklerin metilasyonlarında S-adenozilmetiyonin önemlidir. Asetilasyonda Koa ile endojen açıl grubu (asetil) aktive olur ve oluşan asetil Koa ile ksenobiyotik konjuge olmaktadır. Asetilasyonu N-asetil transferaz enzimleri kataliz eder [19].

### 1.5.1. FAZ I Reaksiyon Tipleri Ve Başlıca Enzimler

Çizelge 5 ' de ksenobiyotik biyotransformasyonunda yer alan FAZ I reaksiyon tipleri ve başlıca enzimler gösterilmektedir.

**Çizelge 5.** FAZ I reaksiyon tipleri ve başlıca enzimler

REAKSİYON TİPLERİ	ENZİMLER
Yükseltgenme (oksidasyon)	<b>Sitokrom P-450 monoksijenaz</b> Ksantinoksitaz Peroksidazlar Aminooksidaz Monoaminooksidaz Dioksijenaz Alkol dehidrogenaz Aldehit dehidrogenaz Superoksit dismutaz
İndirgenme (redüksiyon)	<b>Sitokrom P-450 redüktaz</b> Keto-redüktaz Glutatiyon peroksidazlar
Hidroliz	Epoksit hidrolaz Karboksiesterazlar Amidazlar

### 1.5.2.Faz II Reaksiyon tipleri ve başlıca enzimler

Çizelge 6’de ksenobiyotik biyotransformasyonunda yer alan FAZ II reaksiyon tipleri ve başlıca enzimler gösterilmektedir.

**Çizelge 6.** FAZ II reaksiyon tipleri ve başlıca enzimler

REAKSİYON TİPLERİ	ENZİMLER
Konjugasyon	Glukuronozil transferaz Sulfotransferaz <b>Glutatyon S-transferaz</b> Glukozil transferaz Tiyol transferaz Amidsentezi (transaçilaz)
Metilasyon	O- , N-, S- metiltransferazlar
Asetilasyon	N-asetiltransferaz Açiltransferaz
Diğerleri	Sülfürtransferaz (rodanez)



## **1.6.Sitokrom P450 (CYP)**

Sitokromlar mikrozomal hemoproteinlerden oluşan, çok sayıda izozime sahip, prokaryot ve ökaryotlarda bulunan çok geniş bir enzim ailesidir. Endojen ve ekzojen çok sayıda bileşiklerin oksidasyon ve redüksiyon reaksiyonlarında rol almaktadır. Steroidler, vitaminler, yağ asitleri gibi endojen maddelerin metabolizmasında görev aldıkları gibi çevresel kirleticiler, ilaçlar, karsinojenlerin biyotransformasyonunda da rol alırlar [20]. Sitokrom enzimleri, olgun eritrosit ve iskelet kası hücreleri dışında tüm memeli hücrelerinde bulunmaktadır. Hücrelerin mikrozomlarında bulunan sitokromlar, mikrozomal enzim sisteminin bir üyesidir. Görevlerini yerine getirmek için elektron transfer zincirine gereksinim duyarlar. Bu kaynak NADPH –Sitokrom c (P450) redüktaz enzimidir [21].

### **1.6.1.Sitokrom P450 'lerin sınıflandırılması**

Sitokrom enzimlerini kodlayan genler aminoasit dizilimindeki benzerliğe göre aileler ve alt birimlere ayrılmaktadır. Aminoasitteki benzerlik %40 tan az ise aynı aileye , % 50 den fazla ise aynı alt aileye aittir.

#### **1.6.1.1.Sitokrom P450 1A1 (CYP1A1)**

CYP1A1 Genellikle karaciğer dışındaki dokularda bulunmaktadır. CYP1A1, faz I biyoaktivasyonunun Anahtar enzimidir. CYP1A1 genellikle sigara kullanımıyla ve polisiklik aromatik hidrokarbonların(PAH) tarafından en çok akciğer ve plesentada indüklenir. Baş ve boyun skuamoz epitelyumunda bulunur. CYP1A1 prekarsinojenlerin aktivasyonuna katkıda bulunur ve bu bileşiklerin DNA'ya bağlanmaları sonucu mutasyonlar meydana gelebilir. Bu özelliği kansere neden olarak gösterilebilir [22].

### **1.6.1.2.Sitokrom P450 1B1 (CYP1B1)**

Sitokrom P-450 enziminin insan tümörlerinde ekspresyonu yüksektir. Murray ve ark. [23]. yaptıkları immünohistokimyasal bir çalışmada CYP1B1 proteinini beyin, göğüs, kolon, over gibi farklı organ tümörlerinde göstermişler, fakat normal dokuda saptayamamışlardır.CYP1B1 in fonksiyonel rolü bilinmemesine rağmen aromatik hidroksilasyon aktivitesi olduğu bilinmektedir. PAH aktivasyonundan sorumludur.

### **1.6.1.3.Sitokrom P450 2E1 (CYP2E1)**

Sitokrom P450 ailesinin bir üyesi olan CYP2E1, karaciğer hastalığıyla gelişimiyle ve oksidatif stres ile gelişen karsinogenez ile bağlantılı birçok kimyasal ve fizyolojik durumu indüklemektedir [24]. Karaciğerdeki CYP içeriğinin yaklaşık %7 sini oluşturmaktadır.CYP2E1, lipit peroksidasyon ürünleri, ketonla, linoneik asit ve araşidonik asit gibi yağ asitleri bir çok endojenik maddenin metabolizmasına katılır. CYP2E1, nitrozamin aktivasyonu için kritik öneme sahiptir. Etanol metabolizmasından sorumludur ve etanol oksidasyonunun önemli bir bileşeni olarak kabul edilir.CYP2E1 enzimi bas ve boyun squamoz epitelyumunda bulunur [25]. CYP2E1 insanda 10. kromozom üstünde bulunur. 11413 Baz çiftine, 9 ekzona ve belirgin TATA kutularına sahiptir. Daha çok karaciğerde olmak üzere böbrek akciğer gibi diğer organlarda da bulunurlar. Karaciğerde yaklaşık %15 oranında ifade edilir. CYP2E1 bronşiyal mukozada ve beyinde de ifade edilir. Beyinde hipokampus, medulla ve substantiya nigra bölgesinde tespit edilmiştir [26].

### **1.6.2. Sitokrom P450'lerin Substratları**

Sitokrom P450 izoenzimlerinin spesifik substratları bulunmaktadır. Bunlar; CYP1A1 için 7-etoksiresofurin, benzopiren, CYP1B1 için siklofosamid, metadondur. Parasetamol, kafein, klorzoksazon, etanol, anilin ve benzen CYP2E1' in önemli substratlarından birkaçıdır [27].

### **1.6.3.Sitokrom P450 ‘nin Detoksifikasyondaki Rolü**

Birçok prokarsinojen DNA’ya bağlanmadan önce biyotransformasyon ve metabolik aktivasyona ihtiyaç duyar. Bu metabolik aktivasyon genellikle faz I enzimleri tarafından başlatılır. Sitokrom P450 enzimleri, prokarsinojenleri eletrofilik ara ürünlere dönüştüren reaksiyonları katalizler [28]. Sitokrom P450 enzim ailesinden CYP1, CYP2, ve CYP3 ilaç ve ksenobiyotiklerin metabolizmasından sorumludur. Bunlardan bazıları ksenobiyotikleri karsinojenik ürünlere dönüştürür ve aktif ara ürün oluşmasına neden olurlar. Bu aktif ara ürünler, faz II enzimleri yardımıyla polar hale getirilip vücuttan atılırlar; ya da proteinlere ve ya DNA ya bağlanarak toksik etki oluştururlar. Diğerleri ise endojen bileşiklerin metabolizmasında görev alırlar [29].

### **1.7.CYP Enzimleri ve Akciğer Kanseri**

Solunum yoluyla alınan kimyasalların vücuda ilk yerleştiği organlar akciğerlerdir. Akciğer kanser oluşumunda, CYP enzimlerinin aydınlatılması son derece önemlidir. CYP1A1 izozimi akciğerde bol miktarda ifade edilmektedir ve akciğer kanser gelişiminde önemli bir rol üstlenmiştir.

Mollerup ve ark. (1999)’nın normal akciğer dokularında yaptıkları çalışmada, erkek sigara içicileri ile kadın sigara içicileri karşılaştırıldığında, kadınların akciğerinde, aromatik/hidrofobik DNA katılım ürünlerinin ve CYP1A1 seviyelerinin yüksek olduğunu vurgulanmıştır [30].

Chen S. ve ark. 106 akciğer kanserli hasta ve kontrol grubunda CYP1A1 ve GSTM1 genlerinin PCR yöntemiyle polimorfizmini çalışmışlardır. GSTM1/CYP1A1 null olan bireylerde akciğer kanser riskini yüksek bulmuşlardır [31].

Anttila ve ark. [32]. yaptıkları çalışmada sigara içen 57 akciğer kanserli hastada immünohistokimya yöntemi ile CYP1A1 ve CYP1A2 izoenzimlerinin normal dokularda negatif boyanırken, kanserli dokularda pozitif boyandığını göstermişlerdir.

Oyama ve ark. [33] 78 küçük hücreli dışı akciğer kanserli (KHDAK ) hastalarda CYP1A1, CYP2A6, CYP2E1, CYP3A izoenzimlerinin ekspresyonlarını immünohistokimya, western blotlama ve Real-time PCR yöntemlerini kullanarak incelemişlerdir. Yaptıkları bu çalışmada dört CYP izoenziminin de ekspresyonunu özellikle erken evre adenokarsinomda daha yüksek olduğu fakat squamöz hücreli kanserde ise yüksek olmadığını belirtmişlerdir. İleri evredeki KHDAK hastalarında CYP izozimlerini eksprese eden hastaların sağ kalımının daha kısa olduğunu göstermişlerdir.

Spivack Ve ark. [34] CYP1B1 izoenzimi ile ilgili yaptıkları çalışmalarında Western Blotting ve PCR tekniklerini kullanmışlardır. On altı akciğer kanserli hastada CYP1B1 ekspresyonunun tümörlü dokuda normal akciğer dokusuna göre daha yüksek olduğunu göstermişlerdir.

İmmünohistokimyasal yöntemlerle, Oyama ve ark.[33], 48 akciğer adenokanserli hastanın %48'inde, Chang ve ark. [35], 107 akciğer adenokanserli hastaların %37'sinde CYP1A1 izoziminin protein ifadesini göstermişlerdir. Lin ve ark. [36], 89 KHDAK'lı hastayla yaptığı çalışmada hastaların dokularında %47 oranında CYP1B1'in protein ifadesinin olduğunu vurgularken , Chang ve ark. [35], 107 hastanın %49'unda bu izozimin protein ifadesinin pozitif olduğunu bildirmiştir. Kivisto ve ark. [37], 28 akciğer kanserli hastanın %46'sında CYP2E1 izoziminin protein ifadesini belirtirken , Oyama ve ark. [33] yaptığı çalışmada 48 hastadan %48'inin dokularında bu izozimin protein ifadesini göstermiştir.

Kılıç M. (2013) yılında yaptığı doktora tezi çalışmasında 39 adet KHDAK'li hasta dokusu ve bunların normal periferik dokuları kullanarak yaptığı çalışmada immünohistokimya ve Real-time PCR yöntemlerini kullanmış ve sonuçta yaklaşık olarak KHDAK li hastaların tamamında normal ve tümörlü dokularında CYP1B1 ve GSTP1 izozimlerinin protein ifadelerinin aşırı yüksek olduğunu ve bu enzimlerin

aşırı ifadelerin yanında CYP1A1, CYP2E1 ve GSTM1 izozimlerinin protein ifadelerinin tümörlü dokularda normal dokulara oranla daha yüksek olduğu istatistiksel olarak anlamlı bulunduğunu bildirmiştir [38].

Yüksel (2014) yılında yaptığı çalışmada 29 KHDAK hasta dokusunda ve bunların normal periferik dokuları kullanılarak yaptığı çalışmada immünohistokimya ile KHDAK hastaların tamamında normal ve tümörlü dokularında GSTM1, GSTT1, GSTP1 ve CYP1A1, CYP1B1 izozimlerini çalışmıştır. CYP1A1 izoziminin CYP1B1, GSTM1, GSTT1 izozimlerine göre daha fazla eksprese edildiği ( $p < 0.05$ ) tespit edilmiştir [39].

Ada [40] 138 tane küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalarda CYP1A1, CYP1B1 ve GSTM1, GSTP1, GSTT1 izozimlerinin sağkalım analizindeki rolünü incelemiş ve CYP ve GST polimorfizmlerinin yalnızca GSTP1 izoziminin belirgin bir şekilde sağ kalımda etkili olduğunu bildirmiştir.

Yapılan bu tez çalışmasında; vücutta kanser oluşum mekanizması ve ilaç dirençliliğinde önemli rolü olan ksenobiyotik mekanizmasının I. Faz reaksiyonlarını katalizleyen, CYP1A1, CYP1B1 ve CYP2E1 izozimlerinin protein ifadelerinin, küçük hücreli dışı akciğer kanserindeki düzeylerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu enzimlerin metastazla ilişkisi hakkında literatürde yeterli bir çalışma bulunamadığından enzimlerin ve metastatik markerların, primer ve metastatik dokular arasındaki farklılıkları ve ilişkileri araştırılacaktır. Öncelikle primer yani herhangi bir metastatik eğilimde bulunmamış kanser hücrelerindeki CYP izozimlerinin protein ifadelerinin durumuna bakılıp daha sonra lenf noduna metastaz yapmış olan akciğer kanserli metastatik hücrelerdeki CYP protein ifadelerine bakılacaktır. Elde edilen sonuçlar yaş, cinsiyet, tümör evreleri, sigara kullanımı, gibi klinik parametrelerle birlikte değerlendirilerek akciğer kanseri gelişimi ve ilerlemesi konusuna ışık tutulacaktır.

## 2. MATERYAL ve YÖNTEM

### 2.1. Materyal

#### 2.1.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Primer Antikor (CYP1A1, CYP1B1, CYP2E1)
- Sekonder Antikor (Biyotinlenmiş sekonder antikor),
- TBS buffer
- %30' luk H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Solusyonu
- Ksilol
- Etanol
- Metanol
- Sodyum Sitrat
- Sitrik Asit
- Protein Blokajı (Normal Swine Serum, Normal Goat Serum) Hematoksilen
- DAB (Diamino benzidin)

### 2.1.1.1. Solüsyonların Hazırlanışı

I. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Blokağı Solusyonu Hazırlanışı: 30 ml %30'luk H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üzerine 470 ml metanol ilave edilerek hazırlandı.

II. Antijen Retrieval Solusyonunun Hazırlanışı (0-.01 M, pH: 6-.0): 2-.101 g sitrik asit (A) 100 ml distile suda; 0-.1 M 14-.7 g sodyum sitrat (B) 500 ml distile suda çözüldü. 27 ml A solusyonundan, 123 ml B solusyonundan alınarak 1500 ml'ye distile su ile tamamlandı.

III. 0.005 M Tris Tamponunun Hazırlanışı: 60-55 g tris base, 85.20 g NaCl 500 ml distile suda çözüldü. 370 ml 1 M HCl eklenerek pH: 7-.6'ya getirilip 1 lt'ye tamamlanır. (1 ml TBS 100 ml distile suyla dilüe edilerek kullanılır).

### 2.1.2. Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler

- -20'lik derin dondurucu ve buzdolabı(Beko-9621)
- Hassa terazi
- Floresan Ataçmanlı Araştırma Mikroskobu (Leica 5000B)
- Işık Mikroskobu (Zeiss- Primostar)
- Otomatik mikropipet seti (CAPP)
- Vortex (Heidolph)
- Etüv (Binder-ED53)
- Ultra distile Su sistemi (Elga Purelab Optia)
- Isıtıcıly manyetik karıştırıcı (IKA C-Mag H58)
- Ocak (Arçelik021)
- Düdüklü Tencere (Hisar)
- Boyama tablası (Biogen)
- Lamel (Isolab)
- Poly-L-lysin kaplı lamlar (Thermo)
- Mezür, beher, erlenmayer (isolab)

## 2.2. Kullanılan Metot

### 2.2.1. Materyal Kazanımı Ve Hazırlanışı

Atatürk Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim Araştırma Hastanesi'nin etik kurul onayı ile Atatürk Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim Araştırma Hastanesi'nin Patoloji Arşivinden 30 primer ve metastatik küçük hücreli dışı akciğer adenokarsinomlu olguya ait 60 akciğer ve lenf nodu doku bloklarından kesitler alınıp, bu bloklardan her bir vaka için poly-L-lysin kaplı lamlara 3 kesit alındı. 30 hastanın tamamına CYP izozimleri immunohistokimya yöntemi ile uygulandı.

Hastalara ait tümör dokularının klinik evrelendirmesine TNM evreleme sistemi kullanıldı. Hastalara ait yaş, cinsiyet, tanı, tümör evre ve sigara kullanım durumu ile ilgili hasta bilgileri Çizelge 7'de verilmiştir.

**Çizelge 7: Hasta Bilgileri**

HASTA	Hastanın Yaşı	Hastanın Cinsiyeti	Sigara Kullanımı	Tümör Evre
1554-08	75	E	50 yıl	IIIA
3185-08	54	E	HAYIR	IIIA
4411-08	60	E	yılda 50 pkt	IIIA
6966-08	48	K	HAYIR	IIIA
5645-08	51	E	35 yıl güne 1 pkt	IIIA
8109-09	63	K	HAYIR	IIIB
528-10	52	E	40 yıl günde 1 pkt	IIA
13936-10	61	E	yılda 120 pkt	IIIA



12994	36	K	HAYIR	IIA
2618-11	47	K	20 yıl günde 1 pkt	IIIA
8490-11	55	E	HAYIR	IIIA
8677	48	E	25 yıl günde 2 pkt	IIIB
3618-11	50	K	HAYIR	IIIA
13754-11	40	E	yılda 40 pkt	IIB
915-11	48	E	yılda 40 pkt	IIIB
10621-11	52	K	HAYIR	IIIA
6058-11	55	K	HAYIR	IIB
7638-11	62	E	50 yıl günde 2 pkt	IIIA
14464-11	42	E	30 yıl günde 1 pkt	IIA
10565	48	E	yılda 65 pkt	IIIA
2915-12	54	E	yılda 50 pkt	IIA
4933-12	61	E	HAYIR	IIB
10071-12	60	E	47 yıl günde 1pkt	IIIA
5667-12	52	E	HAYIR	IIIA
8705-12	58	E	yılda 40 pkt	IIIA
7643-13	68	E	yılda 45 pkt	IIB
5448-13	57	E	yılda 45 pkt	IIA
7370-13	56	K	yılda 30 pkt	IIIA
3831	63	E	yılda 30 pkt	IIIA
6851	48	E	yılda 20 pkt	IIIA

## 2.2.2. İmmunohistokimya Prosedürü

### I. Dokuların Deparafinizasyonu

- 1) Etüvde 70C’de 1 saat bekletildi.
- 2) Isınmış ksilolde yarım saat bekletildi.
- 3) Etüvden çıkarıldıktan sonra soğuma işlemi için oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi.
- 4) %90’lık alkolde 1dakika  
%70’lik alkolde 1dakika  
%50’lik alkolde 1dakika  
Distile suda 1-2 dakika bekletildi

### II. Basamak

- 1) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> blokajı ile endojen peroksidaz aktivasyonunun inhibisyonu için solusyonda 10dakika bekletildi.
- 2) Çeşme suyunda 5 dakika bekletildi.
- 3) Antijen Retrieval Solusyonu içinde düdüklü tencerede 3 dakika kaynatıldı.
- 4) Non spesifik boyanma inhibisyonu için “Protein Block Solution” 10 dakika uygulandı.
- 5) Primer antikor uygulandı (60 dakika)
- 6) PBS ile 3 defa yıkama yapıldı ve her yıkama 5 dakika bekletildi.
- 7) Sekonder antikor uygulandı (15 dakika)
- 8) PBS ile yıkandı (3x5 dakika)
- 9) Streptavidin-peroksidaz kompleksi uygulandı (20 dakika)
- 10) PBS ile yıkandı (3x5 dakika)
- 11) 10 dakika DAB uygulandı.
- 12) 1 dakika distile suda bekletildi.

### **III. Basamak: Hematoksilen Boyaması**

- 1) Hematoksilende 1 dakika
- 2) Distile suda 1 dakika
- 3) %50'lik alkolde 1 dakika
- 4) %70'lik alkolde 1 dakika
- 5) %90'lık alkolde 1 dakika
- 6) Absolü alkol-ksilolde 1 dakika
- 7) Ksilolde 10 dakika

Dokular öncelikle primer ve metastatik akciğer adenokarsinomlu dokular şeklinde gruplandırıldı. Poly-L-lysin kaplı lamlara alınan doku kesitleri deparafinizasyon işleminden sonra immunohistokimya (IHC) yöntemi ile CYP1A1 (1:250), CYP1B1 (1:250), CYP2E1 (1:50) antikorları bölüm 2.2.2'de ayrıntılı olarak açıklanan prosedüre göre boyandı. IHC uygulanan preparatlar ışık mikroskopunda boyanma şiddetine bakılarak patolojla birlikte değerlendirme yapıldı ve fotoğrafları çekildi. Değerlendirme boyanma şiddeti için; boyanma yok (-), hafif boyanma (+1), orta şiddette boyanma (+2), şiddetli boyanma (+3) olarak değerlendirme yapıldı.

### 3.ARAŞTIRMA BULGULARI

#### 3.1. CYP İzozimlerinin Primer ve Metastatik Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanser Dokularındaki Boyanma Şiddetleri ve Dağılımları

##### 3.1.1. CYP İzozimlerinin Primer Dokulardaki Dağılımları

CYP1A1, CYP1B1 ve CYP2E1 izozimlerinin küçük hücreli dışı akciğer kanserli dokulardaki dağılımları Çizelge 8.'de verilmiştir.

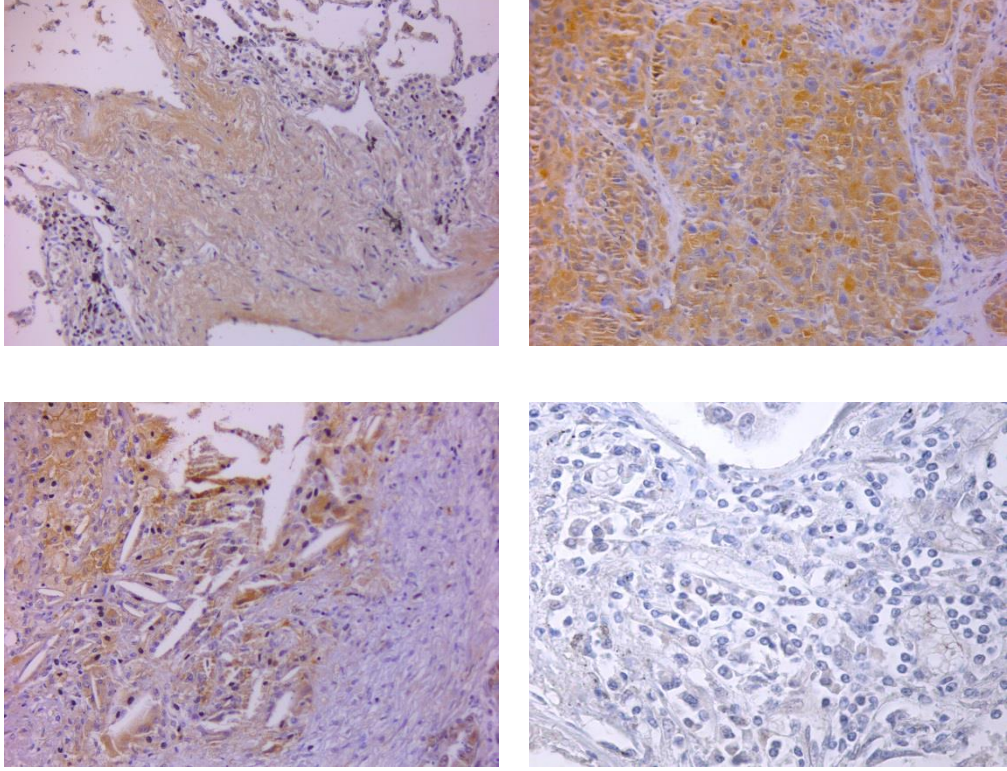
**Çizelge 8.**CYP izozimlerinin primer KHDAK dokularındaki dağılımı

Boyanma derecesi	CYP1A1		CYP1B1		CYP2E1	
	Örnek sayısı n	Yüzde %	Örnek sayısı n	Yüzde %	Örnek sayısı n	Yüzde %
<b>(-) Negatif</b>	4	13,3	12	40	5	16,6
<b>(+1)Hafif</b>	5	16,6	5	16,6	4	13,3
<b>(+2)Orta</b>	10	33,3	8	26,6	5	16,6
<b>(+3)Şiddetli</b>	11	36,6	5	16,6	16	53,3
	30	100	30	100	30	100

30 KHDAK 'li dokuda CYP1A1 izoziminin boyanma şiddetlerine bakıldığında 4 (%13,3) ünde negatif boyanma göstermiş, 5 (%16,6) inde hafif şiddette boyanma göstermiş, 10 (%33,3) unda orta şiddette boyanma göstermiş ve 11 (%36,6)inde şiddetli boyanma saptanmıştır.( Çizelge 8) (Şekil 2)

CYP1B1 izozimindeki boyanma şiddetleri 12 (%40,0) inde negatif boyanma, 5 (%16,6) inde hafif şiddette boyanma, 8 (%26,6) inde orta şiddette boyanma ve 5(%16,6) şiddetli boyanma saptanmıştır.( Çizelge 8) (Şekil 2)

CYP2E1 izozimindeki boyanma şiddetleri 5(%16,6) sında negatif boyanma, 4 (%13,3) ünde hafif şiddette boyanma, 5(%16,6) inde orta şiddetli boyanma,16 (%53,3) sında şiddetli boyanma saptanmıştır. (Çizelge 8) (Şekil 2)



**Şekil 2. CYP izozimlerinin primer KHDAC dokularında immünohistokimyasal boyanma görüntüleri** Üst Sol: CYP1A1 izoziminin immünohistokimyasal boyanması (x20) Üst Sağ: CYP1B1 izoziminin immünohistokimyasal boyanması (x20) Alt sol: CYP2E1 izoziminin immünohistokimyasal boyanması (x20) Alt Sağ: negatif boyanması (x20)

### 3.1.2. CYP İzozimlerinin Metastatik Dokulardaki Dağılımları

CYP1A1, CYP1B1 ve CYP2E1 izozimlerinin küçük hücreli dışı akciğer kanserli dokulardaki dağılımları Çizelge 9.'de verilmiştir.

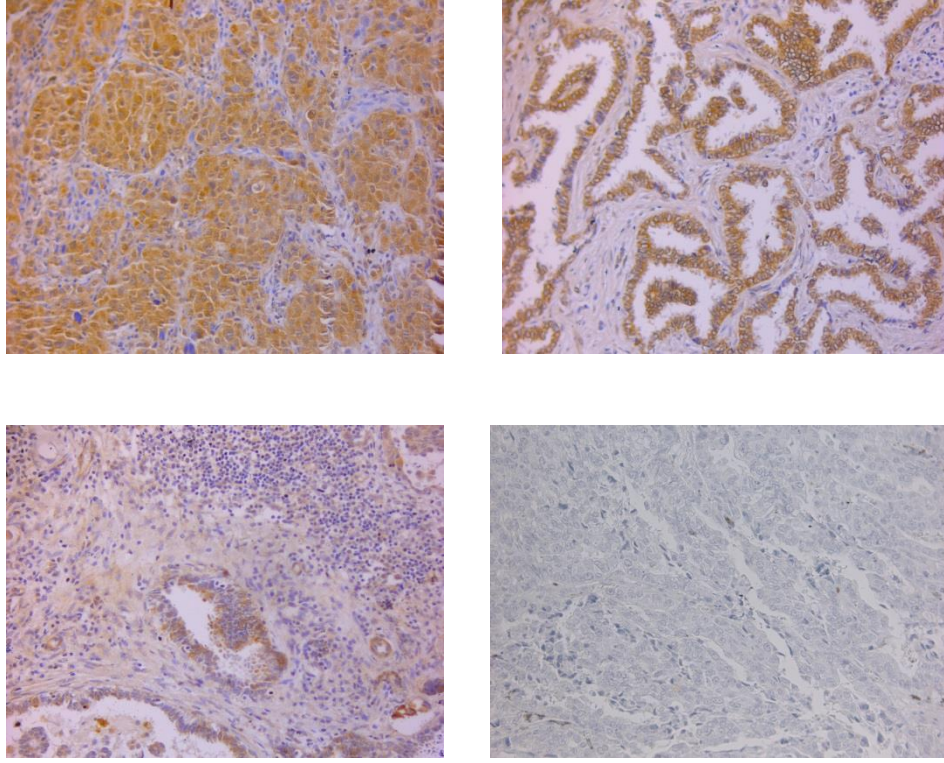
**Çizelge 9.** CYP izozimlerinin metastatik KHDAK dokularındaki dağılımı

Boyanma derecesi	CYP1A1		CYP1B1		CYP2E1	
	Örnek sayısı n	Yüzde %	Örnek sayısı n	Yüzde %	Örnek sayısı n	Yüzde %
<b>(-) Negatif</b>	6	20	14	46,6	2	6,6
<b>(+1) Hafif</b>	3	10	11	36,6	8	26,6
<b>(+2) Orta</b>	6	20	4	13,3	7	23,3
<b>(+3) Şiddetli</b>	15	50	1	3,3	13	43,3
	30	100	30	100	30	100

30 KHAK'li dokuda CYP1A1 izoziminin boyanma şiddetlerine bakıldığında 6 (%20) sında negatif boyanma göstermiş, 3 (%10) ünde hafif şiddette boyanma, 6(%20)sında orta şiddetli boyanma, 15(%50) şiddetli boyanma saptanmıştır (Çizelge 9) (Şekil 3).

CYP1B1 izozimindeki boyanma şiddetleri 14 (%46,6) inde negatif boyanma, 11 (%36,6) inde hafif şiddette boyanma, 4(%13,3)ünde orta şiddetli boyanma, 1(%3,3)inde şiddetli boyanma saptanmıştır ( Çizelge 9) (Şekil 3).

CYP2E1 izozimindeki boyanma şiddetleri 2 (%6,6) sında negatif boyanma, 8 (%26,6) ünde hafif şiddette boyanma, 7(%23,3)sinde orta şiddetli boyanma,13(%43,3)ünde şiddetli boyanma saptanmıştır (Çizelge 9) (Şekil 3).



**Şekil 3. CYP izozimlerinin metastatik KHDAC dokularında immünohistokimyasal boyanma görüntüleri** Üst Sol: CYP1A1 izoziminin immünohistokimyasal boyanması (x20) Üst Sağ: CYP1B1 izoziminin immünohistokimyasal boyanması (x20) Alt sol: CYP2E1 izoziminin immünohistokimyasal boyanması (x20) Alt Sağ: negatif boyanması (x20)

### 3.2 CYP İzozimlerinin Primer ve Metastatik Küçük Hücreli Dışı Akciğer Adenokarsinom dokularında karşılaştırılması

Metastatik ve Primer Küçük Hücreli Dışı Akciğer Adenokarsinomlarının immunohistokimya sonuçlarına baktığımızda CYP1A1 izoziminin 11 hastada (%36,6), CYP1B1 izoziminin 7 hastada (%23,3), CYP2E1 izoziminin ise 10 hastada (%33,3) protein ifadesinin metastatik dokularda primer dokulara oranla fazla olduğu görüldü (çizelge 10). Ayrıca CYP1A, CYP1B1 ve CYP2E1 izozimlerinin sırasıyla 12 hastada (%40,0), 14 hastada (%46,6) ve 7 hastada (%23,3) protein ifadesinin primer dokularda metastaza oranla daha fazla olduğu görüldü (Çizelge 11).

CYP1A1 izoziminin primer ve metastatik hastalardaki protein ekspresyonlarının dağılımı şekil 4 de gösterilmiştir. CYP1B1 izoziminin primer ve metastatik hastalardaki protein ekspresyonlarının dağılımı şekil 5 de gösterilmiştir. CYP2E1 izoziminin primer ve metastatik hastalardaki protein ekspresyonlarının dağılımı şekil 6 da gösterilmiştir.

**ÇİZELGE 10.** CYP izozimlerinin primer dokularda metastatik dokulara oranla daha fazla eksprese olmuş hasta sayısı

	CYP1A1			CYP1B1		CYP2E1	
	Total (n)	Primer (n)	%	Primer (n)	%	Primer (n)	%
<b>KHAK</b>	30	11	36,6	7	23,3	10	33,3

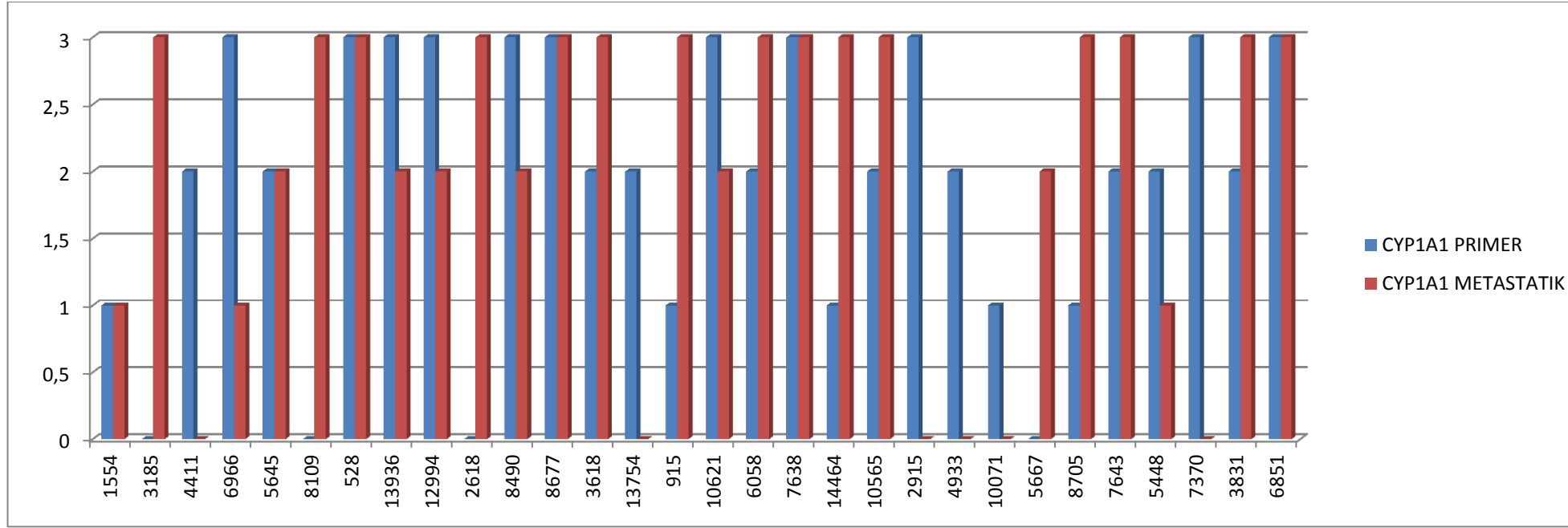
Boyama skorları, pozitif boyanmış primer ve metastatik akciğer kanser hücrelerin boyanma şiddetine göre hesaplanmıştır. Buna göre 0; protein ekspresyonu görülmeyen, 1; hafif şiddette protein ekspresyonu, 2; orta şiddette protein ekspresyonu ve 3; şiddetli protein ekspresyonu şeklinde derecelendirildi.



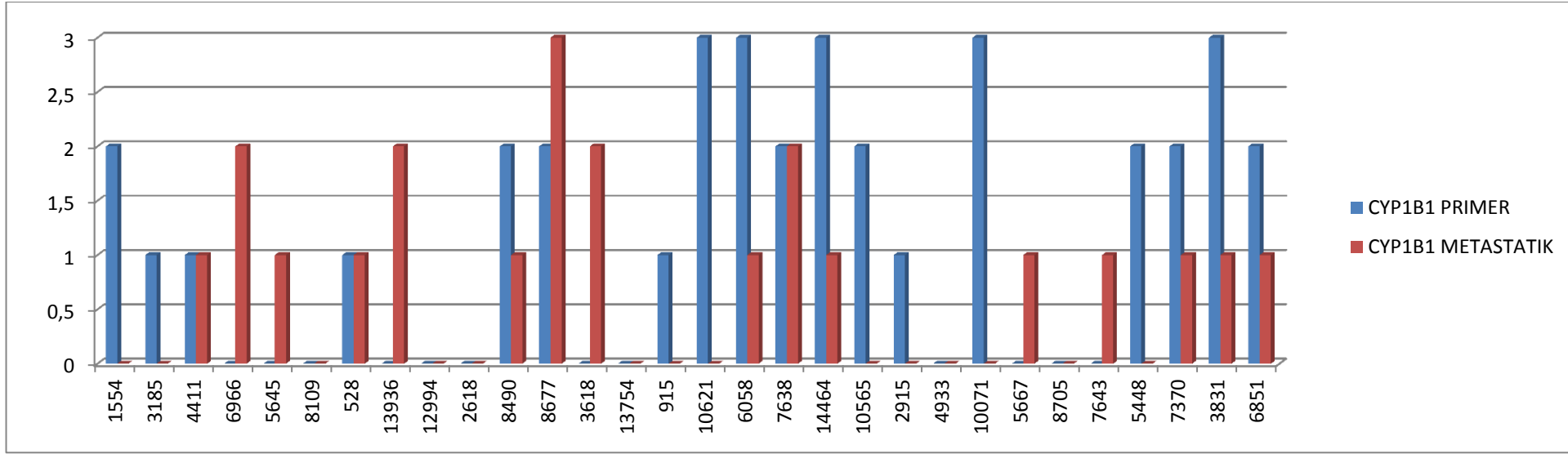
**ÇİZELGE 11.** CYP izozimlerinin metastatik dokularda primer dokulara oranla daha fazla eksprese olmuş hasta sayısı

	CYP1A1			CYP1B1		CYP2E1	
	Total (n)	Metastatik (n)	%	Metastatik (n)	%	Metastatik(n)	%
<b>KHAK</b>	30	12	40	14	46.6	7	23.3

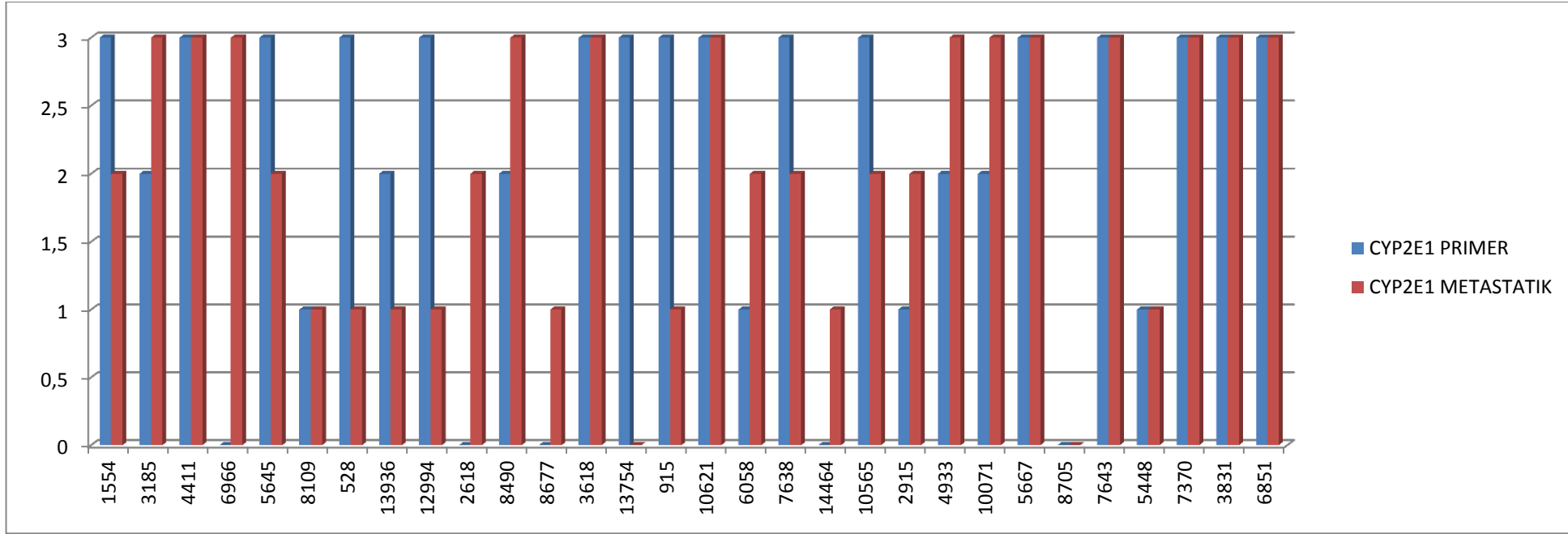
Yapılan istatistiksel analizde primer ve metastatik akciğer kanserli dokularda CYP1A1, CYP1B1 ve CYP2E1 izozimlerinin ekspresyon farklılıkları incelendiğinde istatistiksel olarak iki grup arasında bir fark görülmedi ( $p=0,6309$ ;  $0,1624$ ;  $0,7450$ ;  $>0,05$ )(Çizelge 12)



Şekil 4. KHDAK'lı hastaların Primer ve Metastatik dokularında CYP1A1 izoziminin protein ifadesi



Şekil 5. KHDAK'lı hastaların Primer ve Metastatik dokularında CYP1B1 izoziminin protein ifadesi



Şekil 6. KHDAK'lı hastaların Primer ve Metastatik dokularında CYP2E1 izoziminin protein ifadesi

**Çizelge 12.** KHDAK Hastaların Primer ve Metastatik dokularında CYP izozimlerinin protein ifadeleri

KHDAK	n Toplam	CYP1A1			CYP1B1			CYP2E1		
		Primer	Metastatik	P/M* P** değeri	Primer	Metastatik	P/M P değeri	Primer	Metastatik	P/M P değeri
	30	1.933±0.191 (0-3)	2,00±0,220 (0-3)	0,9665 <i>p=0,6309</i>	1,20±2,11 (0-3)	0,73±0,51 (0-3)	1,643 <i>p=0,162</i>	2,067±0,214 (0-3)	2,033±0,182 (0-3)	1,016 <i>p=0,745</i>

Boyanma skorları, aynı hastalara ait primer akciğer adenokarsinomlu ve metastatik akciğer adenokarsinomlu hücrelerin boyanma şiddetine göre hesaplanmıştır. Buna göre 0; protein ifadesi görülmeyen, 1; hafif şiddette protein ifadesi, 2; orta şiddette protein ifadesi ve 3; şiddetli protein ifadesi şeklinde derecelendirildi. Primer ve Metastatik dokular arasındaki protein ifadelerin farklılıkları Mann-Whitney U Test ile %95’lik güvenilirlik düzeyinde incelendi.

\*\* P değeri 0,05 den küçük olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

a: ortalama değer±standart hata

b: minimum ve maksimum boyama şiddeti

\*: Primer / Metastatik oranı

### 3.3. CYP İzozimlerinin Klinik Parametrelerle Karşılaştırılması

Çalışmadaki hastalara ait yaş, sigara kullanım durumu, tümör evre ile ilgili bilgiler çizelge 13, çizelge 14, çizelge 15’de verilmiştir. Bu veriler ile CYP izozimlerinin tümörlü dokulardaki ekspresyonları arasındaki ilişkiler araştırılmıştır.

Yapılan bu çalışmada yaş ile CYP1A1, CYP1B1 ile CYP2E1 izozimlerinin ekspresyon düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanamamıştır. ( $p>0,005$ ) (Çizelge 13)

**Çizelge 13.** CYP izozimlerinin yaş ile karşılaştırılması

		CYP1A1	CYP1B1	CYP2E1
YAS	Pearson Correlation	-0.124	-0.015	0.291
	Sig. (2-tailed)	0.512	0.938	0.119
	N	30	30	30

**Çizelge 14.** CYP izozimlerinin sigara içimi ile karşılaştırması

		CYP1A1	CYP1B1	CYP2E1
SIGARA	Pearson Correlation	-0.060	0.029	-0.336
	Sig. (2-tailed)	0.754	0.879	0.070
	N	30	30	30

**Çizelge 15.** CYP izozimlerinin tümör evresi ile karşılaştırması

		CYP1A1	CYP1B1	CYP2E1
TUMOR_EVRE	Pearson Correlation	0.184	0.232	0.318
	Sig. (2-tailed)	0.329	0.217	0.086
	N	30	30	30

Yapılan bu çalışmadaki 30 hastanın 10 tanesi hiç sigara kullanmamış(%34) ancak 20 hasta(%66) ise hastalığın teşhisi konuluncaya kadar sigara içmiştir. Sigara içen ve sigara içmeyen şeklinde ayırım yapılarak yapılan değerlendirme neticesinde sigara içimi ile izozimlerinin ekspresyon düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ( $p>0,005$ )(Çizelge14). CYP izozimlerinin ekspresyon düzeyleri tümör evre ile istatistiksel olarak ilişkilendirilememiştir ( $p>0,005$ )(Çizelge15).

#### 4.SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Kompleks bir sistem olan detoksifikasyon mekanizması ayrıntılı olarak incelendiğinde; toksik etkiden korunmanın, o maddenin aktif metaboliti ile detoksifikasyonu arasındaki dengeye bağlı olduğu anlaşılmıştır. Aktif metabolit oluşumu ile detoksifikasyonun hızları arasında denge mevcut olduğu sürece hücre hasarı görülmez. Bu dengenin bozulması halinde yani; aktif metabolit oluşumu artar ve/veya detoksifikasyon kapasitesi azalırse toksik etki görülür ve sonuçta da DNA ve doku hasarı, patolojik bir ölüm şekli olan nekroz, hücre yaşlanması, kanser gibi çeşitli hastalıklar oluşur.

Bu çevresel karsinojenler, endojen moleküller ve prokarsinojen moleküllerin vücutta oluşturduğu toksik etki ksenobiyotik mekanizmasında görevli enzimler aracılığıyla en aza indirgenmeye çalışılmaktadır. Akciğer kanseri oluşumundan sorumlu en büyük etiyolojik faktör olan sigara da bulunan PAH'lar ve nitrozamin türevleri akciğer kanserini, mortalitesi ve insidansı en yüksek kanser türü yapmıştır. Bu nedenledir ki, karsinojenlerin zararlı etkilerinden korunmada ve kanser oluşumunda ksenobiyotik mekanizmasının rollerinin ayrıntılı bir şekilde incelenmesi gerekir.

Bu amaçla yapılan tez çalışmasında KHDAK'lı 30 hastanın primer ve metastatik dokuları arasında CYP1A1, CYP1B1 ve CYP2E1 izozimlerinin protein ifadelerinin farklılıkları incelenmiş ve bu kanser oluşumunda ksenobiyotik ve ilaç metabolizmasında görev alan bu enzimlerin rolleri aydınlatılmaya çalışılmıştır.

Küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalarda, CYP1A1 izoziminin 11 hastada (%36,6), CYP1B1 izoziminin 7 hastada (%23,3) ve CYP2E1 izoziminin 10 hastada (33,3) protein ifadesinin primer dokularda metastatik dokulara oranla daha fazla eksprese olduğu görüldü. Çalışmada, CYP1A1 izoziminin 12 hastada ( %40) , CYP1B1 izoziminin 14 hastada (46,6) CYP2E1 izoziminin ise 7 hastada (% 23,3)



protein ifadesinin metastatik dokularda primer dokulara oranla daha fazla eksprese olduğu görüldü.

Bu amaçla yapılan tez çalışmasında birinde, Anttila ve ark. [32] yaptıkları çalışmada sigara içen 57 akciğer kanserli hastada immünohistokimya yöntemi ile CYP1A1 ve CYP1A2 izoenzimlerinin normal dokularda negatif boyanırken, kanserli dokularda pozitif boyandığını göstermişlerdir. Nitekim bizim çalışmamızda da 30 hastanın 26'sında CYP1A1 izoziminde pozitif boyanma gözlenmiştir.

Oyama ve ark [33] 78 küçük hücreli dışı akciğer kanserli (KHDAK ) hastalarda CYP1A1, CYP2A6, CYP2E1, CYP3A izoenzimlerinin ekspresyonlarını immünohistokimya, western blotlama ve Real-time PCR yöntemlerini kullanarak incelemişlerdir. Yaptıkları bu çalışmada dört CYP izoenziminin de ekspresyonunu özellikle erken evre adenokarsinomda daha yüksek olduğu fakat squamöz hücreli kanserde ise yüksek olmadığını belirtmişlerdir. İleri evredeki KHDAK hastalarında CYP izozimlerini eksprese eden hastaların sağ kalımının daha kısa olduğunu göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda da paralel olarak erken evre adenokarsinomda 30 hastada 26'sında CYP1A1 ve 25'inde CYP2E1 izozimlerinin yüksek olduğu gösterilmiştir.

Spivack ve ark. [34] CYP1B1 izoenzimi ile ilgili yaptıkları çalışmalarında Western Blotting ve (PCR) tekniklerini kullanmışlardır. On altı akciğer kanserli hastada CYP1B1 ekspresyonunun tümörlü dokuda normal akciğer dokusuna göre daha yüksek olduğunu göstermişlerdir. Yapmış olduğumuz bu çalışmada da 30 hastanın 18'inde CYP1B1 izoziminde pozitif boyanma gözlenmiştir.

CYP1A1 ve CYP1B1 izozimlerinin akciğer kanserindeki önemini gösteren çalışmalardan biri olan Anttila ve ark nın [32]yaptıkları çalışmada 57 akciğer kanserli hastada immunohistokimya yöntemi ile bu izozimlerin normal dokularda negatif boyanma gösterdiğini fakat kanserli dokularda pozitif boyanma gösterdiğini ve bunun da PAH metabolizması ile ilgili olduğunu açıklamışlardır.

Kılıç yaptığı doktora tezi çalışmasında 39 adet KHDAK'li hasta dokusu ve bunların normal periferik dokuları kullanarak yaptığı çalışmada immünohistokimya ve Real-time PCR yöntemlerini kullanmış ve sonuçta yaklaşık olarak KHDAK li hastaların tamamında normal ve tümörlü dokularında CYP1B1 ve GSTP1 izozimlerinin protein ifadelerinin aşırı yüksek olduğunu ve bu enzimlerin aşırı ifadelerin yanında CYP1A1, CYP2E1 ve GSTM1 izozimlerinin protein ifadelerinin tümörlü dokularda normal dokulara oranla daha yüksek olduğu istatistiksel olarak anlamlı bulunduğunu bildirmiştir [38]. Yapmış olduğumuz bu çalışmada da 30 hastanın 26'sında CYP1A1, 25'inde CYP2E1 izoziminde pozitif boyanma gözlenmiştir.

Sonuç olarak yapılan bu tez çalışmasında, bilindiği kadarıyla literatürde küçük hücreli dışı akciğer kanserinde primer ve metastatik dokularında, CYP1A1, CYP1B1, CYP2E1 izozimlerinin immunohistokimyasal ekspresyonları ilk kez bir arada çalışılarak karşılaştırılmalarda bulunulmuştur. Ayrıca klinik bilgiler ile çalışılan izozimlerin ilişkilendirilmeye çalışılması sonucu hastalık ile prognostik faktörler hakkında bir izlenim sahibi olmamıza katkıda bulunulmuştur.

## KAYNAKLAR

- [1] Türker, F.A., Kayaalp, S.O., “Kanser kemoterapisinin esasları ve antineoplastik ilaçlar”, 380-415 Kayaalp, S.O., (Eds), Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Ankara, Feryal Matbaacılık, 2002.
- [2] Farber E., Cellular biochemistry of the stepwise development of cancer with chemicals.G. H. A., Clowes memorial lecture. Cancer Res. 1984: 44: 5463-74
- [3] Chan.D.W.and Sell,S.(tumor markers.in.'tietz textbook of clinchemistry.thedition.ed:burtis c.a and ashwood, e.r p: 897-927 . W.B soundes company, philadelphia, 1994.
- [4] Parkin, D. Max, et al. "Global cancer statistics,." CA: a cancer journal for clinicians 55.2: 74-108.2005.
- [5] Kutluk, T., Kars, A.,Kanser konusunda genel bilgiler kanser araştırma ve savaş kurumu yayınları başbakanlık basım evi Ankara 1994
- [6] T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Kanser Daire Başkanlığı
- [7] Liska DJ. The detoxification enzyme systems. Altern Med Rev 1998; 3: 187-198.
- [8] <http://kanser.gov.tr/daire-faaliyetleri/kanser-istatistikleri.html> (Erişim tarihi:10.12.2014)
- [9] Spiro,SG., Porter, JC.Lung Cancer – Where are we today current advances in staging and nonsurgical treatment , Am J Respir Crit care Med .166 : 1166-96

- [10] International Agency for research (IARC) Monographs, Tobacco smoking, IARC Scientific Publication No: 38
- [11] Fidaner, C., Eser, Y., Parkin, M., Incidence in izmir ; First Results From İzmir cancer registry, Eur J Cancer, 37 (1): 83-92
- [12] Akay H, Plevra hastalıklarında VATS'ın kullanımı. Endoskopi Cerrahi Kursları II, 30-37; 17-19 Kasım 2000
- [13] Frank C. Detterbeck, Daniel J. Boffa, MD; Lynn T. Tanoue, The New Lung Cancer Staging System, CHEST, 136(1): 260-271) July 2009.
- [14] İtil O. Akciğer kanserlerinin epidemiyolojisi ve etiolojisi. In: Haydaroğlu A Akciğer kanserleri; tanı ve tedavi, 15-34. First edition. İzmir, Ege Üniversitesi Basımevi 2000
- [15] Ramo'N Rami – Porta, David Balli John Crowley, Dorothy J. Giroux, James Jett, William D. Travis, MD, Masahiro Tsuboi, MD, ESeventh) Edition Of the TNM Classification For Lung Cancer, Thorac Oncol, 2 : 593-602 2007.
- [16] Yurdakul A. S. The New Lung Cancer Staging System, *Tur Toraks Der*; 11: 173-80. 2010.
- [17] Principles & practice of lung cancer by harley I. Pass (Editor), David P. Carbon (Editor), David H. Johnson (Editor) Publisher : Lippincon Williams & Wilkins, Apr 2010

- [18] Vural N., Toksikoloji Ankara üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları No: 73, 2005.
- [19] Stephen, S., Kristin, E.,MHoffmann, D., Hoffman , L.,The changing cigarette, 1950-1995, J Toxicol environ health, 50: 307-364,1997.
- [20] Harder D.R., Campell W.B and Roman R.J : Role of cytochrome P450 enzymes and metabolites of arachidonic acid in the control of vascular tone. J.Vase Res. 32 : 79-82 , 1995,
- [21] Graham S E , Peterson J.A , How similar are P450s and what can their differences teach us? Arch. Biochem . Biophys . 369 : 24-29 , 1999.
- [22] Masson L.F., Sharp L., Cotton S.C., Little J.İ Cytochrome P-450 1A1 genepolymorphisms and risk of breats cancer. A Huge review . Am. J. Epidemiol.161:901-915, 2005.
- [23] McKay J.A , Melvin W.T., Ahsee A.K Ewen S.W.B., Greenlee W.F., Marcus C.B Burke M.D ., Murray G.L., Expression of cytochrome P450 CYP1B1 in breast cancer . FEBS Lett.374; 270-272, 1995.
- [24] Ingelman-Sundberg M., Johansson I., Yin H., Terelius Y., Eliasson E., Clot P.,Albano E., Ethanol – inducible cytochrome P4502E1 genetic polymorphism , regulation , and possible role ; the etiology of alcohol – induced liver liver disease . Alcohol 10; 447-452, 1993.

- [25] Farin F.M., Bigler L.G ., Oda D., Mcdougall J.K., Omiecinski C.J., Expression of cytochrome P450 and microsomal episode hydrolase in cervical and oral epithelial cells immortalized by human papillomavirus type 16 E6/E7 genes. *Carcinogenesis*. 16; 167-1995.
- [26] Therriault M. J., Proulx, L. I., Castonguay, A., Bissonnette E.Y Immunomodulatory effects of the tobacco-specific carcinogen, NNK.,on alveolar macrophages. *Clin. Exp. Immunol.*, 132: 232-238,2003.
- [27] Cytochrome P450 Drug Interaction Table , Indiana Univercity Department of Medicine , 2003.
- [28] Vineis S., The relationship between polymorphisms of xenobiotic metabolizing enzymes and susceptibility to cancer . *Toxicology*. 182; 457-462, 2002.
- [29] Nelson D.R., Cytochrome P450 and individuality of species. *Arch . Biochem. Biopshy*.369;1-10,1999.
- [30] Mollerup, S., Ryberg D., Hewer A., Phillips D. H., Haugen A., Sex differences Ìnlung CYP1A1 expression and DNA adduct levels among lung cancer patients. *Cancer Res* 59,3317-3320, 1999.
- [31] Senqing Chen, Kaixian Xue, Lin Xu, Guojian Ma, Jianzhong Wu Polymorphisms of the CYP1A1 and GSTM1 genes in relation to individual susceptibility to lung carcinoma in Chinese population. *Mutation Research Genomics* 458; 41-47, 2001.

- [32] Anttila S. Immunohistochemical Detection of Pulmonary Cytochrome P450A and Metabolic Activities Associated with P450A1 and P450A2 Isozymes in Lung Cancer Patients *Environmental Health Perspectives* Vol. 98, pp. 179-182, 1992
- [33] Oyama, T., Sugio K., Uramoto H., Kawamoto T., Kagawa N., Nadaf S., Carbone D., Yasumoto K., Cytochrome P450 expression (CYP) in non-small cell lung cancer. *Front Biosci*, 12, 2299-308, 2007
- [34] Spivack, S. D., Hurteau G. J., Reilly A. A., Aldous K. M., Ding X., Kaminsky L.S., CYP1B1 expression in human lung. *Drug Metab Dispos.* 29, 916-922, 2001.
- [35] Chang, J. T., Chang H., Chen P.H., Lin S.L., Lin P., Requirement of aryl hydrocarbon receptor overexpression for CYP1B1 up-regulation and cell growth in human lung adenocarcinomas. *Clin Cancer Res*, 13, 38-45, 2007
- [36] Lin, P., Chang H., Ho W. L., Wu M. H., Su J. M., Association of aryl Hydrocarbon receptor and cytochrome P450B1 expressions in human non-small cell lung cancers. *Lung Cancer*, 42, 255-61, 2003.
- [37] Kivisto, K. T., Griese E.U., Fritz P., Linder A., Hakkola J., Raunio H., Beaune P., Kroemer H.K., Expression of cytochrome P 450 3A enzymes in human lung: a combined RT-PCR and immunohistochemical analysis of normal tissue and lung tumours. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.*, 353, 207-212, 1996.

- [38] Murat Kılıç ; Küçük Hücreli Dışı Akciğer Karsinomunda Sitokrom P450 ve Glutasyon S Transferaz İzozimlerinin Gen ve Protein Ekspresyonlarının İncelenmesi.Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı , Doktora Tezi, Temmuz 2013.
- [39] AYZAZ,A. ; CYP ve GST ekspresyonlarının Küçük Hücreli Akciğer Kanseri Dokularında Araştırılması. Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı , Y.lisans Tezi, Şubat 2015
- [40] CYP and GST polymorphism and survival in advanced non\_small cell lung cancer patients Neoplasma 57,6,2010 Şubat 2010