

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**SİTOZOLİK GST OMEGA1 İLE MİTOKONDRIYAL GST KAPPA1'İN  
KOLON VE MİDE KANSERLERİNDEKİ PROTEİN  
EKSPRESYONLARININ İNCELENMESİ**

Büşra MORAN

Mayıs, 2014

**Biyoloji Anabilim Dalında** BúŖra MORAN tarafından hazırlanan SİTOZOLİK GST OMEGA1 İLE MİTOKONDRİYAL GST KAPPA1'İN KOLON VE MİDE KANSERLERİNDEKİ PROTEİN EKSPRESYONLARININ İNCELENMESİ adlı Yüksek Lisans Tezinin Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. İLHAMİ TÜZÜN  
Anabilim Dalı Başkanı

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

Doç. Dr. Serpil OĞUZZÜZÜN  
DanıŖman

Jüri Üyeleri

Başkan : Prof. Dr. Siyami KARAHAN \_\_\_\_\_  
Üye (DanıŖman) : Doç. Dr. Serpil OĞUZZÜZÜN \_\_\_\_\_  
Üye : Doç. Dr. Nazife YİĞİT KAYHAN \_\_\_\_\_

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

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

Doç. Dr. Erdem Kamil YILDIRIM  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## ÖZET

# SİTOZOLİK GST OMEGA1 İLE MİTOKONDRIYAL GST KAPPA1'İN KOLON VE MİDE KANSERLERİNDEKİ PROTEİN EKSPRESYONLARININ İNCELENMESİ

MORAN, Büşra

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN

Mayıs 2014, 61 sayfa

Kırkyedi Kolon Adenokarsinom ve kırk Mide Adenokarsinom vakasında, glutatyon-S-transferaz (GST) Omega (O1) ve GST Kappa (K1) izozimlerinin immünohistokimyasal bulguları değerlendirildi. Bu hastalara ait dokular boyanma şiddetine göre karşılaştırıldığında; Kolon Adenokarsinomada GSTO1 ve GSTK1 izozimlerinin protein ekspresyonlarının tümörlü dokularda normal dokulara oranla daha fazla olduğu bulunmuştur ( $p=0,0000$ ;  $0,000<0,05$ ). Mide Adenokarsinomda GSTO1 ve GSTK1 izozimlerinin protein ekspresyonlarının tümörlü dokularda normal dokulara oranla daha fazla olduğu bulunmuştur( $p=0,0008$ ;  $0,000<0,05$ ). Bu bulgulara göre GSTO1 ve GSTK1 izozimleri kolon ve mide kanserlerinde diagnostik açıdan önemlidir. GSTO1 ve GSTK1 izozimlerinin immünohistokimya boyama sonuçları, klinik parametrelerle karşılaştırıldığında; bu izozimlerin ekspresyonları hastalık durumlarında yaşa, cinsiyete, tümör evre, sigara içiminde farklılık göstermedi ( $p>0,05$ ).

**Anahtar kelimeler:** Kolon Adenokarsinom, Mide Adenokarsinom, GSTO1,GSTK1, immünohistokimya

## ABSTRACT

### INVESTIGATION OF CYTOSOLIC GST OMEGA1 AND MITOCHONDRIAL GST KAPPA1 ISOENZYMES PROTEIN EXPRESSIONS IN COLON AND STOMACH CARCINOMAS

MORAN, Büşra

Kırıkkale University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology, M.Sc. Thesis

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN

May 2014, 61 pages

Glutathione-S-transferase (GST) Omega and GST Kappa immunohistochemical staining results were evaluated in 47 cases of colon adenocarcinoma and 40 cases of stomach adenocarcinoma. When the tissues of these cases were compared according to their staining intensity, GSTO1 and GSTK1 expressions in colon adenocarcinoma were found significantly higher than those in normal colon tissues ( $p=0,0000$ ;  $0,000<0,05$ ). GSTO1 and GSTK1 expressions were significantly higher in stomach adenocarcinoma than those in normal stomach tissues ( $p=0,0008$ ;  $0,000<0,05$ ). These results suggest that GSTO1 and GSTK1 can be important in the diagnosis of colon and stomach adenocarcinoma. Correlation of the immunohistochemical results of GSTO1 and GSTK1 isoenzymes with the clinical parameters was investigated, and they were found not correlated with age, sex, smoking status ( $p<0,05$ ).

**Keywords:** Colon Adenocarcinoma, stomach adenocarcinoma, GSTK1, GSTK1, immunohistochemistry

## TEŞEKKÜR

Bu tezin hazırlanmasında, ortaya çıkmasında ve yüksek lisans öğrenimim boyunca bilgi ve birikiminin yanı sıra maddi ve manevi desteğini benden esirgemeyen değerli hocam Sayın Doç. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN'e teőekkürü bir borç bilirim.

Çalıőmamın deneysel kısmında doku kazanımı ve immünohistokimyasal boyama sonuçlarının değerlendirilmesinde bana yardımcı olan Keçiören Eğitim Araştırma Hastanesi Patoloji Uzmanı Sayın Doç. Dr. Gülçin GÜLER ŞİMŞEK' e ayrıca Patoloji Laboratuvarı teknisyenlerine teőekkürlerimi sunarım. Tez çalıőmam boyunca sağladıkları imkanlardan dolayı Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Laboratuvarları Müdürlüğü'ne teőekkürlerimi sunarım.

Çalıőma arkadaşım Arzu KAYA KODOĞAN'a maddi ve manevi desteğinden, yüksek lisans öğrenimim süresince manevi desteğini benden esirgemeyen sevgili arkadaşım Selay YEBREM'e ve yüksek lisans öğrenimim boyunca bana her zaman yanımda ve destek olan, yardımlarını benden esirgemeyen niőanlım Alim BOZER'e teőekkürü borç bilirim.

Tüm hayatım boyunca olduğu gibi yüksek lisans öğrenimim süresince de hiçbir zaman desteğini benden esirgemeyen sevgili halam Nejla MORAN, annem Canan MORAN, babam Selim MORAN ve kardeőlerime sonsuz teőekkürü bir borç bilirim.

# İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
<b>ÖZET</b> .....	<b>ii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>iii</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>iv</b>
<b>İÇİNDEKİLER DİZİNİ</b> .....	<b>v</b>
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	<b>vii</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>ix</b>
<b>KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	<b>x</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.2 Kolon Kanseri TNM Evrelemesi .....	6
1.3 Kolon Kanseri Histopatolojisi .....	7
1.4 Mide Kanseri Epidemiyolojisi ve Etyolojisi.....	9
1.5 Mide Kanseri TNM Evrelemesi .....	10
1.6 Mide Kanseri Histopatolojisi .....	11
1.7 Ksenobiyotiklerin Mekanizması .....	12
1.8 Glutatyon .....	15
1.9 Glutatyon S-Transferaz (GST).....	16
1.9.1. GST' lerin Detoksifikasyondaki Rolü.....	17
1.9.2. GST' lerin Substratları .....	18
1.9.3. GST' lerin Sınıflandırılması.....	19

1.10 Glutasyon S-Transferaz Ailesi.....	22
1.10.1 GST Alfa Sınıfı (GSTA).....	22
1.10.2 GST Mü Sınıfı (GSTM).....	22
1.10.3 GST Pi Sınıfı (GSTP).....	22
1.10.4 GST Teta Sınıfı (GSTT).....	23
1.10.5 GST Omega Sınıfı (GSTO).....	23
1.10.6 GST Kappa (GSTK).....	24
1.11 Glutasyon S-Transferazlar ve Mide ve Kolon Kanseri .....	25
<b>2. MATERYAL VE YÖNTEM.....</b>	<b>29</b>
2.1 Materyal .....	29
2.1.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler .....	29
2.1.1.1 Solusyonların Hazırlanışı .....	29
2.1.2 Kullanılan Cihazlar .....	30
2.2 Kullanılan Yöntem.....	30
2.2.1 Hasta Dokularının Toplanması ve Klinik Bilgiler .....	30
2.2.1 İmmünohistokimya Prosedürü.....	32
2.3 İstatiksel Analiz.....	33
<b>3. BULGULAR.....</b>	<b>34</b>
<b>4. TARTIŞMA ve SONUÇ.....</b>	<b>43</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>47</b>

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
1.1 Karsinojen maddelerin Sınıflandırması .....	2
1.2 Yıllara Göre Kadınlarda En Sık Görülen 10 Kanser Türünün İnsidansı, (100.000'de, Dünya Standart Nüfusu), Türkiye.....	3
1.3 Yıllara Göre Erkeklerde En Sık Görülen 10 Kanser Türünün İnsidansı, (100.000'de, Dünya Standart Nüfusu), Türkiye .....	4
1.4 Kolon Kanseri TNM Sınıflandırması .....	7
1.5 Mide kanserinde TNM Sınıflandırması .....	11
1.6 Faz I Reaksiyonları ve Rol Oynayan Enzimler .....	15
1.7 Faz II Reaksiyonları ve Rol Oynayan Enzimler .....	15
1.8 GST'lerin Substratları .....	20
1.9 GST Ailesinin İzozimleri Ve Bululdukları Organlar .....	22
1.10 GSTO1' in Substratları.....	25
2.1 Tez Çalışmasına Konu Olan Kolon Kanserli Hastaların Klinik Bilgileri .....	32
2.2 Tez Çalışmasına Konu Olan Mide Kanserli Hastaların Klinik Bilgileri.....	32
3.1 Kolon Adenokanser' li Hastaların Tümörlü Ve Normal Dokularında GSTO1 ve GSTK1 Ekspresyonları.....	35
3.2 GSTO1 ve GSTK1'in Tümörlü Dokularda Normale Oranla Daha Fazla Eksprese Olmuş Hasta Sayısı .....	35



3.3 Kolon Adenokarsinomun Alt Tiplerinde Tümörlü ve Normal Dokular	
Eşleştirildiğinde GSTO1 ve GSTK1 İzozimlerinin Protein Ekspresyonlarının	
Yüksek Olduğu Tümörlü Dokuların Sayıları Ve Yüzde Oranları .....	36
3.4 Kolon Adenokarsinomlu Hastaların Tümörlü Ve Normal Dokularında GSTO1	
ve GSTK1 İzozimlerinin Protein Ekspresyonları.....	38
3.5 Mide Kanseri'li Hastaların Tümörlü Ve Normal Dokularında GSTO1 ve	
GSTK1 Ekspresyonları .....	41
3.6 GSTO1 ve GSTK1'in Tümörlü Dokularda Normale Oranla Daha Fazla	
Eksprese Olmuş Hasta Sayısı .....	41
3.7 Mide Kanseri'li Hastaların Tümörlü Ve Normal Dokularında GSTO1 ve	
GSTK1 İzozimlerinin Protein Ekspresyonları .....	42

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
1.1 Glutatyonun Sentezi .....	17
3.1 Kolon Kanserli Hastalarda GSTO1 boyamaları .....	39
3.2 Kolon Kanserli Hastalarda GSTK1 boyamaları .....	40
3.3 Mide Kanserli Hastalarda GSTO1 boyamaları .....	43
3.4 Mide Kanserli Hastalarda GSTK1 boyamaları .....	44

## KISALTMALAR DİZİNİ

CYP	Sitokrom P450
DDT	Dikloro Difonil Trikloethan
FTA	Foliküler Tiroid Adenomu
FTK	Foliküler Tiroid Karsinomu
GSH	Glutasyon
GST	Glutasyon S-Transferaz
NH	Nodüler Hiperplazi
PTK	Papiller Tiroid Karsinomu
PAH	Polisiklik Aromatik Hidrokarbon
UICC	Uluslararası Kanser Birliği
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

## 1.GİRİŞ

Hücreler, belli bir kontrol altında, bir taraftan programlı ölüm (apoptoz) denilen olay ile yok olurken diğer taraftan da ihtiyaca göre büyüme faktörlerinin etkisi ile çoğalırlar. Büyüme faktörleri DNA'daki çeşitli genlerin etkisiyle oluşan proteinlerdir. Bu genler mutasyona uğrayarak hücrelerin aşırı büyümesine neden olurlarsa, o zaman kanser oluşur. Neoplazmalar, benign ve malign olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar. Türkiye Kanserle Savaş Vakfı'nın verdiği tanıma göre kanser; vücudun bir organ veya dokusunda beliren bazı anormal hücrelerin kontrolsüz ve düzensiz bir şekilde çoğalması sonucu ortaya çıkan kötü tabiatlı bir hastalıktır. Bu tanım genişletilmek istendiğinde kanser; genetik ve epigenetik değişiklikler sonucu normal hücreleri apoptozdan kaçarak kontrolsüz hücre bölünmesine sürükleyen, tümör baskılayıcı genleri inaktif ve onkogenleri aktif hale getiren, uzun bir zaman süreci içinde genetik mutasyonların da etkisi ile hasara uğraması sonucu kontrolsüz bölünmeleriyle oluşan benignya da malign tümörlerdir anlamına gelir. Dünyada her yıl 6 milyon kişi kanserden ölmektedir. Ülkemiz' de ise bu sayının 50.000 civarında olduğu tahmin edilmektedir [1-6].

Kanser oluşumuna sebep veren birçok etmen vardır. Bunları kimyasal, fiziksel, biyolojik ve genetik karsinojenler olarak dört sınıf altında toplamak mümkündür. Bu maddelere maruziyet sonucu hücre DNA'sında meydana gelen değişiklikler hücre içi tamir mekanizmaları yardımı ile düzeltilebilir. Fakat kimyasallara maruziyetin sürekli olması ve tamir mekanizmalarının yetersiz kalması sonucu hücrede oluşan değişiklikler düzeltilemez ve böylece kanser olayı başlamış olur. Bu karsinojenlere çeşitli yollarla maruz kalınabilir. Örneğin inorganik kimyasallardan arsenik havadan soluma yoluyla vücuda girebileceği gibi içme sularına karışarak da insan vücuduna girebilir. Çizelge 1.1 de karsinojenler sınıflandırılmıştır [7].

**Çizelge 1.1** Karsinojen maddelerin Sınıflandırması [7]

-Kimyasal karsinojenler	Organik Kimyasallar	Polisiklik Aromatikidrokarbonlar (PAH) Dialkinitrozaminler Nitrit
	İnorganik kimyasallar	Arsenik Kadmium Nikel Kurşun Berilyum
	Diğer	Alkol Sigara Eksoz Diyet
Fiziksel Karsinojenler	Güneş ışınları Ultraviyole ışınlar	
Biyolojik Karsinojenler	Virüsler (Retrovirüs, Hepadna virüs, Papilloma virüs ve Herpes virüs), Hormonlar	
Genetik Karsinojenler	DNA dizi polimorfizmi Onkogenler	

Kanser sıklığı, bir toplumda bir yılda ortaya çıkan yeni kanser vakaları sayısının yüz bin nüfusa oranı şeklinde ifade edilir. Kanser görülüş sıklığı, yas, cinsiyet, kanserin türü ve çeşitli ülkelere göre büyük farklılıklar gösterir. Geçmiş yıllarda; Parkin tahmini olarak verdiği rakamlarda 2000 yılı için 10 milyon yeni kanser vakası, 6 milyon kanserden ölüm ve 22 milyon kanserli hasta hesaplamıştır, bu veriler Türkiye de teşhi edilen kanser vakalarıyla[8].

Sağlık Bakanlığı'nın 2012 yılında yayımladığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumundan aldığı veriler doğrultusunda Türkiye de en sık görülen kanser türleri kadın ve erkek hastalara göre tablolaştırılmıştır. Kolorektal kanser insidansı (100.000'de, Dünya Standart Nüfusu) 2004 yılı verilerine göre kadınlarda %11,3 iken 2008 yılında %13,9' a yükselmiştir, aynı şekilde mide kanseri insidansı 2004 yılında kadınlarda %6,4 iken 2008 yılında %7,7' ye yükselmiştir. Kolorektal ve mide kanserlerinin erkek hastalardaki insidanslarına (100.000'de, Dünya Standart Nüfusu) bakıldığında;

kolorektal kanser insidansı 2004 yılında %16,5 iken 2008 yılında %20,8' e yükselmişken mide kanseri insidansı 2004 yılında %14,1 iken 2008 yılında %18' e yükselmiştir. (Çizelge 1.2 ve çizelge 1.3) [9].

**Çizelge 1.2.** Yıllara Göre Kadınlarda En Sık Görülen 10 Kansere Türünün İnsidansı, (100.000'de, Dünya Standart Nüfusu), Türkiye [9]

	2004	2005	2006	2007	2008	2009*	2010*	2011*
Meme	34,7	35	37,6	35,9	40,7	42,1	43,6	45,1
Tiroid	7,3	9,6	10,8	14,4	16,2	19,7	24	29,8
<b>Kolorektal</b>	<b>11,3</b>	<b>11,1</b>	<b>12,5</b>	<b>12,3</b>	<b>13,2</b>	<b>13,9</b>	<b>14,6</b>	<b>15,3</b>
Uterus korpusu	7,6	7,1	8,4	8,7	8,6	9,5	10,4	11,4
Trakea, Akciğer ve bronş	7,4	7,4	7,7	7,8	8,2	8,7	9,3	9,9
Non-Hodgkin Lenfoma	4,4	4	4,9	5,2	5	6	7,2	8,6
<b>Mide</b>	<b>6,4</b>	<b>6,9</b>	<b>7,6</b>	<b>8,4</b>	<b>7,7</b>	<b>8</b>	<b>8,3</b>	<b>8,6</b>
Over	5,8	5,6	5,9	6,5	6,9	7,1	7,3	7,5
Uterus Serviksi	4,5	4,4	4,8	4,3	4,1	4,9	5,9	7,1
Beyin, diğer sinir sistemi	3,6	4	4,6	4,6	4,4	4,5	4,6	4,7

\*2009, 2010 ve 2011 yıllarına ait İnsidans değerleri tahmini değerlerdir

**Çizelge 1.3.** Yıllara Göre Erkeklerde En Sık Görülen 10 Kanser Türünün İnsidansı, (100.000’de, Dünya Standart Nüfusu), Türkiye [9]

	2004	2005	2006	2007	2008	2009*	2010*	2011*
Trakea, Akciğer ve Bronş	65,1	65,9	68,9	73	69,2	74,1	79,3	84,9
Prostat	24,9	28,6	28,9	32,3	37,6	44	51,4	60
Mesane	19,3	20,6	21	22,5	21,7	23,4	25,3	27,3
<b>Kolorektal</b>	<b>16,5</b>	<b>16,2</b>	<b>18,2</b>	<b>19,1</b>	<b>20,8</b>	<b>22,5</b>	<b>24,3</b>	<b>26,3</b>
<b>Mide</b>	<b>14,1</b>	<b>14,9</b>	<b>14,8</b>	<b>17,3</b>	<b>18</b>	<b>19,1</b>	<b>20,3</b>	<b>21,6</b>
Non-Hodgkin Lenfoma	6,3	5,9	6,9	7,6	6,9	8,5	10,4	12,7
Larinks	10	8,9	9,7	9,3	9,1	9,5	9,9	10,3
Pankreas	4	4,4	5,2	6,3	6,1	6,7	7,3	8
Böbrek	4,1	4,1	5,5	5,2	5,8	6,3	6,9	7,5
Beyin, diğer sinir sistemi	4,7	5,7	5,4	5,8	6,1	6,2	6,3	6

\*2009, 2010 ve 2011 yıllarına ait İnsidans değerleri tahmini değerlerdir

Kansere sebebiyet veren etmenlerden kimyasal karsinojenler artan kentleşme ve sanayileşmeye bağlı olarak; endüstriyel atıklar, arabalardan çıkan egzozlar, fabrika bacalarından çıkan dumanlar, fabrikaların kimyasal atıkları ayrıca tütünün en sık kullanım biçimi olan sigara ve sigara dumanı, pestisitler, herbisitler ile gün geçtikçe etkisini arttırmıştır. Bilinen diğer risk faktörlerine daha detaylı bakıldığında; asbestos, haloeter, PAH, radon, arsenik, nikel, ağır metal tozları, vinil klorür, krom, gibi kimyasal maddeler ve kimyasal maddelere iş yerlerinde maruz kalma arttıkça meydana gelen mesleki hastalıklarda kanser oluşumu ve gelişiminde önemli bir yer tutar [10,11]. Bu etmenleri ortadan kaldırmak mümkün olmadığından tam etkisini saptamak, vücuttan elemine edilmesini sağlamak veya elimine edilmesine bağlı sonuçlar çıkarmak önem kazanmıştır. Bu maddelerin vücuttan eliminasyonlarında detoksifikasyon mekanizmaları görev alır.

Detoksifikasyon (biyotransformasyon); toksik maddeler, metabolitler, epoksidler gibi ksenobiyotiklerin zararlı etkilerinin çeşitli enzim ya da moleküller yardımı ile

zararsız hale getirilerek vücuttan dışarı atılımını sağlama mekanizmaları olarak açıklanabilir Faz I ve Faz II reaksiyonları olmak üzere başlıca iki ana grupta toplanan detoksifikasyon metabolizmasında; karsinojenler, sırasıyla Faz I reaksiyonları ile ya reaktif olmayan ürünlere yıkılarak vücuttan doğrudan atılırlar ya da reaktif metabolitlere transforme olurlar. Vücutta birikmesi ve atılmamasıyla DNA hasarı, doku hasarı, mutasyon, hücre yaşlanması, kanser gibi metabolik ve kalıtsal rahatsızlıklara yol açan bu reaktif metaboliteler, Faz II reaksiyonları ile konjugasyon reaksiyonlarına uğratarak idrar, safra, ter yoluyla vücuttan dışarı atılırlar [12-14].

Bu tez çalışmasında kanser oluşum ve gelişimine büyük ölçüde sebep olduğu bilinen kimyasalların vücuttan elimine edilmesinde büyük ölçüde rolü olan detoksifikasyon mekanizmasının Faz II Reaksiyonlarından Glutatyon S-Transferaz enziminin sitozolik GSTO1 ve mitokondriyal izoenzimi olan GSTK1'in immunohistokimyasal yöntemle mide kanseri ve kolon kanserinde ki protein ifadesi görülüp görülmediğine bakılmış ve elde edilen sonuçların yaş, cinsiyet, sigara kullanımı arasındaki istatistiksel ilişkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

### **1.1. Kolon Kanseri Epidemiyolojisi ve Etyolojisi**

Kolon kanserine yakalanma sıklığı gelişmekte olan ülkelerde olduğu gibi gelişmiş ülkelerde de her yıl hızlı bir artış göstermekte olduğu bilinmektedir. Gelişmiş ülkelerde üçüncü sıklıkta görülen kanser tipi olmakla birlikte bütün kanserlerin yaklaşık %9'unu oluşturur, Türkiye'de ki kolon kanserli hastaların sayısına bakıldığında kadınların erkeklerden daha fazla yakalandığı görülmekteyken [15-17], sindirim sistemi kanserlerine yakalanma sayısına bakıldığında kolon kanserlerinin mide kanserlerinden sonra en sık rastlanan sindirim sistemi kanseri olduğu ve ikinci sırayı aldığı görülmektedir. Kadınlarda meme ve tiroid kanserlerinden, erkeklerde ise akciğer, prostat ve mesane kanserinden sonra en sık görülen kanser türü olduğu bildirilmiştir [9,18].

Kolon kanserinin tanı yaşı ortalama 62 olarak bildirilmektedir fakat kolon kanserine yakalanan bireylerin yaşlarına bakıldığında kolon kanseri için risk 50-75 yaş



arasında değiştiği gözlenmektedir. Hücre hasarlarının artması ve sağ kalımın azalmasına da bağlı olarak yaş ilerledikçe risk oranı yükselir [19].

Hastalığa sebebiyet veren etmenlere birçok faktör sayılabilir. Bu faktörler; hastaların çok az bir kısmında kalıtsal geçiş, diyet, bakteriler, safra tuzlarının etkileri, kolesistektomi, peptik ulser, iltihaplı barsak hastalığı, pelvik radyoterapi, apendektomi (apandisin ameliyatla alınması), yaş, diyabet ve alkol kolon kanserine sebebiyet açısından önemlidir [20]. Tütün kullanımı kolonda benign ve malign tümör görülme sıklığını önemli ölçüde arttırmaktadır, ilk kullanım yaşının erken olması ve günlük içilen adet sayısı ve yıllık paket sayısı kanser riskini artırır [16].

Tarımsal sağlık çalışmasındaki bir rapora göre böcek ilacı(insektisit) uygulayanlarda bu kanserin gelişim riski yüksek olarak görülmüştür, bu da göstermiştir ki kimyasala direk maruz kalınmasada hava ya da temas yoluyla maruz kalmak da kanser riskini arttırmaktadır [21].

Ayrıca insanların günlük hayatlarında rahatlıkla maruz kalabileceği ve maruziyetin gelişen teknolojik donanımlar sayesinde azaltılamadığı iyonize radyasyonun da kolon kanseri riskini arttırdığı bildirilmiştir [22]. Genel olarak küçük ve tübüler (salęı bezi) yapıdaki poliplerin kolon kanseri riskini arttırmadığı kabul edilmekle birlikte, kolonoskopi sırasında saptanan tüm poliplerin çıkartılması kolon kanser insidansını %76-90 oranında azaltmaktadır [23].

Çevresel faktörlere maruz kalmayla birlikte tümör derecesine de bağlı olarak kolon kanserine kalıtsal duyarlılık ileri sürülmüştür, birey hem kalıtsal olarak kolon kanserli gen içeriyor hem de tümöre sebep veren maddelere maruz kalıyorsa tümörün ortaya çıkma oranında artış beklenmektedir [24,25]. Bununla beraber bir takım polimorfizmlerin de bu kanserin gelişiminde rolü olduğu düşünölmektedir. Örneğin; Glutathion S-transferaz da bulunan genetik polimorfizmlerin kolon kanseri için önemi olabileceğine dair görüşler mevcuttur [26].

## 1.2. Kolon Kanseri TNM Evrelemesi

Uluslararası Kanser Birliği (UICC)'nin tümör, lenf düğümü ve metastaz komponentlerini gruplandırmasıyla ortaya koyduğu TNM (T: primer tümör; N: bölgesel lenf bezleri; M: uzak metastaz) sınıflaması, daha ayrıntılı bir sınıflama olup kolaylıkla diğer sınıflama sistemlerine çevrilebilir. Günümüzde halen bu sınıflamaya göre tanı ve tedavi kararı verilmektedir [27].

**Çizelge 1.4.** Kolon Kanseri TNM Evrelemesi [27]

<b>Evre 0</b>	<b>Tis</b>	<b>N0</b>	<b>M0</b>
<b>Evre I</b>	T1 T2	N0	M0
<b>Evre II</b>	T3 T4	N0	M0
<b>Evre III</b>	Herhangi bir T	N1 N2 N3	M0
<b>Evre IV</b>	Herhangi bir T	Herhangi bir N	M1

### **Primer Tümör (T)**

**Tx:** Primer tümörü bilinmeyen

**T0:** Primer tümör yok

**Tis:** Karsinoma insitu

**T1:** Tümör submukozaya invaze

**T2:** Tümör muskularis propriaya invaze

**T3:** Tümör subseroza veya nonperitonealize perikolik dokuya invaze

**T4:** Tümör visseral peritona perfore olmuş veya diğer organ ve dokulara direkt invazyon göstermiş

### **Bölgesel Lenf Nodülleri (N)**

**Nx:** Bölgesel lenf nodları değerlendirilememekte

- N0:** Bölgesel lenf nodu metastazı yok  
**N1:** Perikolik 1-3 lenf nodunda metastaz  
**N2:** Perikolik 4'ten fazla lenf nodunda metastaz  
**N3:** Ana arter kökünde lenf nodu pozitifliği

**Uzak Metastaz (M)**

- Mx:** Uzak metastaz varlığı değerlendirilememekte  
**M0:** Uzak metastaz yok  
**M1:** Uzak metastaz mevcut

**1.3. Kolon Kanseri Histopatolojisi**

Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'ne göre; Adenokarsinom, Müsinöz adenokarsionm Taşlı-yüzük hücreli karsinom, Yassı hücreli karsinom, Adenoskuamoz karsinom, Medüller karsinom, Diferansiye olmayan karsinom olarak sınıflandırılmıştır [28].

Kolon kanserlerinin büyük çoğunluğu (%95) adenokarsinomdur. Ayrıca skuamöz hücreli karsinom, karsinoid tümörler, adenoskuamöz ve indiferansiye karsinomun yanı sıra nadiren sarkom ve lenfomalar gibi nonepitelyal tümörler de görülmektedir [29,30].

**Adenokarsinom:** Bu kanser tipinin tanımlayıcı özelliği; kas mukozayı aşarak submukozaya (sindirim kanalının duvarında mukoza tabakasının dışında kan damarları bulunduran yapı) girmesidir. Değişik miktarlarda müsin sekrete eden bir tümördür ve müsin sekresyonu tiplerinin belirlenmesinde etkili bir faktördür. Tümör; seyrek endokrin hücreler, goblet hücreleri, silindirik hücreler ve çok nadir olarak Paneth hücrelerinin (genel olarak ince bağırsakların kript epitellerinin alt kısmında bulunan piramit biçimli, iri granüllü asidik ortamda yaşayan hücreler) bir arada bulunmasıyla oluşmaktadır. Salgı bezlerinin arasındaki boşluklar sıklıkla hücre kalıntıları içerir. Az diferansiye adenokarsinom, orta diferansiye adenokarsinom ve iyi diferansiye adenokarsinom olmak üzere üç alt tipi bulunur. Az diferansiye adenokarsinomdan iyi diferansiye adenokarsinoma gidildikçe tümörün tanısı

zorlaşmakta çünkü tümör gelişimi azalmaktadır, bu tiplerin ayrımı için hastahanelerde immunohistokimyasal boyamalar kullanılmaktadır.

**Müsinöz adenokarsinom:** Bu tip tümörlerde, tümör dokusunun %50'sinden daha fazla oranda hücrelerin yapısında ve hücre dışına atılan müsin izlenmektedir.

**Taşlı yüzük hücreli karsinomlar:** Bu tip tümörlerde ise müsinöz karsinomdan farklı olarak tümör hücrelerinin sitoplazmasında artmış müsin yapımı bulunur. Bu tip karsinomalarda, hücrelerin %50 den çoğu intrasellüler müsin birikiminin nükleus ve sitoplazmayı hücrenin dış yüzeyine doğru yerdeğiştirdiği taşlı yüzük morfolojisi gösterirler. Bu tümörlere kolon karsinomları arasında çok seyrek rastlanmasına karşın kötü prognoz gösterir [31-33].

Medüller kanser WHO sınıflamasına 2000 yılında eklenmiş olup rutinde çok fazla karşılaşılan bir tümör tipi değildir. Tümör karakteristik olarak; lenfosit infiltrasyonu gösteren hücreler bulundurur [31].

Çok daha seyrek gözlenen tümörler ise; mikroglanduler goblet hücreli kanser, şeffaf hücreli kanser, adenoskuamoz kanser, iğsi hücreli ve metaplastik kanser (karsinosarkom), dev hücreli kanser, koryokarsinom, endometriozis zemininde gelişen kanser ve Paneth hücreden zengin papiller adenokanser WHO sınıflamasında yer almazlar [34].

#### **1.4. Mide Kanseri Epidemiyolojisi ve Etyolojisi**

Mide kanseri insidansı orta yaşlı bireyde ve özellikle erkeklerde daha yüksektir. Erkeklerde görülme sıklığının kadınlarda görülme sıklığına oranı (erkek/kadın oranı) 2/1'dir. Mide kanserinin tanı yaşı ortalama 60 olup, 30 yaşından önce nadir görülen bir kanser türüdür. 60 yaşından sonra bireylerin yaşına da bağlı olarak ortaya çıkma sıklığında artış görülmektedir [35].

Dünyada en yaygın görülen kanser tiplerinden sayılabilir; dünya genelinde erkeklerde 2. kadınlarda 4. en sık görülen kanserdir. Türkiye’de saptanan kanserlerin erkeklerde % 7.4, kadınlarda % 6’sı mide kanseridir. Ülkemizde mide kanserinden ölüm oranı erkeklerde 4.3/100.000, kadınlarda 2.5/100.000’dir [36].

Mide kanserinin gelişiminde ve ilerlemesinde birçok etken vardır bunlar genel olarak; sigara, beslenme alışkanlıkları, gıdaları saklama ve pişirme yöntemleri olarak sıralanabilir. Örneğin, protein malnütrisyonu (protein yetersizliği), aşırı miktarda tuz alınması, tütülenmiş yiyecekler, nitratlar ve safra asitleri gibi kimyasal iritanların mide kanser riskini artırdığı ifade edilmektedir. Son 15 yıl içinde proksimal mide kanserlerinin (Kardianın adenocarcinoması) insidansında artış mevcuttur [37,38].

Çevresel faktörler ve beslenmenin mide kanseri üzerine olan etkisi uzun yıllar araştırılmıştır. Çok geçmiş yıllarda yapılan çalışmalarda yüksek risk bölgelerinden düşük risk bölgelerine göç eden toplulukların sonraki nesillerinde mide kanseri insidansının belirgin biçimde azaldığı saptanmış ve günümüzde de geçerliliğini bu görüş korumaktadır. Bu da genç yaşlardan itibaren etiyolojik faktörlere maruz kalmanın kanser oluşma riskini arttırdığını göstermektedir. Bu etiyolojik ajanın ne olduğu bilinmemekle birlikte diyetin önemi üzerinde durulmuştur [39-41].

Kömür madeni işçileri, kauçuk ve asbest ile yakın temas çalışanlarında mide kanseri insidansı normal popülasyona göre çok küçük bir artış olduğu bildirilmiştir [42]. Ayrıca kurşun, nikel, madeni yağlar, pestisid ve iyonize radyasyon gibi karsinojen ajanlar da mide kanserine sebebiyet vermektedir [22]. Düşük sosyoekonomik düzeyde çalışan insanların çevresinde kötü hijyenik koşullar ve çevre kirliliği artmış buna bağlı olarak da mide kanserinin oranıyla ilişkilendirilmiştir [43].

### **1.5. Mide Kanseri TNM Evrelemesi**

Tüm kanserlerde olduğu gibi mide kanserleri içinde evrensel nitelikte ve tedavi sonuçlarını karşılaştırmaya müsait bir evrelendirme sistemi gereklidir. Evrelendirme sistemi ile yaklaşımına, tedavi sonuçlarının değerlendirilmesine, hastalığın

prognozuna ve hastaneler arasında veri transferinin sağlanmasına yararlı olmaktadır [44]. Mide kanserlerinin TNM sınıflandırmaları Çizelge 1.4’de verilmiştir.

**Çizelge 1.5.** Mide kanserinde TNM Evrelemesi [44]

<b>Evre 0</b>	<b>TİS</b>	<b>N0</b>	<b>M0</b>
<b>Evre I</b>	T1	N0-1	M0
	T2	N0	M0
<b>Evre II</b>	T1	N2	M0
	T2	N1	M0
		N0	M0
<b>Evre III</b>	T2		
	T3		
	T4		
	N2		
	N1-2		
	N0-1		
<b>Evre IV</b>	M0		
	M0		
	M0		
	T4		
	T1-4		
	N2		
	N1-2		
	M0		
	M1		

### **Primer Tümör(T)**

**Tis:** Karsinoma in situ

**T1:** Lamina propria veya submukoza invazyonu

**T2:** Muskularis propria invazyonu

**T3:** Seroza penetrasyonu

**T4:** Komflu yapıların invazyonu

### **Lenf Metastazı(N)**

**N0:** Yok

**N1:** Primer tümörün kenarına 3 cm uzaklıktaki perigastrik lenf nodlarına metastaz

**N2:** Primer tümör kenarına 3 cm'den daha uzak perigastrik lenf nodları ile beraber gastrik, kommon hepatik, splenik veya çölyak arterlere metastaz

### **1.6. Mide Kanseri Histopatolojisi**

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) 2000 yılındaki sınıflandırmasına göre; Adenokarsinom (İntestinal, Difiliz); Papiller, Tübüler, Müsinöz, Taşlı Yüzük Hücreli Adenokarsinom ve Adenoskuamöz karsinom, Skuamöz Hücreli Karsinom, İndifferansiye karsinom olarak sınıflandırılırmasına karşın en yaygın tipi olan adenokarsinom dört ana grupta, incelemek mümkündür. Ayrıca WHO sınıflamasının temel parçalarını oluşturmayan % 1 sıklıkta nadir görülen tipler de bulunmaktadır bunlar; pariyetal hücreli karsinom, medüller karsinomlardır.

**Tübüler adenokarsinom:** Tümör genişlemiş, dallanan tübüler, keseler halinde ve solid yapılar şeklindedir, kabartılı yapılar eşlik edebilir. Tümör hücreleri silindirik, kübik veya lümen içindeki müsine bağlı yassılaştırmış olabilir. Genellikle böbrekte bulunan berrak hücreler (nefrik hücreler) görülebilir. Tümör stromasında belirgin lenfositik sızma olan az diferansiye ve poligonal tümör hücrelerinin bulunduğu durumlarda medüller karsinom (Lenfoepitelyoma benzeri karsinom) olarak adlandırılırlar. Bazen lenfoid stroma oldukça belirgin olur ve lenfoma ile ayırıcı tanı yapılması gerekir. Bu durumda immünohistokimyasal incelemede sitokeratin (CK) immünreaktivitesi önem kazanır.

**Papiller adenokarsinom:** Tümör fibrovasküler bağ doku çevresinde dizilim gösteren silindirik, küboidal hücrelerden oluşan parmaksı çıkıntılar şeklindedir. Bazı

tümörlerde tübüler yapılar eşlik eder ve bunlar papillotubuler tümör olarak adlandırılır. Nadiren mikropapilller yapı bulunur.

**Müsinöz adenokarsinom:** Tümör içeren alanın yarısından fazlasında ekstrasellüler müsin gölleri bulunur. Tümör hücreleri müsin üreten silindirik hücrelerle dōşeli bez yapıları oluşturabilir ya da müsin gölleri içinde yüzer tarzda birkaç hücreli gruplar şeklinde karşımıza çıkar. Dağınık taşlı yüzük hücreleri bulunabilir, fakat bunlar hiçbir zaman baskın olmazlar.

**Taşlı yüzük hücreli karsinom:** Tümör dokusunun yarısından fazlası sitoplazmasında müsin içeren, izole ya da gruplar oluşturan tümör hücrelerinden meydana gelir. Taşlı yüzük hücreli karsinom terminolojisine karşın intrasitoplazmik müsin içermeyen tümör hücreleri de görülebilmektedir. Stromada desmoplazi (oransız miktarda bağ dokusu oluşumu) genellikle belirgindir. Tümör hücreleri bağ dokusunu genişleterek yayılım gösterir. Bazı olgularda tümör hücreleri oldukça seyrek ve tek tek dağılım gösterirler. Beş farklı tip tümör hücresi ile karşılaşabilir. Bunlar arasında en tipik olanı sitoplazma içindeki müsin nedeniyle nükleusları bir kenara itilmiş olan, yuvarlak şekilli taşlı yüzük hücreleridir. Sitoplazmalarında AB ile boyanan asit müsin bulunur. Bu hücrelerin dışında nükleusları ortada, mitoz içermeyen ya da seyrek mitotik aktivite gösteren histiosit benzeri hücreler de bulunmaktadır [45-47].

## 1.7. Ksenobiyotiklerin Metabolizması

Kimyasal karsinojenler biyotransformasyona uğramadan önce biyolojik aktivitesi olsun ya da olmasın organizmada değişik enzimatik reaksiyonlarla farklı etki gösteren metabolitlere dönüşür ve sonra da konjugasyonla inaktif hale gelir ve vücuttan atılır.

Genel olarak bir ksenobiyotik veya metabolitin biyotransformasyon sonucu toksisitesi azalıyor veya ortadan kalkıyorsa bu olaya detoksifikasyon denilmektedir.



Bazen de, kimyasal maddenin biyotransformasyonu ile çok aktif ara metabolitler oluşabilir. Bu olaya ise toksikasyon veya biyoaktivasyon denir.

Ksenobiyotiklerin biyotransformasyon mekanizmaları iki kısımda toplanabilir;

1. Faz I reaksiyonları
2. Faz II reaksiyonları

Faz I reaksiyonları yükseltgenme (oksidasyon), indirgenme (redüksiyon) ve hidroliz reaksiyonlarından oluşur. Sitokrom P-450 (CYP) monoksijenaz yükseltgenme ve CYP redüktaz indirgenme reaksiyonlarında görev alır. CYP enzimleri mikrozomal enzimler tarafından katalizlenir. Daha çok karaciğerde olmak üzere sınırlı da olsa akciğer, böbrek, barsak, testis, deri, plasenta, adrenal bezde de faz I reaksiyonu gerçekleşebilir. Faz I reaksiyonu ile lipitte çözünen ksenobiyotikler daha polar hale geçerler [2,12,48].

Birinci ve ikinci faz biyotransformasyon mekanizmalarında rol oynayan enzimler ve reaksiyon tipleri Çizelge 1.6 ve Çizelge 1.7' de gösterilmiştir. Faz I reaksiyonlarından yükseltgenme basamağında görev alan CYP ailesi, Faz II reaksiyonlarının konjugasyon metabolizmasında görev alan GST ailesi ile ilişkilidir.

**Çizelge 1.6.** Faz I reaksiyonları ve rol oynayan enzimeler[12]

Reaksiyon Tipi	Enzimler
1. Yükseltgenme	<b>Sitokrom P450(CYP)'ler</b> Ksantin okidaz Peroksidazlar Aminooksidaz Dioksijenaz Süperoksit dismutaz
2. İndirgenme	Sitokrom P450(CYP)'ler Ketoredüktaz Glutasyon peroksidazlar
3. Hidroliz	Epoksit hidrolaz Karboksiesteraz Amidazlar

**Çizelge 1.7.** Faz II reaksiyonları ve rol oynayan enzimeler[12]

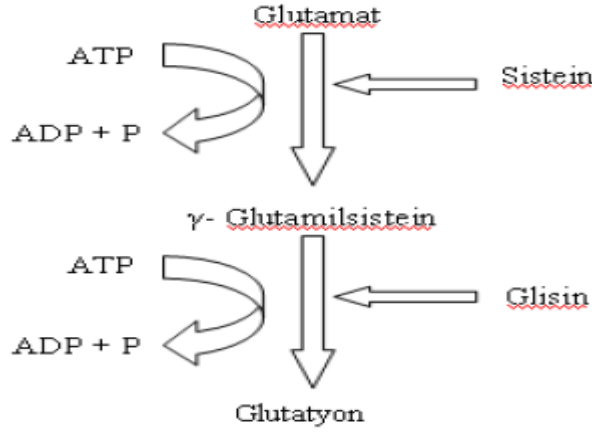
Reaksiyon Tipi	Enzimeler
1. Konjugasyon Reaksiyonları	Glukronil transferaz Sülfonil transferaz <b>Glutasyon S-transferaz(GST)</b> Glukozil transferaz Tiyol transferaz
2. Diğer Metilasyon Asetilasyon	O,N,S-metiltransferazlar N-asetiltransferaz Açıltransferaz Sülfotransferaz

Faz I genellikle lipitte çözünür ksenobiyotikler daha polar moleküller haline geçerek aktif metabolitlere dönüşürler oluşan bu metabolitler veya birçok doğal maddeler sentez ve konjugasyon reaksiyonlarını da içeren II. Faz reaksiyonları sonucunda endojen maddelerle birleşen bu polar metabolitler inaktif olarak eliminasyona uğrarlar ve toksisiteyi de azaltırlar [12].

## 1.8. Glutasyon

Glutasyon (gama glutamil sisteinil glisin) molekülü; glutamik asit, sistein ve glisinden oluşur ve genelde GSH olarak kısaltılır; -SH sülfidril grubuna işaret eder ve molekülün alış veriş yapan kısmıdır. Karsinojenik etkilerden korunmada glutasyonun önemli bir rolü vardır. Reaktif ara metabolitleri olan epoksidler ve diğer bazı toksik bileşikler dokularda nükleofilik endojen bileşiklerle özellikle glutasyon ile konjuge edilerek inaktif duruma getirilirler.

Glutasyon molekülündeki sülfidril grubu güçlü bir nükleofilik grup gibi hareket eder, epoksid veya bazı toksik bileşiklerin veya metabolitlerin elektrofilik merkezlerine bağlanarak onları nötralize yani detoksifiye eder. Potansiyel olarak zehirli bazı elektrofilik ksenobiyotikler nükleofilik GSH ile konjuge olurlar. Şekil 1.1 de de gösterildiği gibi; glutasyon sentezinin birinci basamağında glutamik asit ve sistein glutamin sistein sentaz enzimi aracılığıyla peptid bağı oluşturur. Bu şekilde glutamin sistein yapısı oluşur ikinci basamakta ise, oluşan bu yapıya glutasyon sentaz enzimi aracılığıyla glisin amino asidi peptid bağı ile bağlanır ve sonunda glutasyon oluşur [8].



**Şekil 1.1.** Glutatyonun sentezi[8]

Eğer toksik potansiyeli olan ksenobiyotikler GSH ile konjugasyona uğramasalardı; DNA, RNA veya hücre proteini ile kovalent olarak birleşmekte serbest olacaklar ve sonuçta ciddi hücre hasarlarına yol açabileceklerdi. Bundan dolayı GSH, bazı ilaçlar ve karsinojenler gibi çeşitli toksik bileşiklere karşı önemli bir savunma mekanizmasıdır [49,50]. Bu reaksiyonları katalize eden enzimlere Glutatyon S-Transferazlar (GST) denir ve GST'ler, besinlerle birlikte alınan toksik maddelerin eliminasyonunu da sağlarlar.

### 1.9. Glutatyon S-Transferaz (GST)

Glutatyon S-transferazlar, elektrofilik ve hidrofilik bileşiklerin glutatyon ile etkileşimlerini sağlayarak, hücresel makromolekülleri reaktif elektrofillere karşı koruyan Faz II detoksifikasyon enzim ailesi üyesidir. Molekül ağırlıkları 20.000-25.000 daltondur ve her bir alt birim 200-240 aminoasitten oluşur. İlk kez sıçan karaciğerinde Boyland ve ark tarafından tanımlanmıştır [49]. İnsanda ise karaciğer sitosolünde yüksek, diğer dokularda karaciğere oranla daha düşük miktarlarda bulunurlar. İnsanda onun üzerinde GST izozimleri tanımlanmıştır.

GST'ler, kemoterapötik ilaçlar, karsinojenler, çevre kirliliği etkenleri ve ksenobiyotikler ile glutatyon arasında konjugasyonu katalizleyen dimerik enzimler

ailesidir. GST, reaktif oksijen radikallerinin ve sigara tütününde bulunan karsinojenlerin detoksifikasyonunda, lipid peroksidasyonu sonucu oluşan 4-hidroksinonenal gibi ajanların metabolizmasında önemli bir role sahiptir [51].

Glutasyon konjugeleri vücuttan atılmadan önce, daha ileri metabolizasyona uğrarlar. Glutasyona ait glutamil ve glisin grupları spesifik enzimler tarafından uzaklaştırılırlar ve geri kalan sisteinil kısmının amino grubuna bir asetil grubu (asetil KoA'dan sağlanan) eklenir. Sonuçta meydana gelen bileşik idrarla atılıma uğrayan L-asetil sisteinin konjugesi olan merkapturik asittir [52].

Bireyler arasında görülen bazı kanser türlerine yatkınlığın artması veya azalmasının temelinde yatan neden ağırlıklı olarak ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda (biotransformasyon) rol oynayan enzimlerin gösterdiği genetik polimorfizmler ve bu enzimlerin genlerinin ve/veya proteinlerindeki ekspresyonlarının değişkenliğidir [53-54].

### **1.9.1. GST' lerin Detoksifikasyondaki Rolü**

GSH sentezi ve bu sistemde görev alan enzimler birçok eksojen ve endojen maddelerin, çevresel karsinojenlerin, toksik metabolitlerin, kimyasal maddelerin ve anti-kanser ilaçlarının inaktivasyonuna veya detoksifikasyonuna doğrudan katılmaktadır. GST, Faz II detoksifikasyon enzim ailesinin en çok substratı bulunan bu yüzden kimyasal ajanlara karşı en çok etkisi bulunan ailesidir. GST, çeşitli elektrofilik bileşikler ile glutasyon arasındaki reaksiyonları katalizler. GST aktif metabolitlerin glutasyon ile konjugasyonunu gerçekleştirerek DNA'yı alkilasyondan korur alkilasyondan korunan DNA ise mutasyon gösterme oranı azaldığından kanser oluşum riskini azaltmaktadır [54].

GST' ler elektrofilik ksenobiyotikleri inaktive ederek vücuttan atılmak üzere konjugasyonunu sağlayan dimerik enzimlerdir. Glutasyon nükleofilik sülfidril grubu ile bileşiklere bağlanarak organizmayı reaktif kimyasal bileşiklere karşı korur [55].

### 1.9.2. GST' lerin Substratları

GST, çok substratlı bir enzimdir. Endojen yağ asidi oksidasyonu ürünleri, çevresel karsinojen ve toksik bileşikler GST' lerin substratıdır. GSH'un kosubstratına özgül olan bir G bölgesi ve hidrofobik elektrofilik substratların bağlandığı H bölgesi vardır. GSH'un tiyol grubu, cebin açık olan kısmına dönüktür. Diğer substratlara bağlanan grup, bu tiyol grubudur [56,57 ].

GST, besinlerle ya da diğer yollarla alınan toksik maddelerin eliminasyonunu sağladığı gibi, prostoglandinlerin izomerizasyonu, hem, bilirubin, safra tuzları ve yağ asitleri gibi nonsubstrat ligandları GSH ile bağlayarak taşınmasını da sağlamaktadır. Ayrıca reaktif elektrofilik bileşiklerin vücuda zarar vermesini, aynı tür bileşikleri birbirine kovalent bağlanmasını sağlayarakta önleyebilmektedir [58].

GST'in etkilediği bu ksenobiyotik akseptörler içinde nitrojenli, halojenli bileşikler, organofosfatlar, polisiklik aromatik hidrokarbonlar yer almaktadır. Bu moleküller için ilk biyolojik reseptör, endoplazmik retikulum ve elektron taşıma sisteminin bir kısmını oluşturan mikrozomal oksijenazlardır. Ksenobiyotikler, bu enzim sistemi ile oksijenlenir, oksijenatlı ürünlerin sonraki mekanizması ise daha fazla oksijenasyon ve bu ürünlerin suda daha kolay çözünür hale gelmesidir [52]. Bazı kanser ilaçlarının GST'nin substratları olduğu görülmüştür, böyle bir durumda kanser ilaçları kişilere uygulandığında hücre içerisindeki GST'lere bağlanacak hücreden detoksifiye edilerek vücuttan atılacaklar, bu şekilde uygulanan kanser ilacı işlevini yerine getirmeyecektir. Ayrıca kolon kanserinde böcek ilacı (insektisit) uygulayanlarda bu kanserin gelişim riski yüksek olarak görülmüştür. GST substratlarından DDT (dikloro difonil trikloethan) ülkemizde yasaklanmasına rağmen bazı bölgelerde hala kullanılmakta buda kanser riskini arttırmaktadır. Çizelge 1.7' de GST' lerin substratları olan ilaçlar, pestisitler, çevresel karsinojenler ve endojen moleküller detaylı olarak gösterilmektedir [58].

**Çizelge 1.8.** GST'lerin substratları [58]

<b>Çevresel karsinojenler</b>	<b>Pestisidler</b>	<b>İlaçlar</b>	<b>Endojen Moleküller</b>
Stiren oksit	Lindan	Cis-platin	4-Hidroksi-2-nonenal
4-Nitrokinolin oksit	Alaklor	Klorambusil	Kolesterol-5-6-oksit
Akroleyn	Atrazin	Nitrogliserin	Adenin propenal
Hekzaklorobutadien	DDT	Tiyotepa	9-hidropeksi-linoleik asit
Trikloroetilen	Metil paration	Fosfomisin	Dopaminokrom
Metilen klorür		Adriamisin	Kateşol estrogenleri
Etien oksit		Siklofosfamid	

### 1.9.3. GST'lerin Sınıflandırılması

Memelilerde Glutatyon-S transferazlar'ın yapısı hakkındaki ilk bilgiler 1961 yılında, fare karaciğerinde glutatyonun (GSH) konjugasyonunun gözlenmesi üzerine elde edilmiştir [59-62]

Glutatyon S-transferazlar; mitokondriyal, sitosolik ve mikrozomal olmak üzere üç aileye ayrılırlar. Mitokondriyal ve sitosolik GST'ler üç boyutlu katlanmaları açısından birbirlerine benzerler ve çözünebilen GST'ler olarak isimlendirilirler. Bu gruptaki GST'ler fazla sayıda izoenzime sahiptirler; bu izoenzimler farklı dokularda farklı miktarlarda bulunabilirler. Çözünebilir GST izoenzimleri birbirlerinden izoelektrik noktaları ve aminoasit dizileri arasındaki farklılıklarla ayrılırlar. Mikrozomal GST'ler, Membrane-Associated Proteins in Eicosanoid and Glutatgione Metabolism (MAPEG) çözünebilir gruplara yapısal benzerlik göstermezler, bu yüzden mitokondriyal GST formları ve primer yapıları farklıdır [57]. İnsanda bulunan GST enzimleri substrat spesifikliklerine, immünolojik özelliklerine, yapısal karakteristiklerine, kimyasal affinitelerine, antikorra ilgili reaksiyonlarına, izoelektrik

noktalarına ve aminoasit dizilerinin benzerliklerine göre sınıflandırılmışlardır [62,63].

Yapılan sınıflandırmaya göre GST'ler sitozolik, mikrozoal ve mitokondriyal olmak üzere üç ailede sınıflandırılmıştır. Buna göre sitoplazmik GST'ler: GST Alfa (GSTA1-1, GSTA2-2, GSTA3-3, GSTA4-4, GSTA5-5), GST Mü (GSTM1-1, GSTM 2-2, GSTM3-3, GSTM4-4, GSTM5-5), GST Pi (GSTP1-1), GST Sigma (GSTS1-1), GST Teta (GSTT1-1, GSTT2-2), GST Zeta (GSTZ1-1), ve GST Omega (GSTO1-1, GSTO2-2) olmak üzere 7 sınıfa, eicosanoid ve glutatyon metabolizmasında membrana bağlı proteinler MAPEG olarak da adlandırılan mikrozoal GST'ler; MGST1, MGST2 ve MGST3 olarak üç sınıfa ve son olarak mitokondriyal GST sınıfını oluşturan GST Kappa (GSTK1-1) olmak üzere toplam 11 sınıfta incelenmektedir [14, 48, 64, 65]. GST'lerin her bir izozimi farklı dokularda farklı miktarlarda bulunabilir. Çizelge 1.8'de GST ailesinin izozimleri ve buldukları organlar detaylı bir şekilde verilmiştir.



**Çizelge 1.9.** GST ailesinin izozimleri ve bululdukları organlar[48]

Süperaile	Sınıf	Protein	Organ
Sitozolik	Alfa	GSTA1	Testis,karaciğer,böbrek,adrenal,pankreas
		GSTA2	Karaciğer,testis,pankreas,böbrek,adrenal,beyin
		GSTA3	Plesanta
		GSTA4	İnce bağırsak,dalak, karaciğer,böbrek,beyin
Sitozolik	Mu	GSTM1	Karaciğer,testis,beyin,adrenal,böbrek,akciğer
		GSTM3	Testis,beyin,ince bağırsak,iskelet kası,akciğer
		GSTM4	Beyin,kalp,iskelet kası
		GSTM5	Beyin,kalp,akciğer,testis
Sitozolik	Pi	GSTP1	Beyin,kalp,akciğer,testis,böbrek,pankreas
Sitozolik	Teta	GSTT1	Böbrek,karaciğer,ince bağırsak,beyin,prostat
		GSTT2	Karaciğer
Sitozolik	Sigma	GSTS1	Fetal karaciğer,kemik iliği
Sitozolik	Zeta	GSTZ1	Fetal karaciğer, iskelet kası
Sitzolik	Omega	GSTO1	Karaciğer,kalp,iskelet kası,pankreas,böbrek
		GSTO2	Karaciğer
Mitokondriyal	Kappa	GSTK1	Karaciğer mitekondrisi
		GSTK2	Karaciğer mitekondrisi
Mikrozomal (MAPEG)		MGST1	Karaciğer,pankreas,prostat,kolon,böbrek,beyin
		MGST1	Testis,prostat,ince bağırsak,kolon
		MGST2	Karaciğer,iskelet kası,ince bağırsak,testis
		MGST3	Kalp,iskelet kası,adrenal bez,tiroid
		LTC4S	Trombosit,akciğer,karaciğer
		FLAP	Akciğer,dalak,timus,ince bağırsak

## **1.10. Glutasyon S-Transferaz Ailesi**

Çalışmalara en sık konu olan GST izozimleri GSTA, GSTM, GSTP ve GSTM'dir. Kolon ve mide kanserlerinde daha önce polimorfik ve protein ekspresyon çalışmalarında da bu izozimlere rastlanılmaktadır.

### **1.10.1. GST Alfa Sınıfı**

Alfa gen ailesi tarafından eksprese edilen dört GST izoenzimi tanımlanmıştır. GSTA1 ve GSTA2 insan dokularında bol miktarda eksprese edilir; ancak ekspresyon düzeyleri farklı doku ve bireylerde farklılık gösterir. Karaciğer, böbrek ve adrenal dokuda bol miktarda eksprese edilir ve insan karaciğerinde total GST'lerin %80'ininden fazlasını kapsar [66-68].

### **1.10.2. GST Mü Sınıfı**

GST mü sınıfı, insanlarda M1'den M5'e kadar numaralanan 5 izoenzimden oluşmaktadır. GSTM1 Mü sınıfı ailesinden en yaygın eksprese edilenidir, esas olarak karaciğer, mide ve beyinde salınmakla birlikte; kemik, beyin, paratiroid (PTH), akciğer, kalp, böbrek, uterus, over organlarında bulunur. GSTM2 'e daha çok iskelet kasında rastlanırken, GSTM3 beyinde, kaslarda, testis ve akciğerlerde bulunur. GSTM4 insan lenfoblastoid hücre soylarında, GSTM5 ise beyinde eksprese edilir [69-72].

### **1.10.3. GST Pi Sınıfı**

GST'ler arasında en yaygın olan pi sınıfıdır. Akciğer, özafagus, böbrek, adrenal bez, kalp, beyin ve plasenta gibi birçok organda eksprese edilir. GSTP1' in, ilk olarak

insan plasentasında bulunan anyonik GST olduğu bildirilmiştir. Hatta ifadesinde bulunan P harfi de buradan gelmektedir [58,73].

Sonradan beyin, akciğer, kalp, testis, adrenal bez, böbrek, pankreas ve karaciğer olmak üzere dokuların büyük bir kısmında sentezlendiği görülmüştür [48].

Glutatyon-S Transferaz P1 (GSTP1) geni ksenobiyotik metabolizmasının faz II evresinde rol oynayan GST enzim ailesinin bir üyesidir. Sigara dumanında bulunan polisiklik aromatik hidrokarbonlar gibi bazı kanserojen maddelerin glutatyonla konjugasyon reaksiyonlarını katalizler [75].

#### **1.10.4. GST Teta Sınıfı**

İnsanlarda GSTT1 ve GSTT2 olmak üzere iki sınıfı bulunmuştur. GSTT1 239 aminoasitten oluşan bir homodimerdir. Beyin, kolon, kalp böbrek, overler, paratiroid, prostat, tonsil, testis, uterus gibi organlarda ekspresyonu tespit edilmiştir. GSTT1 geninde enzimin fonksiyonel yetersizliğine yol açan gen delesyon polimorfizmi vardır ve bu enzimatik aktivite eksikliğinin kanser riskini artırdığı bildirilmiştir [75-77].

#### **1.10.5. GST Omega Sınıfı (GSTO)**

GSTO 10. Kromozomun büyük kolonunda bulunur. Yapısal olarak diğerlerinde benzemelerine rağmen diğerlerinin substratlarıyla çok etkileşime girmezler. GST ailesinin diğer üyelerinin aktif bölgelerinde serin ya da tirozin bulunurken GSTO sınıfında sistin bulunmaktadır.

Omega sınıfının insanda, farede, sıçanda, *C. Elegans*' da, *Drosophila melanogaster*'de bulunduğu tespit edilmiştir. GSTO sınıfının GSTO1 ve GSTO2

olmak üzere iki izoenzimi bulunmaktadır. GSTO1'in N terminalinde fazladan 19 aminoasit vardır. GSTO2' nin N terminalinde 19 aminoasit fazladan vardır.

Omega sınıfı indirgeme reaksiyonlarını kataliz eder. İlaç dirençliliğinde, radyasyon dirençliliğinde, içme suyuyla arseniği indirgemedi, oksidatif strese rolü olduğu gibi alzheimer, Parkinson, sinir sistemi hastalıklarında da koruyucu role sahiptir. Yapılan çalışmalarda kanserde rolü olduğu tespit edilmiştir [78-82]

GSTO1 son yıllarda bulunmuştur. Çizelge 1.9.'da GSTO1'in çeşitli substratları gösterilmiştir [64].

**Çizelge 1.10.** GSTO1'in substratları [64]

GSTO1' in substratları	1-kloro-2,4-dinitrobenzen
	7-kloro-4nitrobenzo-2-oksa-1,3-diazol
	p-nitrofenilasetat
	trans-Oktenal
	trans-Nonenal
	Dehidroaskorbat redüktaz
	Tiyol transferaz

#### 1.10.6. GST Kappa (GSTK)

GST ailesinin bu sınıfı hakkında literatürde pek bilgiye rastlanamamıştır. GSTK1 (GSTK1-1) enziminin 1-kloro-2,4-dinitrobenzen ve etakrinik asit substratlarına aktiviteleri bulunmaktadır. Önceleri GSTT izoziminin alt grubundan olduğu düşünülmüş fakat geçen yıllar içerisinde GSTK' nın ayrı bir GST ailesi olduğu ortaya çıkmıştır.

GSTK1-1 ve GSTK2 olmak üzere iki adet izoenzimi bulunmaktadır. Hücrede mitokondride ve peroksizomda bulunur. Kemiriciler, insan ve *C.elegans* da bulunan GST kappa mitokondri ve peroksizomda enerji ve lipit metabolizmasında görevlidir. GST' lerin aktivitelerine benzemesine karşın mitokondri ve peroksizomda

bulunmaktadır. GST kappa mitokondriyal GST olarakta bilinir. Bakteri ve ökaryotlarda bulunur. GSTK ayrıca adiponektin (beyaz yağ) biyosentezinde anahtar görevindedir ve proteinlerin doğru katlanmasında şaperon proteini olarak fonksiyon göstermektedir.

GSTK insülin resistansı, obesite ve diyabette de rolü vardır. Yapılan bir çalışmada fare ve insan yağ dokusunda GSTK1 obezite ile negatif korelasyon göstermiştir. GSTK1 böylece metabolik hastalıklarda rolü olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, GSTK1 polimorfizm çalışmaları insülin salınımı ve yağ depolamanın ilişkili olduğunu göstermiştir.

GSTK1-1 birçok dokuda özellikle beyaz yağ dokusunda eksprese olmaktadır. GSTK1-1 fare ve insanda obesite ile negatif olarak ilişkilidir ve insülin direnci hastalığının tedavisinde geliştirilen ilaçlar için hedef olarak düşünülmektedir. [82-87]

### **1.11. Glutasyon S-Transferazlar ve Mide ve Kolon Kanseri**

Nakajima ve arkadaşları 41 ozafagus kanserli hastada 1996 yılında yapılan çalışmada immunoblot ve enzim assay metoduyla çalışılmıştır. Tüm örneklerde GSTP1 GSTM1 ve GSTA1 kan serumlarında polimorfik olarak bulunmuştur. Sonucunda kanserli hastalarda GSTA1'in GSTM1 den daha fazla ekspresse olmuş, GSTP1 ile alkol ve sigara içimi arasında bir ilişki bulunamadığını belirtmişlerdir [88].

Lieshout ve arkadaşları 1999 yılında yaptıkları çalışmada GSTA ve GSTP izozimlerini immunohistokimyasal metotla çalışmış ve normal gastrointestinal dokusunda (epitelinde) negatif ve 75% e kadar pozitiflik, barret epitelinde 75% ile 100 arasında, adenocarcinoma 25% ile 100% arasında, sokuamoz hücreli karsinomda 27% ile 91% arasında ekspresyon göstermiştir [89].

Piao ve ark. 2009 yılında yaptıkları çalışmada GSTM1 ve GSTT1 null genotiplerinin 2213 gastrik kanserli ve 1829 kolorektal kanserli, 1699 kontrol grubu bulunan Koreli

hasta grubunda kanser olma riskini polimorfik olarak ilişkilendirilmiştir. GSTM1 ve GSTT1 null genotipli bireylerin gastrik ve kolorektal kanser olma riskleri arttırmamıştır, sigara içimi, alkol kullanımı ve yaş bu riski değiştirmemiştir [90].

Cai ve ark. 2001 yılında yaptıkları 95 gastrik kanser 94 kontrol gurubu bulunan polimorfizm çalışmasında GSTM1 null genotipli bireylerin gastrik kansere yakalanma riski yüksek fakat GSTT1 in herhangi bir fark oluşturmadığı bulmuşlardır [91].

Zheng ve ark. 2002 yılında yaptıkları çalışmada GSTM1, GSTT1'in kolon kanseri riski İngiliz popülasyonunda polimorfik olarak çalışılmış. Yaptıkları çalışmanın sonucunda kanserli hastalarda GSTM1 ve GSTT1 null genotipi kanser oluşumunda önemli bir risk oluşturmadığı göstermişlerdir [92].

Yapılan bir başka çalışmada Kiss ve ark. 500 kolorektal kanserli ve 500 kontrol gurubunda GSTM1 in null olması kolorektal kanser olma riskini arttırdığını ancak GSTT1 ve GSTP1 kolorektal kanser olma riskiyle bir ilişkisi olmadığını vurgulamışlardır [93].

Masoudi ve arkadaşları 2009 yılında yaptıkları polimorfizm çalışmasında; GSTO2, GSTM1, ve GSTT1 izoenzimlerini, 67 gastrik kanser vakası ve 134 kontrol grubunda İran popülasyonunda çalışmışlardır. Çalışmanın sonucunda GSTO2 nin null genotipinin gastrik kanser olma riskini düşürdüğünü göstermişlerdir [94].

Yapılan bir başka çalışmada Marahata ve ark. Tayland popülasyonunda 28 hepatoselüler kanser vakası, 30 safra kanalı kanseri vakası, 31 kolorektal kanser vakası, 30 meme kanser vakası ve 98 kontrol grubunda, GSTO1 ve GSTO2 polimorfizmi çalışmışlardır. Çalışmada, *GSTO1\*A140D* polimorfizmi hepatosellüler karsinoma, safra kanalı kanseri ve meme kanserinin oluşumunda önemli bir risk faktörü olduğu tespit edilmiştir. *GSTO2\*N140D* polimorfizmi nin kanser oluşumunda herhangi bir risk faktörü oluşturmadığı gösterilmiştir [95].

GSTO1-1 izoziminin immünohistokimya yöntemiyle insan normal dokularda dağılımlarına bakmışlardır. Karaciğerde, makrofajlarda, glia hücrelerinde, meme miyoepitel hücrelerinde kolon nöroendokrin, hepatosit, safra, pankreas epitelinde, tiroid foliküler ve C- hücrelerinde ekspresyon olduğunu göstermişlerdir. Bu bulgular GSTO1-1 in bu dokularda fonksiyonunun olduğunu göstermiştir [80].

Djukic ve ark. 2013 yılında yaptıkları çalışmada 105 mesane kanser hastasında 5 yıl boyunca sağkalımı izleyerek GSTT1, GSTP1(rs1695), GSTO1(rs4925), GSTO2(rs156697), GSTM1, GSTA1(rs3957357) genleriyle polimorfizmi ile kemoterapiye etkisini araştırmışlardır. GSTP1, GSTM1 ve GSTA1 polimorfizmi ile kemoterapi alan hastalarda sağkalım arasında önemli bir ilişki gözlenmemiştir. Fakat, GSTT1, GSTO1 ve GSTO2 polimorfizmi ile sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gözlenmiştir. GSTT1, GSTO1 ve GSTO2 null genotipli bireylerin ölüm riskleri artmıştır [96].

Oğuztüzün ve arkadaşları 2013 yılında yaptıkları çalışmada tiroid 15 Foloküler Adenokarsinom, 16 Tiroid Papiller Karsinom (TPK) ve 27 Nodüler Hiperplazili(NH) hastanın GSTO1 ve GSTK1 protein ekspresyonlarını immunohistokimyasal olarak incelemişlerdir. NH'lı hastaların %81,48, FA'lı hastaların %80 ve TPK'lı hastaların %60'ında GSTO1'in eksprese olduklarını ve GSTK1 izoziminin ise NH'lı hastaların %48,14'ünde, FA'lı hastaların %60'ında ve TPK'lı hastaların %87,5'inde eksprese olduğunu göstermişlerdir. GSTO1 izoziminin TPK'lı hastaların dokularında, FA'lı hastalara oranla 1,91 ( $p=0,0023<0,05$ ); NH'lı hastalara oranla 2,1 kat ( $p=0,0003<0,05$ ) daha fazla eksprese olduğu; GSTK1 izoziminin TPK'lı hastaların dokularında, FA'lı hastalara oranla 2,08 ( $p=0,011<0,05$ ); NH'lı hastalara oranla 3,73 kat ( $p=0,0002<0,05$ ) daha fazla eksprese olduğu istatistiksel olarak anlamlı bulduklarını bildirmişlerdir [97].

2009 yılında Wang ve ark. sigara içmenin, arsenigin ve mesleki maruziyetlerin ürotelyal karsinom gelişiminde risk faktörü oluşturduğu bilinmektedir GSTO1 (A140D) polimorfizminin ürotelyal karsinoma riskini anlamlı olarak değiştirmedğini saptamışlardır. [98].

2013 yılında Moran ve ark. tarafından yapılan bir başka çalışmada gastrointestinal kanserlerinden 40 mide adenokarsinomlu ve kolonda adenokanserli dokularda II. Faz enzimlerinden enzimlerinin; GSTP1 ve GSTT1 izoenzimlerinin immunohistokimyasal yöntemle protein ekspresyonlarına bakılmış. Bu hastaların %77,5'inde GSTP1, %95'inde GSTT1 izozimlerinin tümörlü ve normal dokularının birinde ve ya her ikisinde eksprese olduğunu gözlemlemişlerdir. Tümörlü ve normal dokularda GST izozimlerinin ekspresyon farklılıkları incelendiğinde; Mide Adenokarsinomlu hastaların tümörlü dokularında normal dokularına oranla GSTP1 ve GSTT1 izozimlerinin daha fazla eksprese olduğu ( $p=0,048;0,0006<0,05$ ) istatistiksel olarak anlamlı bulmuşlardır. Ayrıca 47 kolon kanserli hastalarda %97,87'sinde GSTP1 ve %87,23'ünde GSTT1 izozimlerinin tümörlü ve normal dokularının birinde ve ya her ikisinde de eksprese olduğu görmüşlerdir. Ayrıca Kolon Adenokarsinomlu hastaların dokularında izozimlerin tamamının tümörlü dokularda normal dokulara oranla ekspresyonlarının daha fazla olduğu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ( $p=0,00;0,00<0,05$ ). Hasta dokularında izozimlerin ekspresyon dereceleri ile hastaların cinsiyeti arasında yapılan ilişki analizine göre kolon kanserli hastalarda GSTP1 izoziminin kadınlarda erkeklerden daha fazla eksprese olurken ( $p=0,02<0,05$ ); GSTP1 izoziminin ekspresyonu ile hastaların sigara içim sayıları arasında pozitif yönde %37'lik düşük düzeyde ilişki olduğu görülmüşlerdir ( $p=0,011, r=0,367$ ) [99].

Ada ve ark. 2013 yılında Türk populasyonunda GSTO1 de yaptıkları polimorfizm çalışmasında 214 sağlıklı bireyin polimorfizmine bakmışlar ve Türk toplumunun GSTO1 polimorfizminin beyaz ırk toplumlarınıninkine benzer olduğunu bulmuşlardır[81].

Literatür verileri incelendiğinde GSTO ve GSTK izozimlerinin gerek genotipik gerekse fenotipik çalışmalarının sınırlı sayıda olduğu görülmektedir. Bu nedenle yapılan bu tez çalışmasında; kolon ve mide adenokarsinomlu dokularda ve u dokuların periferinde bulunan normal dokularında detoksifikasyon metabolizmasının Faz II reaksiyonlarını katalizleyen GST enzim ailesinden GSTO1 ve GSTK1 izozimlerinin protein ifadelerinin farklılıklarının araştırılması ve bu kanser türlerinin patogeneziindeki rollerinin araştırılması amaçlanmıştır.



## 2. MATERYAL VE YÖNTEM

### 2.1. Materyal

#### 2.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Primer Antikor (GSTO1, GSTK1)
- Sekonder Antikor (Biotinylated secondary antikor), (Santa Cruz)
- TBS buffer (Santa Cruz)
- %30' luk H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Solusyonu (Sigma)
- Ksilol (Merck)
- Etanol (Merck)
- Metanol (Merck)
- Sodyum Sitrat (Sigma)
- Sitrik Asit (Sigma)
- Protein Blokajı (Normal Swine Serum, Normal Goat Serum) (Santa Cruz)
- ABC HRP (Avidin Biotin Complex Horse Radish Peroxidase) (Santa Cruz)
- Hematoksilen (Shandon)
- DAB (Diamino benzidin) (Santa Cruz)

#### 2.1.1.1 Solusyonların Hazırlanışı

- I. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Blokajı 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 gr sitrik asit (A) 100 ml distile suda; 0,1 M 14,7 gr 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 gr tris base, 85,20 gr NaCl 500 ml distile suda çözülür. 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.

### **2.1.1 Kullanılan Cihazlar**

- Etüv
- -20'lik derin dondurucu ve buzdolabı
- pH-metre
- Vortex
- Düdüklü tencere
- Isıtıcı
- Hassa terazi
- Işık mikroskobu
- Fotoğraf makinesi

## **2.2. Kullanılan Yöntem**

### **2.2.1. Hasta Dokularının Toplanması ve Klinik Bilgiler**

Çalışmada Ankara Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nden onayı alınan ve adı geçen hastaneye 2007-2012 yılları arasında başvuran 47 kolon kanserli hasta (yaş ortalaması  $68,34 \pm 12,86$ ) ve 40 mide adenokanserli hasta (yaş ortalaması  $67,07 \pm 10,75$ ) olan hastalardan patoloji kliniği tarafından yapılan parafin bloklardan her bir vaka için poly-L-lysin kaplı lamaların 3 kesit alındı. Alınan kesitlerden iki tanesine GSTO1 ve GSTK1 izozimleri immunohistokimyasal olarak uygulandı, diğer 1 kesite ise negatif antikorsuz kontrol noyanması yapıldı.

Çalışmaya konu olan Kolon Adenokarsinomlu hastanın 7 (%14,89)'u Azdiferansiyel Adenokarsinom, 16 (%34,04)'ü Orta Diferansiye Adenokarsinom, 24 (%51,06)'sı İyi

Diferansiye Adenokarsinom şeklinde tümör alt tiplerine ayrılmaktadır. Hastaların yaş ortalamaları  $68,34 \pm 12,86$  olup, 47 hastanın 21 (%44,68)'ini kadınlar geri kalan kısmını ise 26 (%55,31) erkekler oluşturmaktadır. Hastaların geneline bakıldığında 18 hasta (38,29), hastalık teşhisleri konulduğu güne kadar sigara içmekteyken 29 (%61,7) hasta ise hayatları boyunca sigara içmediği bilinmektedir (Çizelge 2.2.).

**Çizelge 2.1.** Tez çalışmasına konu olan kolon kanserli hastaların klinik bilgileri

		<b>kolon adenokarsinom</b>	
		<b>N</b>	<b>%</b>
		47	100
<b>Tümör Tip</b>	<b>Az diferansiye</b>	7	14,89
	<b>Orta diferansiye</b>	16	34,04
	<b>İyi diferansiye</b>	24	51,06
<b>Yaş</b>		68,34±12,86	
<b>Cinsiyet</b>	<b>Kadın</b>	21	44,68
	<b>Erkek</b>	26	55,31
<b>Sigara</b>	<b>İçen</b>	18	38,29
	<b>İçmeyen</b>	29	61,7

Çalışmaya konu olan Mide Kanser'li hastanın yaş ortalamaları  $68,34 \pm 12,86$  olup, 47 hastanın 13'ü (%32,5)'ini kadınlar geri kalan kısmını ise 27 (%67,5)'ini erkekler oluşturmaktadır (Çizelge2.3).

**Çizelge2.2.** Tez çalışmasına konu olan kolon kanserli hastaların klinik bilgileri

		<b>Mide Adenokarsinom</b>	
		<b>N</b>	<b>%</b>
		40	100
<b>Yaş</b>		67,07±10,75	
<b>Cinsiyet</b>	<b>Kadın</b>	13	32,5
	<b>Erkek</b>	27	67,5

## 2.2.2. İmmünohistokimya 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 1dakika

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

Poly-L-lysin kaplı lamlara alınan doku kesitleri deparafinizasyon işleminden sonra immunohistokimya (IHC) yöntemi ile mide kanserli hastalar için GSTO1 1:250, GSTK1 1:400 ve kolon kanserli hastalar için GSTO1 1:250, GSTK1 1:400 dilüsyonlarında bölüm 2.1.3.'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 olmaması durumu (-), hafif boyanma (+1), orta şiddette boyanma (+2), şiddetli boyanma (+3) olarak değerlendirme yapıldı.

### **1.3 İstatiksel Analiz**

Çalışmada kullanılan II. Faz enzimlerinden GSTO1 ve GSTK1 izoenzimlerinin protein ekspresyon farklılıkları MINITAB 14 istatistik yazılım programında Mann-Whitney U Test ile incelendi. Protein ekspresyonları ile hastaların klinik verileri arasındaki ilişkiler Pearson Correlation Analiz ile incelendi. Sonuçlar %95'lik güvenilirlik düzeyinde  $p < 0,05$  için anlamlı kabul edildi.

### 3. BULGULAR

Genel olarak II. Faz izozimlerinden GSTO1 izoziminin kolon kanserli hastalarda protein ifadelerinin görüldüğü hastalar incelendiğinde 47 hastadan 42 (%89,36)'sında, GSTK1 izoziminin kolon kanserli hastalarda protein ifadelerinin görüldüğü hastalar incelendiğinde 47 hastadan 45 (%95,74)'ünde tümörlü ve normal dokularının en az birinde ya da her ikisinde protein ifadelerinin olduğu görüldü (Çizelge 3.1).

**Çizelge 3.1.** Kolon Adenokanser'li hastaların tümörlü ve normal dokularında GSTO1 ve GSTK1 ekspresyonları

	GSTO1			GSTK1	
	Total (n)	Tümör (n)	%*	Tümör (n)	%
<b>Kolon Ca</b>	47	42	89,36	45	95,74

Boyama skorları, pozitif boyanmış neoplastik (tümör dokusu) ve non-neoplastik (kontrol:kolon epitel dokuları epitel dokuları) hücrelerin boyanma şiddetine göre hesaplanmıştır. Buna göre 0; protein ekspresyonugörülme, 1; hafif şiddette protein ekspresyonu, 2; orta şiddette protein ekspresyonu ve 3; şiddetli protein iekspresyonu şeklinde derecelendirildi.

\*: Yüzdeler satırlara göre verilmiştir.

Tümörlü ve normal dokular eşleştirilerek II. Faz izozimlerinin protein ekspresyonlarına bakıldığında 47 Kolon Adenokanserli hastadan; GSTO1 izoziminin 27 hastada (%57,44), GSTK1 izoziminin 36 hastada (%76,6) tümörlü dokularında normal dokularına oranla daha fazla eksprese olduğu görüldü(Çizelge 3.2).

**Çizelge 3.2.** GSTO1 ve GSTK1'in tümörlü dokularda normale oranla daha fazla eksprese olmuş hasta sayısı

	GSTO1			GSTK1	
	Total (n)	Tümör (n)	%*	Tümör (n)	%
<b>Kolon Ca</b>	47	27	57,44	36	76,6

Boyanma skorları, pozitif boyanmış neoplastik (tümör dokusu) ve non-neoplastik (kontrol:kolon epitel dokuları epitel dokuları) hücrelerin boyanma şiddetine göre hesaplanmıştır. Buna göre 0; protein ekspresyonugörülme, 1; hafif şiddette protein ekspresyonu, 2; orta şiddette protein ekspresyonu ve 3; şiddetli protein ekspresyonu şeklinde derecelendirildi.

\*: Yüzdeler satırlara göre verilmiştir.

Dokular Az Diferansiye Adenokarsinom, Orta Diferansiye Adenokarsinom ve iyi Diferansiye Adenokarsinom olarak tümör tiplerine göre gruplandığında, 7 Az Diferansiye Adenokarsinom'lu hastadan 3'ünde (%42,86), 16 Orta Diferansiye Adenokarsinolu hastadan 12'sinde (%75), 24 İyi Diferansiye Adenokarsinomlu hastadan 13'ünde (%54,16) GSTO1 izoziminin protein ekspresyonu tümörlü dokularında normal dokularına oranla daha fazla eksprese olduğu görüldü (Çizelge 3.3); 7 Az Diferansiye Adenokarsinom'lu hastadan 5'inde (%71,42), 16 Orta Diferansiye Adenokarsinolu hastadan 14'ünde (%87,5), 24 İyi Diferansiye Adenokarsinomlu hastadan 17'sinde (%70,83) GSTK1 izoziminin protein ekspresyonu tümörlü dokularında normal dokularına oranla daha fazla eksprese olduğu görüldü (Çizelge 3.3.).

**Çizelge 3.3.** Kolon Adenokarsinomun alt tiplerinde tümörlü ve normal dokular eşleştirildiğinde GSTO1 ve GSTK1 izozimlerinin protein ekspresyonlarının yüksek olduğu tümörlü dokuların sayıları ve yüzde oranları

	GSTO1			GSTK1	
	Total(n)	Tümör (n)	%*	Tümör (n)	%
<b>Az Diferansiye</b>	7	3	42,86	5	71,42
<b>Orta Diferansiye</b>	16	12	75	14	87,5
<b>İyi Diferansiye</b>	24	13	54,16	17	70,83

Boyanma skorları, pozitif boyanmış neoplastik (tümör dokusu) ve non-neoplastik (kontrol:kolon epitel dokuları) hücrelerin boyanma şiddetine göre hesaplanmıştır. Buna göre 0; protein ekspresyonugörülme, 1; hafif şiddette protein ekspresyonu, 2; orta şiddette protein ekspresyonu ve 3; şiddetli protein ekspresyonu şeklinde derecelendirildi.

\*: Yüzdeler satırlara göre verilmiştir.

Kolon kanseri ve normal dokularında GSTO1 ve GSTK1 izozimlerinin protein ifadelerinin boyanma derecesindeki farklılıklar istatistiksel olarak incelendiğinde; GSTO1 ve GSTK1 izozimlerinin protein ekspresyonlarının tümörlü dokularda normal dokulara oranla daha fazla olduğu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p=0,0000<0,05$ ).

Kolon kanserinde tümör alt tiplerinde proteinleri ekspresyon farklılıklarını incelendiğinde; Az Diferansiye Adenokarsinom' da GSTO1 tümör ve normal dokularda ekspresyonel açıdan farklılık göstermezken ( $p=0,25> 0,05$ ), GSTK1'in tümörlü dokularında normal dokulara oranla daha fazla eksprese olduğu istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p=0,035< 0,05$ ). Orta Diferansiye Adenokarsinomlu hastaların tümörlü dokularında GSTO1 ( $p=0,0023< 0,05$ ) ve GSTK1 ( $p= 0,0044< 0,05$ ) izozimlerinin protein ekspresyonlarının tümörlü dokularda, normal dokulara oranla daha fazla istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Aynı şekilde İyi Diferansiye Adenokarsinomlu hastaların tümörlü dokularında GSTO1 ( $p= 0,0126 < 0,05$ ) ve GSTK1 ( $p=0,0001< 0,05$ ) izozimlerinin protein ekspresyonlarının, normal dokulara oranla daha fazla olduğu istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Çizelge 3.4).



**Çizelge 3.4.** Kolon Adenokarsinomlu hastaların tümörlü ve normal dokularında GSTO1 ve GSTK1 izozimlerinin protein ekspresyonları

	GSTO1			GSTK1			
	N	Tümör	Normal	T/N* P** değeri	Tümör	Normal	T/N P değeri
<b>Kolon Ca</b>	47	1,34±0,11 <sup>a</sup> (0-3) <sup>b</sup>	0,62±0,094 (0-2)	2,16 <b>0,0000</b>	2,10±0,12 (0-3)	1,00±0,1 2 (0-3)	2,10 <b>0,0000</b>
<b>Az diferansiy e</b>	7	1,14±0,1 4 (1-2)	0,71±0,18 (0-1)	1,60 0,2502	1,71±0,36 (0-2)	0,57±0,20 (0-1)	3 <b>0,0350</b>
<b>Orta diferansiy e</b>	16	1,56±0,2 0 (0-3)	0,56±0,1 6 (0-2)	2,78 <b>0,0023</b>	2,06±0,25 (0-3)	0,87±0,23 (0-3)	2,38 <b>0,0044</b>
<b>İyi diferansiy e</b>	24	1,25±0,1 6 (0-3)	0,62±0,14 (0-2)	2,016 <b>0,0126</b>	2,25±0,1 4 (1-3)	1,20±0,15 (0-3)	1,87 <b>0,0001</b>

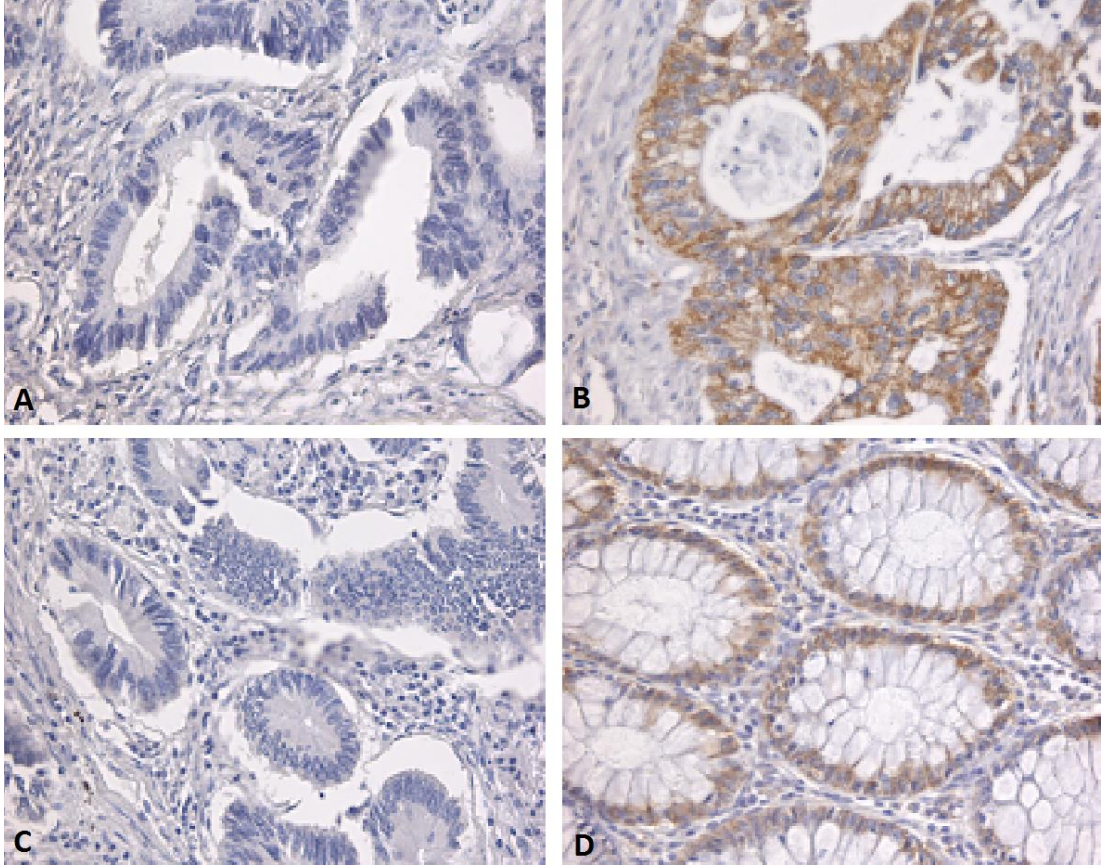
Boyanma skorları, pozitif boyanmış neoplastik (tümör dokusu) ve non-neoplastik (kontrol: kolon epitel dokuları) hücrelerin boyanma şiddetine göre hesaplanmıştır. Buna göre 0; protein ekspresyonu görülmeyen, 1; hafif şiddette protein ekspresyonu, 2; orta şiddette protein ekspresyonu ve 3; şiddetli protein ekspresyonu şeklinde derecelendirildi. Tümör ve Normal dokular arasındaki protein ifadelerinin farklılıkları Mann-Whitney U Test ile %95'lik güvenilirlik düzeyinde incelendi.

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

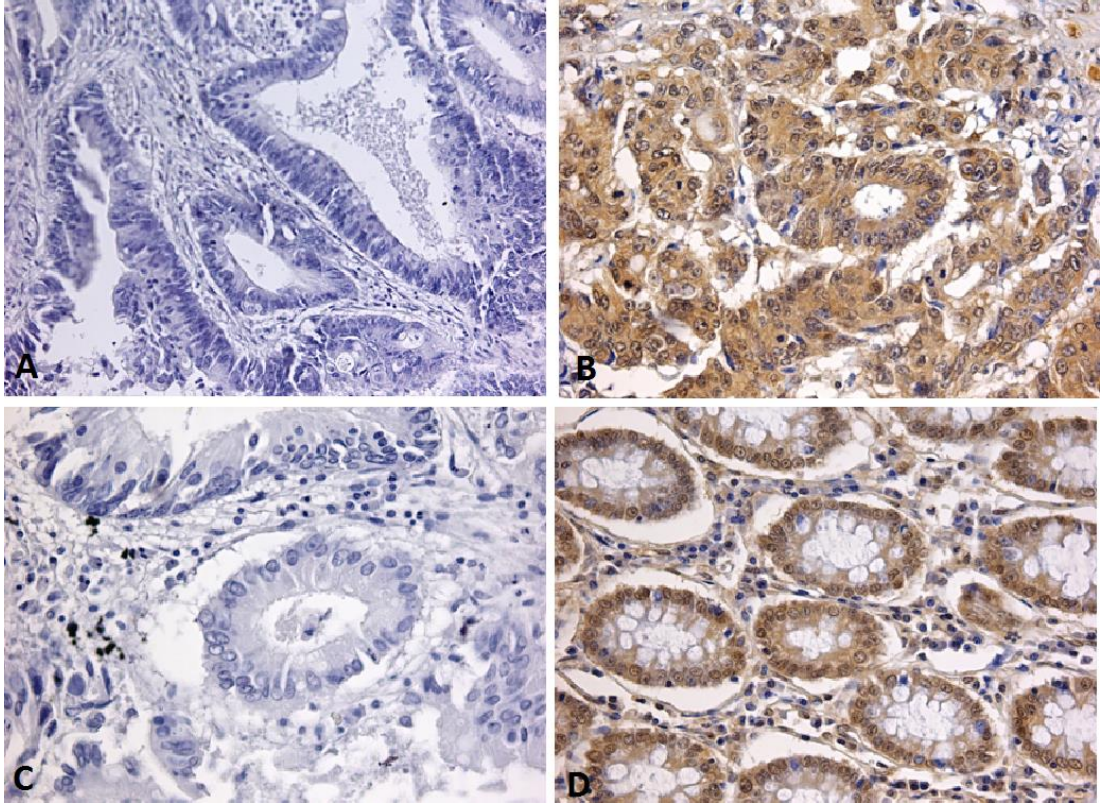
a: ortalama değer±standart hata

b: minimum ve maksimum boyama şiddeti

\*: Tümör/Normal oranı



**Şekil 3.1.** Tümörlü ve normal dokularda immunohistokimyasal GSTK1 proteini (**A:** Kolon adenokanserli dokuda GSTK1 antikorsuz negatif kontrol boyaması, 400X; **B:** Kolon adenokanserli dokuda GSTK1 proteinin ekspresyonu 400X; **C:** Kolon normal dokusunda GSTK1 antikorsuz negatif kontrol boyaması, 400X, **D:** Kolon normal dokusunda GSTK1 protein ekspresyonu 400X)



**Şekil 3.2.** Tümörlü ve normal dokularda immunohistokimyasal GSTO1 proteini (**A:** Kolon adenokanserli dokuda GSTO1 antikorsuz negatif kontrol boyaması, 400X; **B:** Kolon adenokanserli dokuda GSTO1 protein ekspresyonu, 400X; **C:** Kolon normal dokusunda antikorsuz negatif kontrol boyaması, 400X, **D:** Kolon normal dokusunda GSTO1 pteirini ekspresyonu, 400X)

Genel olarak II. Faz izozimlerinden sitozolik GSTO1 izoziminin mide kanserli hastalarda protein ekspresyonlarının görüldüğü hastalar incelendiğinde 40 hastadan 39 (%97,5)'inde, mitekondriyal GSTK1 izoziminin mide kanserli hastalarda protein ekspresyonlarının görüldüğü hastalar incelendiğinde 40 hastadan 39 (%97,5)'inde tümörlü ve normal dokularının birinde ya da her ikisinde protein ifadelerinin olduğu görüldü (Çizelge 3.5).

**Çizelge3.5.** Mide Kanser’li hastaların tümörlü ve normal dokularında GSTO1 ve GSTK1 ekspresyonları

	GSTO1			GSTK1	
	Total (n)	Tümör (n)	%*	Tümör (n)	%
<b>Mide Ca</b>	40	39	97,5	39	97,5

Boyanma skorları, pozitif boyanmış neoplastik (tümör dokusu) ve non-neoplastik (kontrol:mide epitel dokuları ) 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 iekspresyonu şeklinde derecelendirildi.

\*: Yüzdeler satırlara göre verilmiştir.

Tümörlü ve normal dokular eşleştirilerek II. Faz izozimlerinin protein ekspresyonlarına bakıldığında 40 Mide Kanser’li hastadan; GSTO1 izoziminin 20 hastada (%50), GSTK1 izoziminin 27 hastada (%67,6) tümörlü dokularında normal dokularına oranla daha fazla eksprese olduğu görüldü (Çizelge 3.2).

**Çizelge 3.6.** GSTO1 ve GSTK1'in tümörlü dokularda normale oranla daha fazla eksprese olmuş hasta sayısı

	GSTO1			GSTK1	
	Total (n)	Tümör (n)	%*	Tümör (n)	%
<b>Mide Ca</b>	40	20	50	27	67,6

Boyanma skorları, pozitif boyanmış neoplastik (tümör dokusu) ve non-neoplastik (kontrol; mide epitel dokuları ) 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.

\*: Yüzdeler satırlara göre verilmiştir.

İmmunohistokimyasal skorlamalarının ortalamalarına göre Mide Kanser’li hastalarda tümörlü ve normal dokular arasındaki protein ifadelerinin farklılıkları incelendiğinde; GSTO1 ve GSTK1 izozimlerinin protein ekspresyonlarının tümörlü dokularda normal dokulara oranla daha fazla olduğu bulunmuştur(p=0,0008<0,05; p=0,0000<0,05).Çizelge 3.7 de detaylı olarak gösterilmiştir.

**Çizelge 3.7.** Mide Kanser'li hastaların tümörlü ve normal dokularında GSTO1 ve GSTK1 izozimlerinin protein ekspresyonları

	GSTO1			GSTK1			
	n	Tümör	Normal	T/N* P** değeri	Tümör	Normal	T/N P değeri
<b>Mide</b>		1,92±0,12				1,27±0,1	
<b>Ca</b>	40	<sup>a</sup>	1,20±0,13	1,6	2,20±0,13	4	1,73
<b>Total</b>		(0-3) <sup>b</sup>	(0-3)	<b>0,0008</b>	(0-3)	(0-3)	<b>0,0000</b>

Boyanma skorları, pozitif boyanmış neoplastik (tümör dokusu) ve non-neoplastik (kontrol: kolon epitel dokuları) hücrelerin boyanma şiddetine göre hesaplanmıştır. Buna göre 0; protein ekspresyonu görülmemeyen, 1; hafif şiddette protein ekspresyonu, 2; orta şiddette protein ekspresyonu ve 3; şiddetli protein ekspresyonu şeklinde derecelendirildi. Tümör ve Normal dokular arasındaki protein ifadelerinin farklılıkları Mann-Whitney U Test ile %95'lik güvenilirlik düzeyinde incelendi.

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

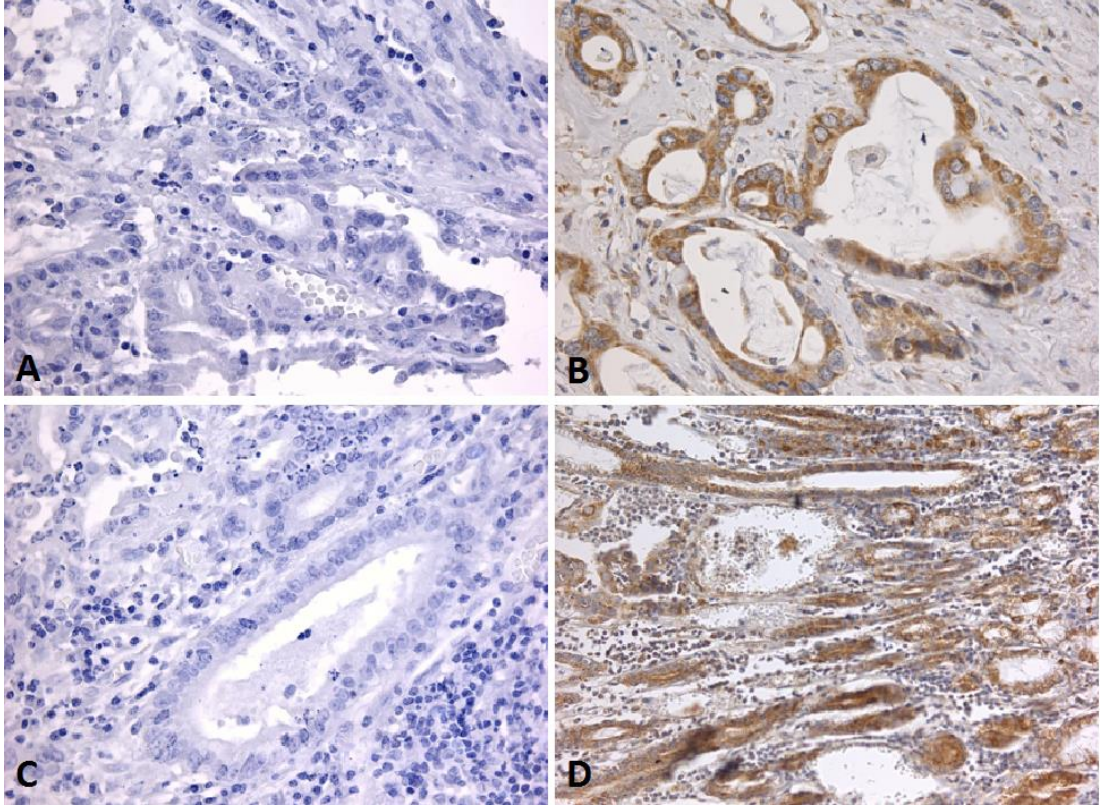
a: ortalama değer±standart hata

b: minimum ve maksimum boyama şiddeti

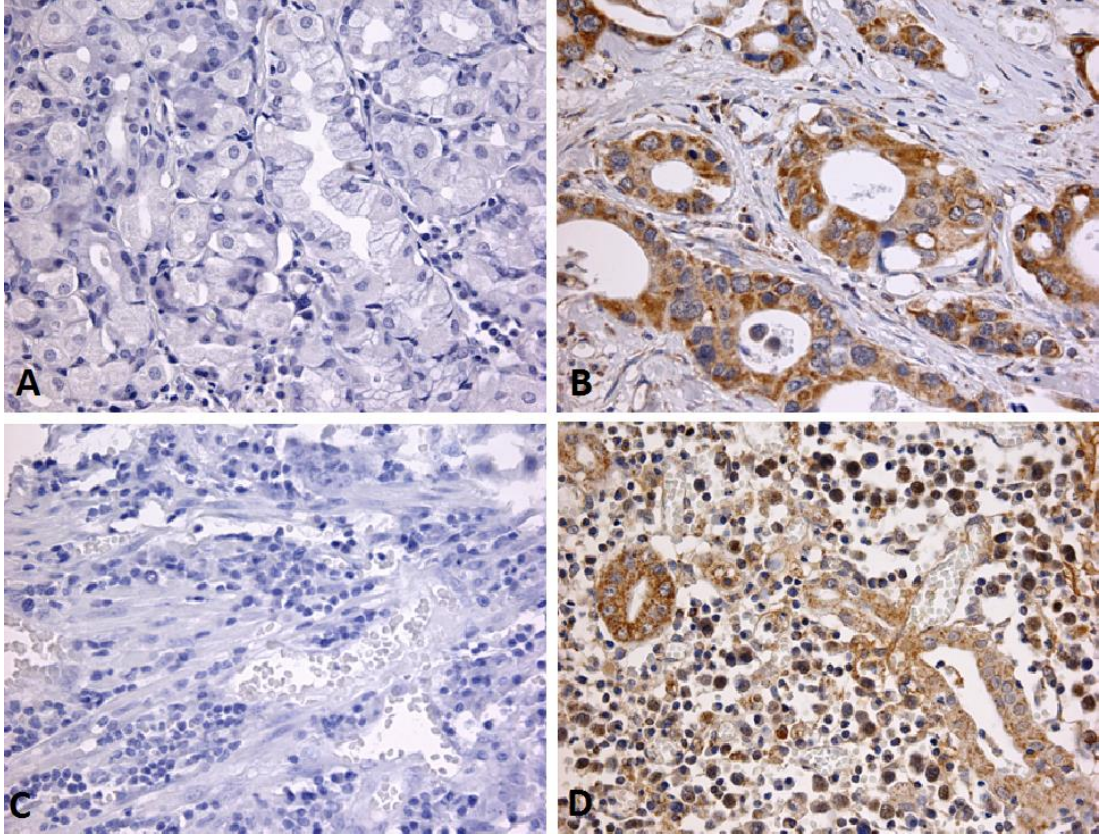
\*: Tümör/Normal oranı

Mide ve kolon kanserli hastaların dokularında protein ekspresyonları karşılaştırıldığında GSTO1 izoziminin protein ekspresyonu kolon kanserli dokulara oranla daha fazla olduğu istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p=0,0021<0,05$ ). Mide ve Kolon adenokanserli dokularda GSTK1 izoziminin protein ekspresyonu karşılaştırıldığında aralarında ekspresyonel farklılıklar görülmedi ( $p=0,5740<0,05$ ).

Klinik parametreler incelendiğinde GSTO1 ve GSTK1 izozimlerinin ekspresyonları ile kolon kanserli hastaların yaş, sigara içimi ve cinsiyetleri ve tümör dokuları arasında herhangi bir ilişki bulunamadı ( $p=0,477$ ;  $0,733$ ;  $0,0793>0,05$ ), ( $p=0,439$ ;  $0,110$ ;  $0,439$ ).



**Şekil 3.3.** Tümörlü ve normal dokularda immunohistokimyasal GSTK1 proteini (**A:** Mide kanserli dokuda GSTK1 antikorsuz negatif kontrol boyaması, 400X; **B:**Mide kanserli dokuda GSTK1 protein ekspresyonu 400X; **C:** Mide normal dokusunda GSTK1 antikorsuz negatif kontrol boyaması, 400X, **D:** Mide normal dokusunda GSTK1 protein ekspresyonu 400X)



**Şekil 3.4.** Tümörlü ve normal dokularda immunohistokimyasal GSTO1 proteini (**A:** Mide kanserli dokuda GSTO1 antikorsuz negatif kontrol boyaması, 400X; **B:**Mide kanserli dokuda GSTO1 proteinin ekspresyonu 400X; **C:** Mide normal dokusunda GSTO1 antikorsuz negatif kontrol boyaması, 400X, **D:** Mide normal dokusunda GSTO1 proteinin ekspresyonu 400X).

#### 4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Vücuda giren yabancı maddelerin, kimyasal maddelerin veya metabolit ürünlerin biyotransformasyon ile toksisitesi azaltılırsa detoksifikasyon mekanizmasıyla vücuttan uzaklaştırılır bazen de biyotransformasyon sonucunda aktif ara ürünler meydana gelir, bu durumda toksikasyon ya da bir başka deyişle biyoaktivasyon meydana gelir[12]. Detoksifikasyon metabolizmasında bir çok enzim görev almaktadır, başlıca iki basamakta gerçekleşen bu metabolizma da enzimlerin substraları maddelerin dışarı atılmasında önemli rol oynarlar bu sebeple Faz II reaksiyonlarından GST'ler büyük önem taşımaktadır. GST enzimlerinin birçok substratı bulunmaktadır ve bu enzimler kimyasal madde ve ilaçların öncü bileşikleri olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir [58].

Glutasyon S-transferazlar, elektrofilik ve hidrofilik bileşiklerin glutasyon ile etkileşimlerini sağlayarak, hücrel makromolekülleri reaktif elektrofillere karşı koruyan II. Faz detoksifikasyon enzim ailesi üyesidir [52]. Kemoterapötik ilaçlar, karsinogenler, çevre kirliliği etkenleri ve ksenobiyotikler ile glutasyon arasında konjugasyonu katalizleyen dimerik enzimler ailesidir. GST, reaktif oksijen radikallerinin ve sigara tütününde bulunan karsinogenlerin detoksifikasyonunda önemli bir role sahiptir [53,54].

Yapılan bu tez çalışmasında GSTO1 ve GSTK1 izozimleri çalışılmıştır. GSTK1'in GSTK1-1 ve GSTK2 olmak üzere iki adet izoenzimi bulunmaktadır. Glutasyon transferaz (GST) kappa mitokondriyal GST olarakta bilinir. Hücrede mitokondri ve peroksizomlarda bulunur.

GSTK 'nın insülin resistansı, obesite ve diyabette de rolü olduğu daha önceden yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada fare ve insan yağ dokusunda GSTK1 obesite ile negatif korelasyon gösterdiği vurgulanmış ve tedavi yaklaşımlarında önemli bir role sahip olabileceği eklenmiştir. Yapılan bu çalışmayla GSTK1'in metabolik hastalıklarda rolü olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmaya ilave olarak, GSTK1 polimorfizm çalışmaları, insülin salınımı ve yağ depolamanın ilişkili



olduğunu göstermiştir. GSTK1-1' in insanda obesite ile negatif olarak ilişkilendirmesi ve insülin direnci hastalığının tedavisinde geliştirilen ilaçlar için hedef olarak düşünülmesi, yapılan bu tez çalışması için referans olmuş, bu enzimin protein ifadesinin kanser oluşumuna etkisi çalışılmıştır [90-93]. Literatüre bakıldığında bu enzim ile ilgili çok fazla protein ifadesi çalışması bulunmamakla birlikte çalışmaya konu olan kolon ve mide kanserinin bu enzim ile ilgili hemen hemen hiç literatür bilgisi bulunmamaktadır. Ancak 2013 yılında Oğuztüzün ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada bu enzimin tiroid kaserinde ekspresyonlarına bakılmış ve benign tiroid hastalıklarındaki ifadeleri ile karşılaştırılmıştır. Yapılan çalışmada, tümörlü dokularda GSTK1 izoziminin ifadesini diğer dokulara göre istatistiksel olarak anlamlı bulmuştur. Yapılan bu çalışmada da GSTK1 izoziminin kolon ve mide kanserli dokulardaki ekspresyonu sağlıklı mide ve kolon hastalarına ait dokulara oranla anlamlı bulunmuştur.

Çalışmaya konu olan bir diğer enzim; GSTO 'nın ise GSTO1 ve GSTO2 olmak üzere iki izoenzimi bulunmaktadır. Omega sınıfı indirgeme reaksiyonlarını kataliz eder. İlaç dirençliliğinde, radyasyon dirençliliğinde, içme suyuyla arseniği indirmede, oksidatif strese rolü olduğu gibi alzaymır, Parkinson, sinir sistemi hastalıklarında da koruyucu role sahiptir. Yapılan çalışmalarda kanserde rolü olduğu tespit edilmiştir [85-89].

Literatüre bakıldığında GSTO1-1 izoziminin immünohistokimya yöntemiyle insan normal dokularda dağılımlarına bakılmış ve karciğerde, makrofajlarda, glia hücrelerinde, meme miyoepitel hücrelerinde kolon nöroendokrin, hepatosit, safra, pankreas epitelinde, tiroid foliküler ve C- hücrelerinde ekspresyon olduğunu göstermişlerdir. Bu bulgular GSTO1-1 in bu dokularda fonksiyonunun olduğunu göstermiştir [87]. Ancak GSTO1'inde tıpkı GSTK1 gibi literatürde kanserli dokulara ait protein ifadesi ile ilgili çalışmaya rastlanamamıştır. GSTO'nun ilaç dirençliliğinde rol alıyor olması kanserde kullanılan ilaçlara da direnç gösterebilme olasılığını ortaya çıkarmaktadır. Literatürde kanserli dokuda ki protein ifadesi için yine Oğuztüzün ve ark. 2013 yılında tiroid kanserli hastalarda yaptıkları çalışmada GSTO1 'in kanserli dokularda benign dokulara göre daha fazla ifade edildiğini belirtmişlerdir. Yapılan u tez çalışmasında da GSTO1 'in protein ifadesi kolon ve mide kanserli dokularda

sağlıklı bireklerdeki kolon ve mide dokularına oranla daha fazla olduğu istatistiksel olarak gösterilmiştir.

Literatür incelendiğinde mide ve kolon kanserli dokularda GST enzimlerinin GSTO1 ve GSTK1 izozimleri ile ilgili protein ekspresyonu çalışmasına rastlanılmamıştır ancak 2013 yılında Moran ve ark. GST enziminin diğer üyelerinden GSTP1 ve GSTT1 'in kolon ve mide kanserli dokularda yaptıkları protein ekspresyon çalışmasında bu izozimlerin protein ifadelerini normal dokulardaki protein ifadelerine oranla anlamlı olduklarını bulmuşlardır.

Yapılan bu tez çalışmasında 47 kolon adenokanserli ve 40 mide adenokanserli hastanın GSTO1 ve GSTK1 izozimlerinin ekspresyonları değerlendirilmiştir. Mide ve kolon adenokanserli dokularında, GSTO1 ve GSTK1 izozimlerinin ekspresyonları normal dokulara oranla daha fazla olduğu bulunmuştur ( $p=0,0008;0,0000<0,05$ ); ( $p=0,0000, 0,0000<0,05$ ). Literatüre bakıldığında mide ve kolon kanserlerinde GSTO1 ve GSTK1'in protein ekspresyonlarıyla ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanamamıştır. İlk defa bu çalışmada mide ve kolon kanserlerinde GSTO1 ve GSTK1' in protein ekspresyonları gösterilmiştir. GSTO1 ve GSTK1'in klinik bilgilerle de ilişkisine bakılmak istenmiş ancak elimizde yeterli bilgi bulunmadığından mide kanserli hastalar için bu sonuçlar karşılaştırılamamıştır, kolon kanserli hastaların da yaş, cinsiyet, sigara içimi kolon kanser gelişimiyle ilgili istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar bulunamamıştır. Sigara içimi kolon kanseri için önemli bir etyolojik faktör olmasına karşın yapılan tez çalışmasında bir ilişki bulunamamasının sebebi olarak; hastaların eşhis koyulduktan sonra ameliyat olana kadar sigara içimini bırakıp eski içici olarak gözükmeleri bu sebeple de istatistik çalışmaların katılamamaları olabileceği gibi; hasta sayısının az olması da sebepler arasında olabileceği düşüncesindeyiz.

Kolon ve mide kanserinin gelişmesi ve ortaya çıkması için literatürde ortaya çıkan yaş ortalaması bizim gruplarımız için de geçerliliğini korumaktadır. Bu da kolon ve mide kanserinin ağırlıklı olarak ileri yaşlarda ortaya çıkan bir hastalık olduğu hipotezini de devam ettirmektedir.

Yapılan bu tez çalışmasında kullanılan dokular kemoterapi almamış hastalara aittir. GSTO ve GSTK izozimlerinin mide ve kolon kanserlerinin oluşumundaki önemi bu çalışmayla ilk olarak ortaya konmuştur. Bu izozimlerin substratları ve kanser ilaçlarının önü maddeleri karşılaştırılmalı ve eşleşmesi durumunda karşılaşılan ilacın verilmemesi çünkü verilen ilaca karşı hücrelerin bu enzimler sayesinde bir direnç göstereceği düşüncesindeyiz. Ayrıca elimizde yeterli hasta sayısı olmadığından klinik parametreler ve hasta prognozları hakkında net bilgiye ulaşılamadığından bu izozimlerin diğer kanser çeşitlerinde de daha fazla hasta grubuyla çalışılması ve hasta klinik parametreleriyle karşılaştırılarak hastalığın prognozuna katkıda bulunulması gerektiği düşüncesindeyiz.

## KAYNAKLAR

- [1] Türkiye Kanserle Savaş Vakfı <http://www.kanservakfi.com/kanser-nedir--108.html> (erişim tarihi 02.05.2014)
- [2] Biotransformation of xenobiotics. Casarett and Doull' s essentials of Toxicology, (Ed. Klacssen C. D. ve Watkins J. B.) *The Mcgraw- Itill Company*: 71-97. 2010
- [3] Berkarda, B. , Meme kanserine giriş, İstanbul İ.Ü. Basımevi, 3-5 s. 2000
- [4] Sundberg, Kathrin, et al. "Differences in the catalytic efficiencies of allelic variants of glutathione transferase P1-1 towards carcinogenic diol epoxides of polycyclic aromatic hydrocarbons." *Carcinogenesis* 19.3: 433-436., 1998
- [5] Brownawell, Amy M., et al. "The potential adverse health effects of dental amalgam." *Toxicological reviews* 24.1: 1-10. 2005
- [6] Hegewisch, S., H. J. Weh, and D. K. Hossfeld. "TNF-induce cardiomyopathy." *Lancet* 335.8684: 294. 1990
- [7] Hegewisch, S., H. J. Weh, and D. K. Hossfeld. "TNF-induce cardiomyopathy." *Lancet* 335.8684: 294. 1990
- [8] Parkin, D. Max, et al. "Global cancer statistics, 2002." *CA: a cancer journal for clinicians* 55.2: 74-108.2005

- [9] T.C. Sağlık Bakanlığı, Sağlık İstatistikleri Yıllığı 2012). <http://sbu.saglik.gov.tr/Ekutuphane/kitaplar/istaturk2012.pdf> (erişim tarihi: 15.03.2014)
- [10] Doll R, Peto R, Boreham J, et al. Mortality in relation to smoking: 50 years observations on male British doctors. *BMJ*; 328:1519-28. 2004
- [11] Oğuztüzün, Serpil, et al. "Endüstriyel Kimyasallara Maruz Kalan İşçilerin Mesane Kanserine Yakalanma Risklerinin Değerlendirilmesi." *TAF Preventive Medicine Bulletin* 9.6.2010
- [12] Vural, Nevin. "Toksikoloji." *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları* 73: 44-81. 2005
- [13] Kayaalp, S. O., Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi farmakoloji, 1. Cilt, Güneş Yayınevi, 1994.
- [14] M. KILIÇ, Küçük Hücreli Dışı Akciğer Karsinomunda Sitokrom P450 (CYP) ve Glutatyon S Transferaz İzozimlerinin Gen ve Protein Ekspresyonlarının İncelenmesi Doktora Tezi, Kırıkkale Üniversitesi Temmuz, 2013
- [15] Lee M, Han WS, Kim OK, Sung SH, Cho MS, Lee SN. Prognostic value of p16INK4a and p14ARF gen hypermethylation in human colon cancer. *Pathol Res Pract*; 202: 415-424. 2006
- [16] Fenoglio- Preiser CM, Noffsinger AE, Stemmermann GN, Lantz PE, Listrom MB, Rilke FO. Carcinomas and other epithelial and neuroendocrine tumors of the large intestine. In: *Gastrointestinal pathology an atlas and text*. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers: 909-1068, 1999

- [17] John K. Wiencke, Shichun Zheng, Amalia Lafuente, Maria Jose Lafuente, Corita Grudzen, Margaret R. Wrensch. Aberrant methylation of p16INK4a in anatomic and gender-specific subtypes of sporadic colorectal cancer. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*; 8: 501-506. 1999
- [18] Akan M: Dimetilhidrazinle induklenmiş deneysel kolon kanserinde, disulfiramın kemoprevatif etkisi. Uzmanlık tezi. Taksim Hastanesi 1.Cerrahi Kliniği, İstanbul 1997
- [19] Fenoglio-Presier CM, Pascal RR, Perzin KH. Tumors of the Large and Small Intestine, *AFIP Fascicle, 2nd Series*, 34:261-2, 1990
- [20] Jiang Y, Mackley H, Cheng H, Ajani JA. Use of K-Ras as a predictive biomarker for selecting anti-EGF receptor/pathway treatment. *Biomark Med*, Aug;4(4):535-41. 2010
- [21] Alavanja MCR, Sandler DP, Lynch CF, Knott C, Lubin JH, Tarone R. Cancer incidence in the Agricultural Health Study. *Scandinavian Journal of Work, Environment and Health*; 31(suppl 1): 39-45. 2005
- [22] Keskin, Özge, and Sercan Aksoy. "Meslek ilişkili kanserler. *Hacettepe Tıp Dergisi*; 42:173-179. 2011
- [23] Özden A, Şahin B, Yılmaz U, Soykan İ (Editörler). Gastroenteroloji. In: Özbakır Ö, Yücesoy M. *Kolon Polipleri ve Polipozis Sendromları*. 1 ncı baskı. Ankara: Fersa Matbaacılık, 309-317. 2002
- [24] Kessler H, Mansmann U, Hermanek P Jr., et al. for the Study Group Colo-Rectal Carcinoma (SGCRC). Does the surgeon affect outcome in colon carcinoma? *Semin Colon Rectal Surg*; 9:233-240. 1998

- [25] Ponz de Leon M, Scapoli C, Zanghieri G, et al. Genetic transmission of colorectal cancer: exploratory data analysis from a population based registry. *J Med Genet* ;29:531. 1992
- [26] Harris MJ, Coggan M, Langton L, Wilson SR, Board PG. Polymorphism of the Pi class glutathione S-transferase in normal populations and cancer patients. *Pharmacogenetics*; 8:27., 1998.
- [27] Compton CC, Greene FL. The staging of colorectal cancer and beyond. *CA Cancer J Clin* 2004;54(6):295-308.
- [28] Kessler H, Mansmann U, Hermanek P Jr., et al. for the Study Group Colo-Rectal Carcinoma (SGCRC). Does the surgeon affect outcome in colon carcinoma *Semin Colon Rectal Surg* 1998; 9:233-240
- [29] K peliog lu AA. Kolorektal Kanserde Histopatoloji, Kolorektal  zel Sayısı. *Türkiye Klinikleri Journal of Surgery*;9:25-7 2004.
- [30] Doğusoy G. Kolon Kanserinin Patolojik  zellikleri. Alemdaroğlu K, Akçal T, Buğra D (Editörler). *Kolon Rektum ve Anal Bölge Hastalıkları*. İstanbul: Türk Kolon ve Rektum Cerrahi Derneği;.s.413-20., 2003
- [31] Cusack JC, Giacco GG, Cleary K, et al. Survival factors in 186 patients younger than 40 years old with colorectal adenocarcinoma. *J Am Coll Surg* 1996;183:105
- [32] Messerini L, Palomba A, Zampi G. Primary signet-ring cell carcinoma of the colon and rectum. *Dis Colon Rectum* 1995;38:1189.
- [33] Kuzu, Işınsu Kuzu dr M. Ayhan. "Kolorektal Kanser Patolojisi Histopatolojik Rapor, Evreleme ve Prognostik Fakt rler.", *Türk Kolon ve Rektum Cerrahisi Dergisi*,23:9-21.; 2012

- [34] Riddell RH, Petras RE, Williams GT, Sobin LH. Armed Forces Institute of Pathology. Atlas of Tumor Pathology, 3rd Series, Fascicle 32. Tumors of the Intestine. Washington: Am Registry Pathology, 2003:133-189
- [35] Farin K, Graça M.D, William F.A. Patterns of Cancer Incidence, Mortality, and Prevalence Across Five Continents: Defining Priorities to Reduce Cancer Disparities in Different Geographic Regions of the World Journal of Clinical Oncology, Vol 24, No 14 (May 10), 2006: pp. 2137-215 )
- [36] Türkiye Sağlık İstatistikleri, Türk Tabipleri Birliği Yayınları Birinci Baskı, 2005;60-61
- [37] Koh T J,Wang TC: Tumors of the stomach. In Gastrointestinal and Liver disease. (Ed) Feldman M,Friedman LS, Sieisenger MH. WB Saunders Company, Philadelphia 2002; 829-55
- [38] Faraji EI, Frank BB: Multifocal atrophic gastritis and gastric carcinoma. Gastroenterol Clin North Am Gastroenterology 2002;31 : 499-516.
- [39] Haenszel W, Kurihara M, Mitsuo S et al. Stomach cancer among Japanase in Hawaii, J. Nat Cancer Inst 1972,49-16.
- [40] Kinet J. The role of migrant population in studies of selected cancer sites. J. Chronic Dis. , 1970,23: 305.
- [41] Rosenwaike T. Cancer mortality among. Puerto Rican-born residents in New York City. Am. J. Epidemiol. 1984,119:177



- [42] Kang SK, Burnett CA, Freund E, et al. gastrointestinal cancer mortality of workers in occupations with high asbestos exposures. *Am J Ind Med* 1997;31:713-718
- [43] Faggiona F, Partenen T, Kogevinas M, et al. Socioeconomic differences in cancer incidence and mortality. *IARC Scientific Publications* 1997;138: 65-176
- [44] Kaplam M., Mide Kanseri: Tanı ve Cerrahi Tedavi., *Gastrointestinal Sistem Hastalıkları Sempozyumu 11-12 Ocak 2001, İstanbul, s. 253-269*
- [45] Miettinen M, Blay JY, Sobin LH. Mesenchymal tumors of the stomach. In: Hamilton RS, Aaltonen LA (eds). *WHO classification tumors of the digestive system*. Lyon: IARC Press, 2000; 62-66
- [46] Takubo K, Honma N, Sawabe M, et al. Oncocytic adenocarcinoma of the stomach: parietal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2002; 26: 458-65.52.
- [47] Moritani S, Sugihara H, Kushima R, et al. Different roles of p53 between Epstein-Barr virus-positive and -negative gastric carcinomas of matched histology. *Virchows Arch*. 2002; 440:367-75.
- [48] Hayes JD, Flanagan JU, Jowsey IR. Glutathione transferases. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*; 45: 51-88., 2005.
- [49] Pemples, Schroeder, K., Spencer, S., Meyer, D., Hallier, H., Bollt, H., Human glutathione S-transferase theta (GSTT1): c DNA cloning and the characterization of genetic polymorphism, *Biochemical Journal*, 282, 305-6 p. 1994
- [50] BOYER, T.D., The Glutathione S-transferases: An Update *Hepatology*, 9 (3), 486-96., 1989

- [51] Strange, R.C., Spiteri, M.A., Ramachandran, S., Fryer, A.A., 2001, Glutathione-S-transferase family of enzymes, *Mutation Research*, 482, 21-6 p.
- [52] Sandra Gottschling, Philipp A. Schnabel, Felix J.F. Herth And Esther Herpel, Are We Missing The Target – Cancer Stem Cells And Drug Resistance In Non-Small Cell Lung Cancer, *Cancer Genomics & Proteomics* 9: 275-286, 2012.
- [53] Figen Hançer, Akciğer Kanserinde Metabolik Polimorfizmin (Gstp1 Ala114val) İlaç Rezistansındaki Rolü, Ankara Üni. Y. Lisans Tezi 2006
- [54] Lafuente A, Pujol F, Carretero P, Villa JP, Cuchi A, Human Glutathione s transferase mu (GST mu) deficiency as a marker for the susceptibility to bladder and larynx cancer among smokers. *Cancer Lett.*, Jan 15;68(1):49-54., 1993
- [55] Commandeur J.N.M, Stijntjes G.J, Vermeulen N.P.E. Enzymes and transport systems involved in the formation and disposition of glutathione S-conjugates. *Phar Rev*, 47, 271-330., 1995
- [56] GULICK, A. M., FAHL W. E. () Mammalian glutathione S-transferase: regulation of an enzyme system to achieve chemotherapeutic efficacy. *Pharmacol. Ther.*, 66: 237-257., 1995.
- [57] E. P. Anton, B. Johannes, G. Arne Vander, J. M. Gerard. *J. Biochem.*, 265, 47-54., 1990.
- [58] Eaton, D.L. And Bammler, T.K. Concise review of glutathione S-transferase and their significance to toxicology. *Toxicological sciences*, 49: 156-164., 1999.

- [59] Goodman, A.G. Gilman. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 7rd Ed., 1638., 1980.
- [60] Booth, J., Boyland, E., Sims, P., An enzyme from rat liver catalysing conjugations with glutathione, *Biochemical Journal*, 79, 516–524 p., 1961.
- [61] Caldeira, J.R.F., Prando, E.C., Quevedo, F.C., Neto, F.A.M., Rainho, C.A., Rogatto, S.R., CDH1 promotor hypermethylation and E-cadherin protein expression in infiltrating breast cancer, *BMC Cancer*, 6, 48 p., 2006.
- [62] Mannervik B, Board PG, Hayes JD, Listowsky I, Pearson WR. Nomenclature for mammalian soluble glutathione transferases. *Methods in Enzymology*; 401, 1-8., 2005.
- [63] Caldeira, J.R.F., Prando, E.C., Quevedo, F.C., Neto, F.A.M., Rainho, C.A., Rogatto, S.R., CDH1 promotor hypermethylation and E-cadherin protein expression in infiltrating breast cancer, *BMC Cancer*, 6, 48 p., 2006.
- [64] Board P.G., Coggan M., Chelvanayagam G., Easteal S., Jermiin L.S., Schulte G.K., et. al., Identification, characterization and crystal structure of omega class glutathione transferases. *J. Biol. Chem.* 275; 24798-24806, 2000.
- [65] Mannervik B., Awasthi Y.C., Board P.G., Hayes J.D., Di Ilio C., Ketterer B., et.al., Nomeclature for human glutathione transferases. *Bichem. J.* 282; 305-308, 1992.
- [66] Seidgard J., Ekstöm G., The role of human GST's and epoxide hyololases in metabolism of xenobiotics. *Environ Health Perspect.* 105 (4): 791, 1997.

- [67] Benson A.M., Talalay P., Role of reduced glutathione in the keto steroid isomerase reaction of liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 6; 1073, 1976.
- [68] Hayes, John D., and David J. Pulford. "The Glutathione S-Transferase Supergene Family: Regulation of GST and the Contribution of the Isoenzymes to Cancer Chemoprotection and Drug Resistance Part I." *Critical reviews in biochemistry and molecular biology* 30.6 (1995): 445-520.
- [69] La Torre G, Boccia S, Ricciardi G. Glutathione S-transferase M1 status and gastric cancer risk: a meta-analysis. *Cancer Lett.* 2005 Jan 10;217(1):53-60. )
- [70] Strange R.C., Fyer A.A., Matterro B., Zhao L., Broome J., Campfle D., Jones P., Pastor I., Singh R., The glutathione S-transferase: comparison of isoenzymes expression in normal and astrocytoma brain. *Biochem. Biophys. Acta.* 1139; 222, 1992.
- [71] Takahashi Y., Champbel E.A., Hirida Y., Takayama T., Listowsky I., The basis of differentiating among the multiple human mu-glutathione S-transferase and molecular cloning of brain GST M5. *J. Biol. Chem.* 268; 8893, 1993.
- [72] GUTHENBERG, C., AKORFELDT, K., MANNERVICK, B. Purification of glutathione S-transferase from human placenta. *Acta chem. Scand. Ser. B*, 33:595-596. (1979).
- [73] Etseller, M., Corn, P.G., Urena, J.M., Gabrielson, E., Baylin, S.B., Herman, J.G., Inactivation of glutathione S-transferase P1 gene by promoter hypermethylation in human neoplasia, *Cancer Research*, 58, 4515-4518 p., 1998.

- [74] Coggan M., Whitbread A., Whittington A., Board P., Structure and organization of the human theta-class glutathione s-transferase and D-dopachrom tautomerase gene complex. *Biochem. J.* 334; 617, 1998
- [75] Mainwaring G.W., et al., The distribution of theta class glutathione transferase in the liver and lung of Mouse rat and human. *Biochem. J.* 318; 297, 1996.
- [76] Clapper M.L., Genetic polymorphism and cancer risk. *Curr. Oncol. Rep.* 2; 251-256, 2000.
- [77] Knudsen L.E., Loft S.H., Autrup H., Risk assessment: the importance of genetic polymorphisms in man. *Mutat. Res.* 482; 83-88, 2001.
- [78] Board, Philip G. "The omega-class glutathione transferases: structure, function, and genetics." *Drug metabolism reviews* 43.2: 226-235. 2011
- [79] Board, Philip G., and Deepthi Menon. "Glutathione transferases, regulators of cellular metabolism and physiology." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects* 1830.5: 3267-3288. 2013
- [80] Yin, Zhan-Li, et al. "Immunohistochemistry of omega class glutathione S-transferase in human tissues." *Journal of Histochemistry & Cytochemistry* 49.8: 983-987. 2001
- [81] Ada, Tugba Guzide, et al. "Association between Glutathione S-Transferase Omega 1 A140D Polymorphism in the Turkish Population and Susceptibility to Non-Small Cell Lung Cancer." *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology* 64.2: 61-67. 2013
- [82] Harju, Terttu H., et al. "Glutathione S-transferase omega in the lung and sputum supernatants of COPD patients." *Respir Res* 8: 48. 2007

- [83] Blackburn, Anneke C., et al. "Glutathione transferase kappa deficiency causes glomerular nephropathy without overt oxidative stress." *Laboratory Investigation* 91.11: 1572-1583. 2011
- [84] Li, Jie, Zongxiang Xia, and Jianping Ding. "Thioredoxin-like domain of human  $\kappa$  class glutathione transferase reveals sequence homology and structure similarity to the  $\theta$  class enzyme." *Protein science* 14.9: 2361-2369. 2005
- [85] Morel, Fabrice, et al. "Gene and protein characterization of the human glutathione S-transferase kappa and evidence for a peroxisomal localization." *Journal of Biological Chemistry* 279.16: 16246-16253. 2004
- [86] Shield, Alison J., et al. "Polymorphisms in the human glutathione transferase Kappa (GSTE1) promoter alter gene expression." *Genomics* 95.5: 299-305. 2010
- [87] Hong SH, Kim HG, Chung WB, et al. DNA Hypermethylation of Tumor-Related Genes in Gastric Carcinoma. *J Korean Med Sci*; 20: 236-41., Fourth Edition, 2003 LWW, 480-490. 2005
- [88] Nakajima, Tamie, et al. "CARCINOGENESIS: Expression of cytochrome P450s and glutathione S-transferases in human esophagus with squamous-cell carcinomas." *Carcinogenesis* 17.7: 1477-1481. 1996
- [89] Lieshout, Esther MM, et al. "Immunohistochemical Localization of Glutathione S-Transferase  $\alpha$  and  $\pi$  in Human Esophageal Squamous Epithelium, Barrett's Epithelium and Carcinoma." *Cancer Science* 90.5 : 530-535, 1999

- [90] Piao, Jin-Mei, et al. "Glutathione-S-transferase (GSTM1, GSTT1) and the risk of gastrointestinal cancer in a Korean population." *World journal of gastroenterology: WJG* 15.45: 5716. 2009
- [91] Cai, Lin, Shun-Zhang Yu, and Zuo-Feng Zhang. "Glutathione S-transferases M1, T1 genotypes and the risk of gastric cancer: a case-control study." *World Journal of Gastroenterology* 7.4: 506-509. 2001
- [92] Ye, Zheng, and James M. Parry. "Genetic polymorphisms in the cytochrome P450 1A1, glutathione S-transferase M1 and T1, and susceptibility to colon cancer." *Teratogenesis, carcinogenesis, and mutagenesis* 22.5: 385-392,2002
- [93] KISS, ISTVAN, et al. "Polymorphisms of glutathione-S-transferase and arylamine N-acetyltransferase enzymes and susceptibility to colorectal cancer." *Anticancer research* 24.6: 3965-3970, 2004
- [94] Masoudi, Mohammad, et al. "Genetic polymorphisms of GSTO2, GSTM1, and GSTT1 and risk of gastric cancer." *Molecular biology reports* 36.4: 781-784. 2009
- [95] Marahatta, Sujana Babu, et al. "Polymorphism of glutathione S-transferase Omega gene and risk of cancer." *Cancer letters* 236.2: 276-281. 2006
- [96] Djukic, Tatjana I., et al. "Glutathione S-Transferase T1, O1 and O2 Polymorphisms Are Associated with Survival in Muscle Invasive Bladder Cancer Patients." *PloS one* 8.9: e74724. 2013
- [97] Serpil Oğuztüzün, Murat Kilic, Gulcin Guler Simsek, Busra Moran, Yagmur Akdemir, Hakan Bulus, Zuhale Yazici Gokbulut. Tiroid Papillar Karsinom, Foliküler Adenom, Nodüller Hiperplazide GSTO1 ve GSTK1 Ekspresyonları. 25. Ulusal Biyokimya Kongresi, 3 - 6 Eylül 2013 Kaya

Otel & Convention Center, İzmir [25th National Biochemistry Congress, İzmir / Turkey], Turk J Biochem., 38 (Suppl. 1); P-133, 2013

- [98] Wang, Yuan-Hung, et al. "A significantly joint effect between arsenic and occupational exposures and risk genotypes/diplotypes of CYP2E1,GSTO and GSTO2on risk of urothelial carcinoma." *Toxicology and applied pharmacology* 241.1: 111-118. 2009
- [99] Büşra Moran, Serpil Oğuztüzün, Murat Kılıç, Gülçin Güler Şimşek, Hakan Buluş, Kağan Deniz Kologlu, Serkan Göl, Yağmur Akdemir, Ayşegül Ayaz, Nurdan Gürbüz, Arzu Kaya Koçdoğan. Mide ve Kolon Kanserli Dokularda CYP ve GST İzozimlerinin Ekspresyonlarının İncelenmesi. 25. Ulusal Biyokimya Kongresi, 3 - 6 Eylül 2013 Kaya Otel & Convention Center, İzmir [25th National Biochemistry Congress, İzmir / Turkey], Turk J Biochem., 38 (Suppl. 1); P-135, 2013