

i

T.C.

EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AKCİĞER KANSER OLGULARINDA GLUTATYON-S-
TRANSFERAZ M1 (GSTM) ve T1 (GSTT1) GEN
POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı Programı
Yüksek Lisans Tezi

Ecz. Nuriye GÜMÜŞ

DANIŞMAN

Prof.Dr. Ferzan LERMİOĞLU

İZMİR

2005



TEŞEKKÜR

Tezin hazırlanmasındaki katkılarından dolayı danışmanım Prof. Dr. Ferzan Lermioğlu'na, tezimin deneysel aşamasında çalışmanın yürütücülüğünü üstlenen Doç. Dr. Zeki Topçu'ya teşekkür ederim.

Klinik örneklerin toplanmasındaki katkılarından ve tezin hazırlanmasındaki yardımlarından dolayı Doç. Dr. Tuncay Göksel'e;

klinik örneklerin toplanmasındaki katkılarından dolayı Doç. Dr. Berna Kömürcüoğlu'na;

laborant Şefika Aksoy ve laborant Senem Arnavut'a;

istatistiksel analizlerin yapılmasındaki yardımlarından dolayı Arş. Gör. Hatice Uluer'e;

tezin deneysel aşamasında yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Bilge Debeleş Bütüner ve Uzm. Ecz. Özlem Küçüköğlü'na;

tezin hazırlanma sürecindeki yardımlarından, desteğinden ve sabrından dolayı Arş. Gör. Hüseyin İstanbullu'ya;

bu zor süreçte yanımda oldukları için anneme, babama, Oğuzhan'a, Nuri'ye ve sevgili arkadaşlarıma sonsuz teşekkürler...

İzmir 2005

Arş. Gör. Nuriye Gümüş

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	IV
TABLolar DİZİNİ.....	VI
RESİM VE ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
BÖLÜM I	
GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
1.1 GENEL BİLGİLER.....	3
1.2.1. AKCİĞER KANSERİ.....	3
1.2.1.1. EPİDEMİYOLOJİSİ.....	3
1.2.1.2. AKCİĞER KANSERLERİNİN SINIFLANDIRILMASI.....	5
1.2.1.3. RİSK FAKTÖRLERİ.....	7
1.2.1.3.1. SİĞARA.....	7
1.2.1.3.2. ENDÜSTRİYEL ve ÇEVRESEL MARUZİYET.....	9
1.2.1.3.3. GENETİK YATKINLIK.....	10
1.2.1.3.4. DİĞER FAKTÖRLER.....	11
1.2.1.4. SİĞARA DUMANINDA BULUNAN KARSİNOJENLER.....	12
1.2.2. GLUTATYON S-TRANSFERAZ ENZİM AİLESİ.....	16
1.2.2.1. GLUTATYON S-TRANSFERAZ ENZİMLERİNİN DETOKSİFİKASYONDAKİ ROLÜ.....	16
1.2.2.2. GLUTATYON S-TRANSFERAZ GEN POLİMORFİZMİ.....	17
1.2.2.2.1. GSTM1 POLİMORFİZMİ.....	18
1.2.2.2.2. GSTT1 POLİMORFİZMİ.....	19
1.2.2.3. POLİMORFİZM ve AKCİĞER KANSER RİSKİ.....	20

BÖLÜM II

GEREÇ VE YÖNTEM.....	22
2.1. KULLANILAN KİMYASAL MADDELER.....	22
2.2. KULLANILAN CİHAZ ve ALETLER.....	22
2.3. ÇALIŞMA GRUPLARI.....	23
2.4. ARAŞTIRMA MATERYALİ... ..	25
2.5. LABORATUVAR ÇALIŞMALARI... ..	25
2.5.1. ÇALIŞMA DÜZENEĞİ... ..	25
2.5.2. DNA İZOLASYONU.....	26
2.5.3. GSTM1 GENİNİN PCR ile AMPLİFİKASYONU.....	27
2.5.4. GSTT1 GENİNİN PCR ile AMPLİFİKASYONU.....	28
2.5.5. PCR AMPLİFİKASYON ÜRÜNLERİNİN JEL ELEKTROFOREZİ...29	
2.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ YÖNTEMLERİ... ..	30

BÖLÜM III

BULGULAR.....	31
---------------	----

BÖLÜM IV

TARTIŞMA ve SONUÇ....	44
ÖZET... ..	49
ABSTRACT.. ..	50
YARARLANILAN KAYNAKLAR... ..	51

EK 1. ETİK KURUL ONAY RAPORU

EK 2. GÖNÜLLÜ OLUR FORMU / HASTA

EK 3.OLGU RAPOR FORMU

ÖZGEÇMİŞ

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Malign akciğer tümörlerinin sınıflandırılması.....	6
Tablo 2. Sigara kullanımı ve akciğer kanser gelişme riski ilişkisi.....	7
Tablo 3. Sigara dumanında bulunan karsinojenik maddeler.....	14
Tablo 4. <i>GSTM1</i> ve <i>GSTT1</i> gen polimorfizmleri.....	19
Tablo 5. Hastalara ait tüm veriler.....	34
Tablo 6. Akciğer kanser histopatolojisine göre hastaların özellikleri.....	38
Tablo 7. Histopatolojik tanıya göre <i>GSTM1</i> ve <i>GSTT1</i> genotip dağılımları.....	40
Tablo 8. Histopatolojik tanıya göre içilen sigara miktarı.....	42
Tablo 9. <i>GSTM1</i> ve <i>GSTT1</i> genotip dağılımları ve içilen sigara miktarı.....	42
Tablo 10. Histopatolojik tanıya göre alkol kullanımı.....	43

RESİM ve ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Nikotin bağımlılığı, metabolik aktivasyon ve akciğer kanser gelişimi.....	12
Şekil 2. Sigara dumanında bulunan pulmoner karsinojenlerin bazılarının kimyasal yapıları.....	14
Şekil 3. Benzo[a]piren 'in biyoaktivasyon mekanizması.....	15
Şekil 4. Histopatolojik sınıflandırmaya göre akciğer kanser tiplerinin dağılımı.....	39
Şekil 5. Histopatolojik tanıya göre GSTM1 ve GSTT1 genotip dağılımlarının grafiksel gösterimi.....	41
Resim 1. GSTT1 ve GSTM1 Jel Fotoğraflarından Örnekler	33

BÖLÜM I

1.1. GİRİŞ VE AMAÇ

Akciğer kanseri tüm dünya da olduğu gibi ülkemizde de yaygın olarak görülen ve mortalite oranı en yüksek olan kanser tipidir. Sigara içme akciğer kanseri gelişiminde en önemli risk faktörü olarak kabul edilmektedir. Ancak sigara içen kişilerin hepsinde kanser gelişmemektedir. Epidemiyolojik çalışmalar bazı ailelerde akciğer kanser gelişim riskinin çok yüksek olduğunu ortaya koymaktadır. Bu durum akciğer kanserine predispozisyonda görülen varyasyonların genetik faktörlerle ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Sigara dumanında bulunan polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH) ve N-nitrozaminlerin aktif metabolitleri, mesleki ya da çevresel olarak maruz kalınan asbest, iyonize radyasyon ve serbest radikaller akciğer kanseri gelişim riskini arttıran faktörler olarak kabul edilmektedirler (30,31,39). Glutasyon S-transferazlar (GST), elektrofilik metabolitlerin glutasyon (GSH) ile konjugasyon reaksiyonlarını katalizleyen multifonksiyonel bir enzim ailesidir. GST enzim ailesinden *GSTM1* ve *GSTT1* sigara dumanında bulunan PAH'ların elektrofilik metabolitlerinin detoksifikasyon reaksiyonlarında görev almaktadırlar (44-47).

İnsanlarda GST izoenzimlerinin polimorfik olduğu gösterilmiştir (53). PAH'lara maruziyetten sonra akciğer kanser riskinin artışında bu izoenzimlerin eksikliğinin (null genotip), ya da allelik varyantlarındaki farklılığın rol oynadığı düşünülmektedir.

GSTM1 ve *GSTT1* gen delesyonları enzimatik aktivitenin kaybolmasına ve detoksifikasyon mekanizmasının bozulmasına neden olmaktadır. Detoksifiye edilemeyen aktif metabolitlerin DNA ile etkileşmesi sonucu kanser gelişiminde rol oynayan DNA adduct (=ekleni) leri oluşur (37,38).

Farklı populasyonlarda *GSTM1* ve *GSTT1* delesyon varyantlarının çeşitli kanser olgularıyla ilişkisinin araştırıldığı çok sayıda araştırma bulunmaktadır (55-58). Ülkemizde de *GSTM1* ve *GSTT1* null genotiplerinin beyin ve mesane ve akciğer kanseri kanseri ile ilişkisinin araştırıldığı birkaç çalışma vardır (55,57).

Çalışmamızda toplumumuzda görülen akciğer kanseri olgularında *GSTM1* ve *GSTT1* genotip dağılımlarını araştırmayı ve sigara gibi bireysel alışkanlıklarla olan ilişkisini değerlendirmeyi amaçladık. Çalışma sonuçlarının ülkemizdeki akciğer kanser vakaları ile *GSTM1* ve *GSTT1* genotip dağılımları ve sigara ilişkisine yönelik araştırmalara önemli katkı sağlayacağı düşüncesindeyiz.

1.2.GENEL BİLGİLER

1.2.1.AKCIĞER KANSERİ

1.2.1.1.EPİDEMİYOLOJİSİ

Akciğer kanseri, 20. yüzyılın başlarında nadir görülen bir hastalıkken, sigara kullanımındaki artışa paralel olarak sıklığı giderek artmış ve günümüzde en sık görülen kanser tipi haline gelmiştir (1). Tüm dünyada kanser olgularının %12.8'inden ve kanser ölümlerinin %17.8' inden akciğer kanseri sorumludur (2). Dünya genelinde her yıl bir milyonun üzerinde insan akciğer kanseri nedeniyle ölmektedir (1,3,4).

Akciğer kanseri ülkemizde de en sık görülen kanser tipidir. Sağlık Bakanlığı Kanser Bildirim Verileri'ne göre akciğer kanseri sıklığı gelişmiş batı bölgelerimizde en yüksek (Akdeniz 41/100.000, Ege ve İç Anadolu Bölgelerinde 39.5/100.000) az gelişmiş bölgelerimizde en düşük (Güneydoğu Anadolu' da 17.7/100.000, Doğu Anadolu' da 11.7/100.000) değerlerdedir .(11)

Akciğer kanseri görülme sıklığı genel olarak erkeklerde daha fazladır. Ülkemizde yıllık insidans erkeklerde: 100.000'de 61.6, kadınlarda: 100.000'de 5.1 olarak bildirilmiştir. Akciğer kanseri erkeklerde, görülen kanserlerin % 38.6'sını, kadınlarda ise % 5.2' sini oluşturmaktadır (5).

Olgu-kontrol bazlı epidemiyolojik araştırmalar akciğer kanseri gelişiminden % 94 oranında sigara içmenin sorumlu olduğunu göstermektedir. Sigara içenlerde akciğer kanserine yakalanma riski içmeyenlere göre 24-36 kat daha fazladır. Pasif sigara içiminde ise risk % 3.5 olarak bildirilmiştir. Sigaraya başlama yaşı, sigara

içme süresi, içilen sigara sayısı ile tütün ve sigara tipi (filtreli, filtresiz, puro, düşük tar ve nikotin içeriği vb.) de akciğer kanseri gelişme riskini etkiler (6).

Sigara içme prevalansı genel olarak erkeklerde daha yüksektir. Dünya genelinde sigara kullanım oranı erkeklerde % 47-52, kadınlarda % 10-12 olarak bildirilmiştir. Ancak bu oranlar ülkelere göre değişkenlik gösterir. Gelişmiş ülkelerde sigara içme oranı kadınlarda % 20-40, erkeklerde % 30-40 iken gelişmekte olan ülkelerde bu oranlar sırasıyla % 2-10 ve % 40-60'tır (6). Ancak son yıllarda Türkiye, Doğu Avrupa ülkeleri gibi gelişmekte olan ülkelerde kadınlarda sigara içme alışkanlığındaki artışa paralel olarak akciğer kanseri insidansının da giderek arttığı bildirilmiştir (7).

Akciğer kanseri gelişiminde yaş, ırk, cinsiyet, meslek, hava kirliliği, radyasyon, geçirilmiş akciğer hastalığı sekeli, diyet, viral enfeksiyonlar, genetik ve immünolojik faktörler gibi etkenler de % 6 oranında etkilidirler (8). Akciğer kanseri insidansı yaşla artmaktadır; 50 yaş altındaki kişilerde sıklığı %5-10 oranında azalmaktadır (1,9).

Ülkemizdeki akciğer kanseri özelliklerini belirlemek amacıyla yapılan ulusal, hastane bazlı retrospektif bir çalışmada, 11849 akciğer kanserli hastanın % 90.4'ünün erkek, % 9.6'sının ise kadın olduğu ve olguların önemli kısmını (% 56.7) 46-65 yaşları arasındaki hastaların oluşturduğu belirlenmiştir. Olguların yaklaşık %90' ında sigara kullanma öyküsü saptanmıştır; bu kişilerin %77.9'u aktif sigara içicisi iken, %10.8'i geçmişinde sigara içme öyküsü bulunan sigarayı bırakmış kişilerden oluşmaktaydı (10).

1.2.1.2. AKCİĞER KANSERLERİNİN SINIFLANDIRILMASI

Akciğer kanserleri lokalizasyon ve tümör özellikleri bakımından farklılıklar göstermektedirler. Patolojik olarak Akciğer kanserinde 4 ana histolojik grup bilinmektedir: Küçük Hücreli Akciğer Kanseri (KHAK), Büyük Hücreli Akciğer Kanseri (BHAK), Skuamöz Hücreli (epidermoid) Karsinom (SHK), Adenokarsinom (AK). Bu dört büyük grup, akciğer kanser vakalarının %95'ni oluşturmaktadır. Kanserin histopatolojik tipi hem tedavi ile hem de prognoz ile çok ilişkilidir. KHAK diğer tiplerle karşılaştırıldığında belirgin olarak farklı davrandığı için, klinisyenler akciğer kanserini KHAK ve küçük hücreli dışı akciğer kanserleri (KHDAK) olarak iki grupta sınıflandırmaktadırlar (11). Dünya sağlık örgütü (WHO) 1967 yılında bugün kullanılan sınıflamanın esasını yapmıştır. Bu sınıflama 1982 yılında yine WHO tarafından yenilenmiş ve son olarak 1999 yılında patolojik tanı yöntemleri ve kriterlerindeki değişiklikler de göz önüne alınarak bugün yaygın olarak kullanılan halini almıştır (12).

Akciğer kanserlerinin sınıflandırılması doğru tedavi ve hastanın tedaviye uyum sağlamanın yanısıra epidemiyolojik ve biyolojik çalışmaların temelini oluşturması açısından da oldukça önemlidir.

Histolojik tipler arasında ülkemizde en sık rastlanan skuamöz hücreli karsinomdur. Adenokarsinom A.B.D, Kuzey Avrupa Ülkeleri ve Japonya da en sık rastlanan histopatolojik tip olmasına rağmen ülkemizde nadir görülmektedir. Adenokarsinomun sıklığının zengin batı ülkelerinde daha fazla olması sigara içme alışkanlıklarındaki farklılıklara bağlanmaktadır. (13,14).

Tablo 1. Malign akciğer tümörlerinin sınıflandırılması (WHO 1999)

1. Skuamöz hücreli karsinom
2. Küçük hücreli karsinom
3. Adenokarsinom
4. Büyük hücreli karsinom
5. Adenoskuamöz karsinom
6. Pleomorfik, sarkomatoid ya da sarkomatöz elemanlarla birlikte olan karsinomlar
7. Karsinoid tümörler
Tipik karsinoid
Atipik karsinoid
8. Tükürük bezi tipindeki karsinomlar
Mukoepidermoid karsinom
Adenoid kistik karsinom
9. Sınıflandırılmayan karsinomlar

Diğer organlardaki birçok kansere göre akciğer kanserinin prognozu kötüdür. KHAK' inde prognoz daha kötüdür, diğer histolojik türlere göre daha agresif seyreder ve erken metastazlara yol açar (11,14). KHAK nöroendokrin hücrelerden köken alır ve bu yönde diferansiyasyon gösterir.

Son 10-15 yıl içinde akciğer kanser tedavisinde önemli gelişmeler olmuştur. Evreleme ile erken ve geç kalmış olguları birbirinden daha iyi ayırma imkanı ortaya çıkmış ve inoperabl olarak kabul edilen birçok olguya cerrahi tedavi şansı verilmiştir. Akciğer kanserinde en büyük problem, erken tanı problemidir. Asemptomatik dönemde tanı konmuş hastaların tedavileri hem kolay hem de 5 yıllık yaşam şansları %60'ların üzerinde bulunmaktadır. Ancak olguların yalnızca %18'i tanı anında lokalizedir, çoğu ileri (Evre IV) ya da lokal ileri evrede (Evre IIIA ve IIIB) saptanmaktadır (1, 2).

1.2.1.3. RİSK FAKTÖRLERİ

Akciğer kanseri için önemli risk faktörleri sigara, çevresel ve mesleki maruziyet, genetik faktörler ve olasılıkla diyetdir.

1.2.1.3.1. SİGARA

Epidemiyolojik araştırmalar sigara içmenin akciğer kanseri gelişiminde en büyük risk faktörü olduğunu göstermektedir. Sigara içenlerde akciğer kanserine yakalanma riski içmeyenlere göre 24-36 kat daha fazladır (1,8). Akciğer kanserinin neden olduğu ölümlerin erkeklerde %90 ve kadınlarda %78 oranla sigaraya bağı olduğu tahmin edilmektedir.

Çeşitli ülkelerde yapılan retrospektif çalışmalarda akciğer kanser riskinin içilen sigara sayısı ile orantılı olarak arttığı bulunmuştur. Sigara içilen yıl sayısı da kritik öneme sahiptir. Sigara kullanımı “paket-yıl” olarak belirlenir ve özellikle 20 ‘paket-yıl’dan sonra görece risk belirgin olarak artış gösterir. 40 yıl 1 paket/gün sigara içen bir şahsın akciğer kanserine yakalanma riski, 20 yıl 2 paket/gün sigara içen bir şahıstan daha fazladır (6). Tablo 2’ de sigara kullanımının kanser gelişim riski ile ilişkisi görülmektedir.

Tablo 2. Sigara kullanımı ve akciğer kanser gelişme riski ilişkisi (11).

	Relatif Risk
Hiç sigara içmeyen	1
1 paket/gün	17
1-2 paket/gün	42
>2 paket/gün	64
Sigarayı bırakmış	2-10

Sigara dışında puro içenlerde akciğer kanser riski 3 kat, pipo kullananlarda ise 8 kat artmaktadır. Filtreli ya da düşük katran içeren “light” sigaraların kanser riskini azaltmadığı , adenokarsinom insidansını arttırdığı bildirilmiştir (13,14).

Sigara içen ve içmeyenler arasında akciğer kanserinin histopatolojik tiplerine göre dağılımının farklı olduğu bildirilmiştir. Sigara içen erkeklerde SHK, kadınlarda ise KHAK' e daha sık rastlanmakta, sigara içmeyenlerde ise daha çok AK görülmektedir. Son yıllarda özellikle kadınlarda adenokarsinom ve KHAK görülme oranı artmış, SHK oranı azalmıştır. 50 yaş altındaki şahıslarda yaşlılara göre daha yüksek oranda AK görülmektedir. Bu durum son yıllarda periferik tümörlerin artışı ile orantılıdır ve genç yaş grubunda sigara içiminin azalması ile uygunluk göstermektedir (15,16).

Ülkemizde sigara içme prevalansı kadınlarda % 24, erkeklerde % 63'tür (6). Erkekler kadınlara göre sigara içmeye daha küçük yaşlarda başlamaktadırlar ve daha uzun süreli, daha yüksek katran içerikli ve derin inhalasyonlu sigara içme alışkanlığına sahiptirler. Ancak son yıllarda yapılan epidemiyolojik araştırmalar, günlük sigara tüketimi ve yaş faktörü göz önünde bulundurulmadığında sigara içen kadınlarda akciğer kanseri gelişme riskinin erkeklere göre daha yüksek olduğunu göstermiştir (1,13).

Pasif sigara içimi ile akciğer kanseri arasında da pozitif ilişki bulunmuştur. Epidemiyolojik çalışmalarda sigara içen erkekle evli sigara içmeyen kadınlarda akciğer kanseri riskinin %30 arttığı görülmüştür (16). Pasif içicilerin maruz kaldığı duman, sigara içenler tarafından inhale edilen dumandaki tüm karsinojenleri içerir; ayrıca sigara filtresinden geçmediği için karsinojen miktarı ana dumandaki karsinojenlerin 100 katı kadar fazladır (17).

Sigarayı bırakan bireylerde akciğer kanser riski sigaranın kesilme süresi ile orantılı olarak azalır. Bazı araştırmalar, 20 yıldan daha az sigara içen bireylerde sigarayı bıraktıktan 10-15 yıl sonra akciğer kanser riskinin içmeyenlerle aynı düzeye indiğini göstermesine karşın, çeşitli araştırmalarda riskin sigarayı bırakma düzeyinde durduğu ve sigara içmeyenlere göre daha yüksek olduğu ileri sürülmüştür (16).

1.2.1.3.2.ENDÜSTRİYEL ve ÇEVRESEL MARUZİYET

Endüstri ve madencilikte kullanılan bir çok madde akciğer kanserine neden olabilmektedir. Dünyada yaygın olarak bulunan (tremolit içeren ak toprak ve zeolit) ve geniş endüstriyel kullanımı olan (gemi, izolasyon, otomotiv sanayi gibi) asbest bunların en önemlisidir ve başta mezotelyoma olmak üzere akciğer kanserlerine neden olabilmektedir (18). Asbest işçilerinde akciğer kanseri riski 6–10 kat, sigara içen işçilerde ise 50-100 kat artmaktadır (19).

Radyoaktif bir madde olan radon uranyum madenlerinde, toprak ve kayalarda doğal olarak bulunur. Uranyum madeninde çalışan işçilerde ve radon ihtiva eden inşaat malzemesinden yapılan evlerde yaşayan insanlarda akciğer kanseri riskinin belirgin olarak arttığı gösterilmiştir (18).

Nikel, krom (+6), bisklorometil eter, arsenik, toksik gazlar, vinil klorür ve radyoaktif izotoplar gibi maddeler potansiyel karsinojenik olarak kabul edilmektedir. Skar dokusunun karsinojen etkisi nedeniyle silisyum maruziyeti ile ortaya çıkan silikozis gibi akciğer hastalıkları ve akciğer dokusunda fibrozis ile seyreden hastalıklar akciğer kanseri insidansını arttıırırlar (10,20,21).

Spesifik karsinojenler ile akciğer kanseri histolojisi arasındaki ilişkinin araştırıldığı çok sayıda araştırma vardır. Bu çalışmalarda arsenik ile AK, klorometil eter ve uranyum ile KHAK, vinil klorür ile BHAK'i bağlantılı bulunmasına karşın

histopatolojik tip ile spesifik karsinojenler arasındaki ilişki kesin olarak saptanamamıştır (16).

Şehirde yaşayan insanlarda, akciğer kanseri insidansı kırsal kesime göre 1.2-2.3 kat daha fazladır. Bu durumun hava kirliliğinin, sigara ve mesleki karsinojenlerin etkisini potansiyalize etmesine bağlı olduğu düşünülmektedir (22).

1.2.1.3.3. GENETİK YATKINLIK

Akciğer kanserlerinin çoğu sigara içme alışkanlığına bağlanmasına karşın, ağır sigara içicilerin yaklaşık %20'sinde akciğer kanseri oluşur. Birçok çalışmada akciğer kanserli hastaların ailelerinde, kontrollere nazaran 2-5 kez daha fazla akciğer kanserine rastlandığı gösterilmiştir. Ailelerinde kanser hikayesi olan ve sigara içen bireylerde akciğer kanseri riski, sigara içmeyen ve aile hikayesi olmayanlardan 30-47 kat daha fazladır (23,24). Ancak bu artışta sadece sigara ve genetik yatkınlığın değil aile fertlerinin ve akrabaların genellikle aynı ortamlarda yaşamasının da rol oynadığı düşünülmektedir (11). Akciğer kanserli hastaların aile üyelerinde akciğer kanseri ve diğer kanserlerin oranındaki artış, hastanın karsinojenlere karşı duyarlılık ve direncini etkileyen diğer faktörleri akla getirmektedir. Debrisokin isimli antihipertansif ilacı metabolize eden P450 enzimi ve Aril Hidrokarbon Hidroksilaz enzim sistemleri ile akciğer kanseri gelişimi arasındaki ilişkiyi gösteren bazı güçlü kanıtlar mevcuttur. Ayrıca otokrin büyüme faktörleri, baskılayıcı gen kaybı ve onkogenler halen araştırılmakta olan genetik faktörlerdir (18,25).

Kanserin kontrolsüz hücre bölünmesi ve metastaz özellikleri, kronik karsinojen maruziyeti sonucu oluşan genetik değişikliklerin bir sonucudur. Neoplastik dönüşüme neden olan hasarın hücre çoğalmasını kontrol eden onkogenler ve tümör baskılayıcı genlerdeki mutasyonlardan kaynaklandığı ileri sürülmektedir. Sigara

dumanındaki karsinojenlerin p53 tümör baskılayıcı gen ya da Kristen-ras (KRAS) onkogeninde mutasyona neden olmalarının sigaraya bağlı akciğer kanseri gelişiminde önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Tümör baskılayıcı genler içinde en fazla araştırılanı p53 genidir (40,41). KHAK olgularının %90' ında ve KHDAK olgularının ise %50'sinden fazlasında p53 geninde anormal mutasyonlar izlenmiştir. p53 geninde guanin bazıyla ilişkili nokta mutasyonu yaygın olarak görülür. Örneğin akciğer kanserlerinde saptanan 550 p53 mutasyonlarından %33'ü G:T (Guanin:Timin) çapraz geçişi, %26'sı G:A (Guanin:Adenin) düz geçişi şeklindedir (42). Adenokarsinom vakalarının %24-50'sinde KRAS onkogeninde mutasyon saptanmıştır. Sigara içen ya da geçmişinde sigara içme öyküsü olan bireylerde hiç sigara içmemiş olanlara göre mutasyon görülme sıklığı daha fazla bulunmuştur (43).

1.2.1.3.4. DİĞER FAKTÖRLER

Diyet: Beta-karoten, E vitamini, C vitamini ve selenyumun antioksidan özellikleri nedeniyle antikarsinojen oldukları, taze meyve, sebze ve karoten tüketiminin sigara içenlerde ve bırakanlarda kanser riskini düşürdüğü gösterilmiştir (6,26,27). Sigara içimi C vitaminin tüketimini artırmaktadır. Bu maddelerin diyetle az alınımının, özellikle sigara içen hastalarda, akciğer kanser riskini artırabileceği düşünülmektedir. Aşırı yağlı diyetle beslenen sigara tiryakilerinde akciğer kanser riskinin arttığı gösterilmiştir (28).

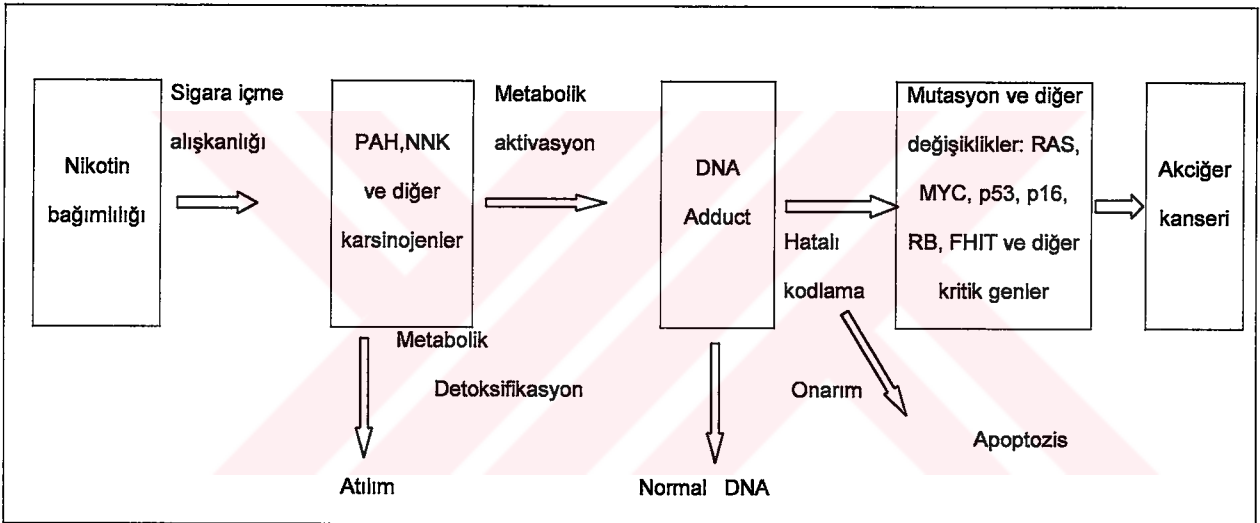
Daha Önce Geçirilen Akciğer Hastalıkları: Tüberküloz, bronşektazi, pnömoni, abse, pulmoner emboli gibi akciğerde fibrotik skar dokusu oluşturan hastalıklar akciğer kanseri riskini artırır. Yaş, cinsiyet ve sigara öyküsü de dikkate alındığında, akciğer tüberkülozu geçiren olgularda akciğer kanseri gelişme riskinin 8 kat fazla olduğu belirtilmiştir (10). Bu tip skar karsinomlarında saptanan histolojik

tip genellikle adenokarsinomdur. Diffüz akciğer fibrozisi, skleroderma ve sarkoidozlu hastalarda da risk artmaktadır (10,20,21).

1.2.1.4. SİĞARA DUMANINDA BULUNAN KARSİNOJENLER

Uluslararası Kanser Araştırma Merkezi (IARC)'nin yayınladığı rapora göre sigara dumanında laboratuvar hayvanları ve insanlarla yapılan çalışmalarla karsinojenik etkisi kanıtlanmış 55 adet karsinojenik madde bulunmaktadır (29).

Şekil 1. Nikotin bağımlılığı, metabolik aktivasyon ve akciğer kanser gelişimi



İnsanlarda sigara bağımlılığına neden olan madde nikotindir ve nikotin karsinojenik değildir. Sigarada bulunan temel karsinojenler polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH), aromatik aminler ve nitrozo bileşikleridir. PAH içinde üzerinde en çok çalışılan Benzo[a]piren (BaP)'dir (Tablo 3, Şekil 2) (4,30-32) ve lokal uygulamada ya da inhalasyonla maruziyette akciğer kanser riskini indüklediği bilinmektedir. N-nitrozamin grubunda ise tütüne özgü nitrozamin olan (4-metilnitrozamino-1-(3-piridil)-1-butanon (NNK)) ratlarda, farelerde ve hamsterlarda güçlü karsinojenik etki göstermiştir (Tablo 3, Şekil 2) (33-35). NNK akciğerde özellikle adenom ve adenokarsinom gelişimini indüklemektedir. Sigara dumanında

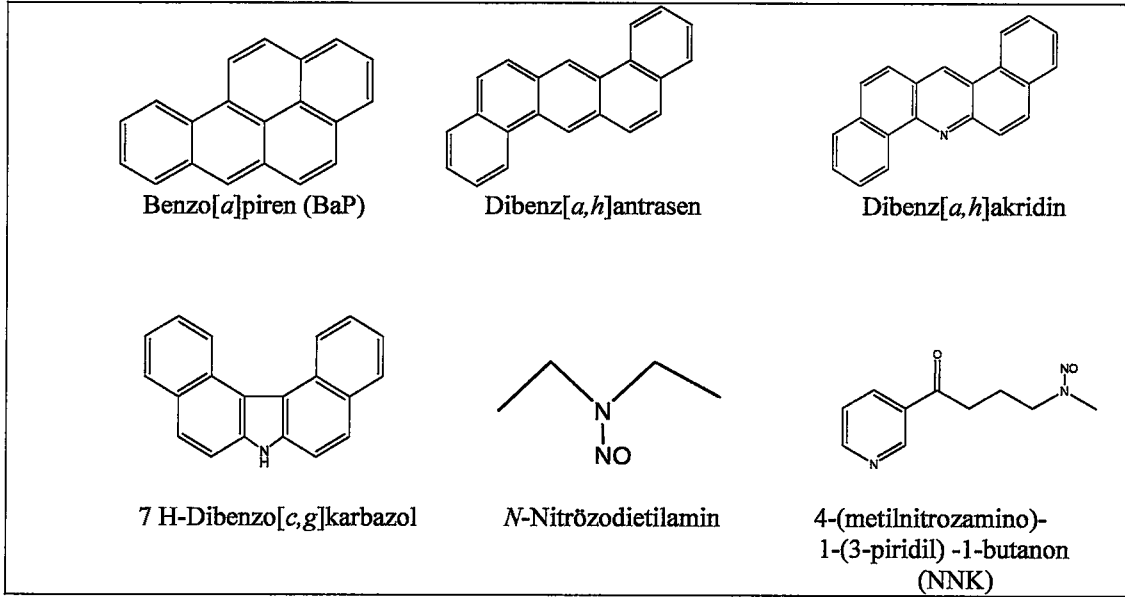
bulunan NNK miktarı yüksektir ve sigara içen bir bireyin hayatı boyunca maruz kaldığı total NNK miktarı sıçanlarda akciğer kanseri oluşumuna sebep olan NNK miktarına oldukça yakındır (33).

1,3-butadien, etil karbamat, nikel, krom, kadmiyum, ve arsenik sigara dumanında bulunan ve akciğer kanserini indüklemeye potansiyeli türlere göre farklılık gösteren potansiyel karsinojenlerdir (36).

NNK ve Benzo[*a*]piren gibi sigara dumanında bulunan karsinojenlerin etkileri biyoaktivasyon sonucu oluşan metabolitlerine bağlıdır. BaP'in metabolik aktivasyonu sonucunda oluşan majör metaboliti 7,8-diol-9,10-epoksid (BPDE), NNK'nın ise (4-metilnitrozamino-1-(3-piridil)-1-butanol (NNAL) dir. Reaktif metabolitler DNA'ya genellikle Guanin (G) ya da Adenin (A) üzerinden kovalent bağlanarak kanser oluşumunda rol oynayan DNA-adduct'ları oluştururlar (37,38). Oluşan adduct hücresel savunma mekanizmasını geçip mutasyonlara neden olmaktadır. Sigara dumanındaki karsinojenlerin metabolizması sırasında oluşan reaktif oksijen türevleri de DNA'da hasar oluşturur. Yüzün üzerinde oksidatif DNA-adduct' ı tanımlanmıştır (39).

DNA hasarı transkripsiyonun durdurulması ya da kontrolsüz olarak artması, sinyal iletim mekanizmasının bozulması, replikasyon hataları gibi karsinojenez sürecinde görülen bozukluklara neden olur (39).

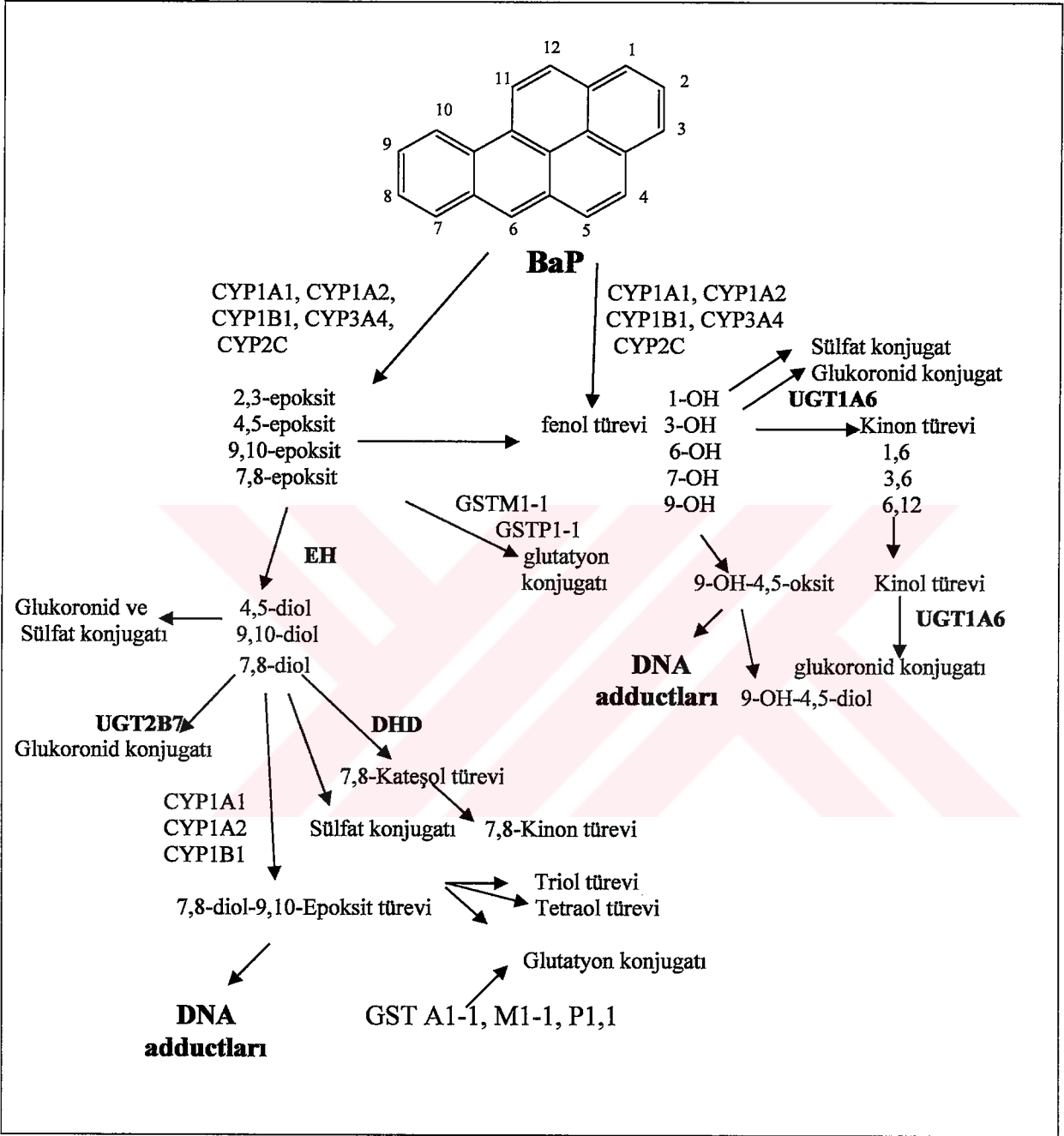
Şekil 2. Sigara dumanında bulunan pulmoner karsinojenlerin bazılarının kimyasal yapıları



Tablo 3. Sigara dumanında bulunan karsinojenik maddeler

Karsinojen sınıfı	Bileşik	Sigara dumanındaki miktar (ng/sigara)	
Polisiklik aromatik hidrokarbonlar	benzo[a]piren	20-40	
	benzo[b]fluranten	4-22	
	benzo[j]fluranten	6-21	
	benzo[k]fluranten	6-12	
	dibenzo[α, i]piren	1.7-3.2	
	indeno[1,2,3-cd]piren	4-20	
	dibenz[α, h]antrasen	4	
	5-metilkrizen	0.6	
	Aza-arenler	dibenz[α, h]akridin	0.1
		7H-dibenzo[c, g]karbazol	0.7
N-Nitrozaminler	N-Nitrozodietilamin	ND*-2.8	
	4-(metilnitrozamino)-1-(3-piridil)-1-butanon (NNK)	80-770	
Diğer organik bileşikler	1,3-butadien	20-70 x 10 ³	
	etilkarbamat	20-38	
İnorganik bileşikler	nikel	0-510	
	krom	0.2-500	
	kadmiyum	0-6670	
	polonyum 210	0.03-1.0 pCi	
	arsenik	0-1400	
	hidrazin	24-43	

Şekil 3. Benzo[a]piren 'in biyoaktivasyon mekanizması



EH = Epoksid Hidrolaz, DHD = Dihidrodiol Dehidrojenaz, UGT = UDP- Glukoronozil Transferaz, GST = Glutasyon S-transferaz

1.2.2.GLUTATYON-S-TRANSFERAZ ENZİM AİLESİ

Glutasyon-S-transferazlar 25 kDa ağırlığında, dimerik protein yapısında oldukça geniş bir enzim ailesidir. Bu enzimler büyük oranda karaciğerde olmak üzere böbrekler, intestinal kanal, testisler, adrenal bezler ve akciğerde bulunurlar. Organizmada suda çözünen total protein miktarının %4'ten fazlasını bu enzimler oluşturmaktadır. Glutasyon-S-transferazlar mutajenik ve karsinojenik etki gösteren birçok elektrofilik reaktifin glutasyonla konjügasyonunu katalizleyerek hücre detoksifikasyonunda önemli rol oynarlar (44-47). Bu enzimler sitozolde ve mikrozomlarda bulunurlar; sitozolik GST enzimleri ksenobiyotiklerin ya da endojen bileşiklerin biyotransformasyonundan, mikrozomal GST ise araşidonik asit metabolizmasından sorumludur (48,49).

Glutasyon-S-transferaz enzimleri primer yapılarına, substrat spesifitelerine, kimyasal afinitelerine, aminoasit dizinlerine ve kinetik davranışlarına göre 7 sınıfta gruplandırılırlar: alfa (α), mu (μ), pi (π), sigma (δ), teta (θ), kappa (κ) ve zeta (ζ). Aynı sınıf içinde bulunan iki enzim üyesinin aminoasit dizini %70 özdeş olabilir. (44,49). İnsanda, domuzda ve farelerde üç sınıf GST enziminin kristal yapıları belirlenmiştir, kristal yapıları birbirine çok benzer olan polipeptitler, aktif sitelerinde ve C-terminallerinde farklılık göstermektedirler (49).

1.2.2.1.GLUTATYON-S-TRANSFERAZ ENZİMLERİNİN

DETOKSİFİKASYONDAKİ ROLÜ

Birçok kimyasal karsinojen Faz II enzimlerinin katalizlediği konjügasyon reaksiyonları ile metabolik detoksifikasyona uğrarlar (3,45). Organizmada en önemli konjügasyon reaksiyonlarından birisi Glutasyonla konjügasyon'dur. Glutasyon, glisin,sistein ve glutamattan oluşan bir tripeptittir.

Glutasyon-S-transferazlar indirgenmiş glutasyonun nükleofilik sülfidril (-SH) grubu ile elektrofilik karbon atomu taşıyan metabolitlerin konjugasyonunu katalizlerler ve sonuçta polar tiyoeter yapısında bir konjugat oluşur. Oluşan glutasyon konjugatları, glutasyonun peptit bağlarının hidrolizi ile sistein konjugatı haline geçerler; sisteinin amino grubunun asetillenmesi sonucu N-asetilsistein türeviden olan merkaptürik asite dönüşerek idrarla atılırlar (50,51). Organizmanın detoksifikasyon mekanizmasının etkinliği GSH düzeyi, GST izoenzimlerinin (GST- α , - μ , - π , - θ) varlığı, miktarı ve aktivitelerindeki değişiklikler ile değerlendirilir (51).

1.2.2.2.GLUTATYON-S-TRANSFERAZ GEN POLİMORFİZMİ

Moleküler epidemiyoloji çalışmaları kanser hastalıklarına olan duyarlılığın genetik faktörlerden önemli oranda etkilendiğini göstermiştir. Kimyasal karsinogenlerin aktivasyon/detoksifikasyonlarında bireyler arasındaki farklar, metabolizmalarından sorumlu enzimlerdeki genetik polimorfizm ile açıklanmaktadır (45, 52).

GST genlerinden *GSTM1*, *GSTM3*, *GSTT1*, *GSTP1* ve *GSTZ1* genleri polimorfiktir ve popülasyonlar ve etnik gruplar arasında farklılıklar gösterir (53).

Sitozolik enzimler GST μ ve GST θ , *GSTM1* ve *GSTT1* genleri tarafından kodlanır. *GSTM1* ve *GSTT1* homozigot gen delesyonları olan bireylerde GST enzim aktivitesi azalmakta ya da hiç aktivite görülmemektedir. Sonuç olarak bu bireylerde elektrofilik karsinogenlerin eliminasyonu ya da detoksifikasyonu önemli oranda azalmakta, tümör oluşumuna neden olan somatik mutasyonların oluşma riski artmaktadır (46).

1.2.2.2.2.1. *GSTM1* polimorfizmi

GSTM1 geni kromozom 1p13.3 loküsünde haritalanmıştır ve mu sınıfına ait 5 adet gen tanımlanmıştır (M1-M5) (Tablo 4). *GSTM-0* (null) gen delesyonu, *GSTM1-A* ve *GSTM1-B* allelleri homo ve heterodimerik kombinasyonlarıyla 4 genel fenotipli polimorfizm göstermektedir. Tek baz süstitüsüyonu ile birbirinden ayrılan *GSTM1A* ve *GSTM1B*' nin katalitik aktiviteleri birbirine çok yakındır (54,46,47,45). *GSTM1* karaciğerde yüksek düzeyde eksprese edilmektedir ancak akciğerde ekspresyonu yoktur. Cotton ve arkadaşları *GSTM1* ve *GSTT1*' in farklı etnik gruplarda homozigot ve heterozigot allel varyanslarının frekanslarını incelemişler, elde edilen sonuçlar Geisler ve Olshan' ın aynı konu üzerinde yaptıkları çalışma ile güncellenmiştir (46, 47). Buna göre *GSTM1* geninde null genotip sıklığı Afrika' da %23-%48, Asya' da %33-%63, Avrupa' da %39-%62, Amerika' da %23-%62 (Afrikalı Amerikalılar' da %23-%41, Beyazlarda %35-%62, Asyalılar' da %32-%53 ve Meksikalılar' da %40-%53) olarak belirlenmiştir (46).

GSTM1 arenoksitlerin detoksifikasyonunda rol oynamaktadır. Epidemiyolojik çalışmalar *GSTM1* homozigot delesyonu taşıyan bireylerde akciğer, mesane, kolon ve meme kanseri gelişme riskinin arttığını göstermiştir (46,55-59). *GSTM1* null genotipi taşıyan bireylerde akciğer kanseri gelişme riski ise sigara dumanına maruziyet yoğunluğuna bağlıdır. *GSTM1* null genotipi yüksek miktarda sigara dumanına maruz kalan bireylerde larenks kanseri riskini arttırıcı bir faktör olarak da düşünülmektedir (47).

Tablo 4. *GSTM1* ve *GSTT1* gen polimorfizmleri

Gen	kromozom lokasyonu	bilinen allelleri	Kodladığı izoenzim	fonksiyon	Null genotipin aktiviteye etkisi
<i>GSTM1</i>	1p13.3	null <i>GSTM1A</i> <i>GSTM1B</i>	GST- μ	Ksenobiyotiklerde Faz-2 metabolizma reaksiyonları	Aktivite azalmıştır ya da hiç görülmez
<i>GSTT1</i>	22q11.2	null mevcut	GST- θ	Ksenobiyotiklerde Faz-2 metabolizma reaksiyonları	Aktivite azalmıştır ya da hiç görülmez

GSTM1 null genotipi taşıyan bireylerde karsinojen-DNA adduct düzeyinin *GSTM1* pozitif olan bireylere göre daha yüksek olması beklenirken konu ile ilgili çalışma sonuçları çok açık değildir. Bu durumun ölçüm yöntemlerindeki farklılıklar, ölçümlerin farklı hedef hücrelerde yapılması ya da maruziyet düzeyindeki farklılıklardan kaynaklanabileceği ileri sürülmektedir. Örneğin dökümhane işçilerinin maruz kaldığı PAH' ların havadaki konsantrasyonu 5ng BP/m³ dur. İşçilerde lökositlerdeki DNA-adduct düzeyi artmış ancak *GSTM1* genotipi ile bir ilişki gözlenmemiştir. Otobüs şoförleri ile yapılan başka bir çalışmada *GSTM1* null genotipi taşıyan bireylerde lenfositlerdeki DNA-adduct düzeyi *GSTM1* pozitif bireylere oranla anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. *GSTM1* null genotipli bireylerde içilen sigara miktarı ile orantılı olarak kromozom hasarlarının arttığı gözlenmiştir (60).

1.2.2.2.2. *GSTT1* Polimorfizmi

GSTT1 geni kromozom 22q.11.2. loküsünde haritalanmıştır ve *GSTT1* loküsünde tanımlanan, fonksiyonel olarak farklı iki *GSTT1* varyantı vardır. *GSTT1-0* homozigot gen delesyonu ve *GSTT1* varlığı (54) (Tablo 4).

GSTT1 geninin null delesyon sıklığı Asya popülasyonlarında %16-%64 (Çin, Japonya, Kore ve Singapur popülasyonlarında = %44) lük oran ile *GSTMI* null delesyon oranına yakındır. Ancak diğer popülasyonlarda *GSTT1* null delesyon sıklığı *GSTMI*' e göre oldukça düşüktür. Afrika' da %15-%26, Avrupa' da %10-%21, Amerika' da %10-29 (Afrikalı Amerikalılar' da %22-%29, Beyazlarda %15-%27 ve Meksikalılar' da %10-%12) olarak belirlenmiştir (46).

GSTT1 tarafından kodlanan enzim hem detoksifikasyon hem de biyoaktivasyon reaksiyonlarında rol oynar. Bu enzim monohalometanları ve etilen oksiti detoksifiye ederken, metilen klorürü toksik metabolitine dönüştürür. Lenfositlerde in vitro ortamda yapılan bir çalışmada *GSTT1* null genotipinde 1,3-epoksi-3-bütene maruziyette kardeş kromatid değişiminin (Sister Chromatid Exchange; SCE) indüklendiği, *GSTT1* null genotipine sahip bireylerde yapılan bir çalışmada da 1,3-butadiene maruziyette kromozomal aberasyonların arttığı gösterilmiştir (48,61). Ancak *GSTT1* null genotipi ve kanser gelişimi arasındaki ilişki çok açık değildir. Örneğin Sorsa ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada sigara içmeyen *GSTT1* pozitif bireylerde mesane kanseri riskinde artış olduğu saptanmıştır (57).

1.2.2.3. POLİMORFİZM ve AKCIĞER KANSER RİSKİ

Sigarada dumanındaki prokarsinojenlerin biyoaktivasyonundan sorumlu enzimleri sentezleyen genlerdeki polimorfizm ve kanser gelişimiyle ilişkisine yönelik çalışmalar, sigara ve akciğer kanser riski konusundaki araştırmalar içinde önemli yer tutmaktadır. *GSTMI* geninin kodladığı GST(μ) enzimi PAH'ların diol epoksitlerinde içinde bulunduğu karsinojenlerin detoksifikasyonundan sorumludur. Akciğer kanseri etiyolojisi bilinen bir hastalık olduğundan genetik yatkınlık ile çevresel maruziyetin etkileşimlerinin araştırılması için iyi bir modeldir (62).

Bu reaktif metabolitlerde faz II enzimleri ile detoksifiye edilirler. Sigara dumanında bol miktarda bulunan ve akciğer kanser gelişimindeki majör etiyolojik faktörlerden birisi PAH'dır. Çevresel olarak ta maruz kaldığımız PAH'lar inhalasyon ile vücuda girdikten sonra Faz I enzimleri ile (sitokrom-P450) oksitlenirler ve DNA ya bağlanan diol-epoksid metabolitlerine dönüşürler ya da GST enzimlerinin de dahil olduğu faz II enzimleri ile detoksifikasyona uğrarlar. DNA-adduct oluşumu karsinogenik maddelerin oksidasyonu ile reaktif ara ürünlerin konjugasyon yolu ile detoksifikasyonu arasındaki dengeye bağlıdır. P450-sitokrom enzimlerinden CYP1A1, PAH'ların biyoaktivasyonunda kritik öneme sahip bir enzimdir.

Japonya'da yapılan bir çalışmada karsinogenlerin metabolizmasında CYP1A1 ve *GSTMI* gen polimorfizmlerinin (CYP1A1'nin MspI varyantı ve *GSTMI* null genotipi) etkisi araştırılmış ve belirtilen genotiplere sahip bireylerde düşük doz sigara kullanımında bile akciğer kanserine yakalanma riskinin arttığı bulunmuştur (25).

Avrupalı Caucasian'larda yapılan birçok çalışmada ise CYP1A1'in MspI varyantının sıklığının düşük oluşu nedeniyle akciğer kanser riski ile CYP1A1 genotipi arasında belirgin bir etkileşim bulunamamıştır (64). Buna karşın, *GSTMI* null genotipinin sigaraya bağlı kanser gelişiminde önemli bir faktör olduğu gösterilmiştir (63). PAH-DNA adduct düzeylerinin sigara içenlerde daha fazla olduğu ve CYP1A1, *GSTMI*, *GSTP1* polimorfizmleriyle ilişkili olduğu bildirilmiştir (63). Kawajiri ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada sigara içen kadın hastaların akciğerlerindeki CYP1A1 ekspresyon düzeyleri, PAH-DNA adduct düzeyleri ve tümör hücrelerinde p53 genindeki G-T transversiyonları sıklığının erkeklere oranla anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur (65).

BÖLÜM II

GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

DNA izolasyon kiti	(Promega)
Etanol	(Merck)
İsopropil alkol	(Sigma)
Trizma baz	(Sigma)
EDTA.2H ₂ O	(Sigma)
Agaroz	(Prona)
NaOH	(Sigma)
Borik asit	(Sigma)
DNA Taq polimeraz enzim sistemi	(Fermantase)
Etidyum bromür	(Sigma)
100 bp, 200 bp, 1000 bp DNA markörleri	(Fermentase)

Kullanılan tüm kimyasal maddeler analitik saflıktadır. Çalışmada sterilize edilmiş ultra saf su kullanılmıştır.

2.2. KULLANILAN CİHAZ VE ALETLER

Thermal cycler ısı bloğu	(Techne-TC512)
Elektroforez güç kaynağı	(Thermo)
Elektroforez Jel tankı	(Thermo-EC)
Görüntüleme sistemi	(Vilber Lourmat)
Bilgisayar	(HP)

Ultra santrifüj	(Hettich)
Etüv	(Nüve)
Otoklav	(Hirayama)
Manyetik karıştırıcı	(Velp)
İnkübatör	(Lab-Line)
Ph metre	(Ino-Lab)
Vorteks	(Ika)
Hassas terazi	(Sartorius)
Çalkalayıcı	(Janke& Kunkel)
Mikrodalga fırın	(Ariston)
Derin dondurucu (-80 °C)	(Nuaire)
Derin dondurucu (-20 °C)	(Beko)
Mikro pipetler	(Thermo)
Çeşitli plastik malzemeler	(Thermo)

(1,5 ml endorf tüp, 200µl PCR tüpü,1000 µl, 200 µl ve 10µl mikro pipet uçları)

Çeşitli cam malzemeler

Çalışmamız sırasında kullandığımız tüm cam malzemeler ve plastik malzemeler sterilizasyon işlemine tabi tutulmuştur.

2.3. ÇALIŞMA GRUPLARI

Çalışmamız 04 DPT 005 Nolu, “Ülkemizde tütün kullanımına bağlı olarak oluşan oral premalign/malign lezyonlar ve akciğer kanseri üzerinde Sitokrom P450 2A6 ve Glutatyon-S-transferaz genetik polimorfizmlerinin etkilerinin belirlenmesi ve farmakogenomik yönden değerlendirilmesi” adlı projenin bir parçasını oluşturmaktadır. Bu projeye ait olan 25.06.2003 tarihinde E.Ü. Tıp Fakültesi Etik Kurulundan alınan “Etik Kurul Onay Belgesi” Ek 1’de sunulmuştur.

Çalışmamıza Ocak 2004 – Nisan 2005 tarihleri arasında E.Ü. Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı ve Suat Seren İzmir Göğüs Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim Hastanesinde primer akciğer kanseri tanısı konmuş ve tedavisi

süren erkek hastalar alınmıştır. Tüm hasta bireylere çalışma ile ilgili bilgi verilerek yazılı olurları alınmıştır "Gönüllü Olur Formu" örneği Ek 2 'de sunulmuştur. Çalışmaya katılan tüm hastaların bireysel özellikleri ve yaşam alışkanlıkları sorgulanarak bilgiler hasta kayıt formlarına aktarılmıştır. "Olgu Rapor Formu" örneği Ek 3'de sunulmuştur.

Araştırmaya Dahil Olma Kriterleri

- Primer Akciğer kanseri tanısı konmuş olma
- 40 yaşından büyük ve erkek olma
- Çalışmaya girmeyi kabul etmiş olma

Çalışma Dışı Bırakma Kriterleri

- Hamileler
- Zihinsel engelliler
- Sistemik bir hastalığı olanlar
- Sürekli ilaç kullananlar
- Kan verme engelli olanlar

Kriterlere uygun bulunan akciğer kanser tanısı konmuş 93 kişi çalışma grubunu oluşturdu. Hasta bireylerin histopatolojik tanıya göre sınıflandırılmaları Doç.Dr. Tuncay Göksel ve Doç.Dr. Berna Kömürcüoğlu tarafından yapıldı.

2.4. Araştırma Materyali

Çalışmamızda araştırma materyali olarak ACD-A lı tüplere alınan venöz kan örnekleri kullanıldı. Tüm hastalardan 5 ml kan örneği alındı ve alınan örnekler çalışma gününe kadar $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı.

2.5. LABORATUVAR ÇALIŞMALARI

2.5.1. Çalışma Düzeni

Çalışmamızın ilk aşamasında alınan kan örneklerinden genomik DNA izolasyonu yapıldı.

GSTMI ve *GSTTI* genotip analizleri Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) yöntemi ile yapıldı. PCR, dizisi bilinen iki bölge arasında uzanan bir DNA parçasını amplifiye etmek için kullanılan yöntemdir. PCR yöntemi, kan örneklerinden izole edilen DNA kalıp olarak kullanılmak üzere çift zincirli DNA molekülünün ısıyla (~94°C) denatüre edilerek tek zincirli hale gelmesi, tek zincirli DNA molekülüne uygun sıcaklıkta (~56°C) primerlerin yapışması ve DNA Taq polimeraz enzimi katalizörlüğünde ortamdaki dört deoksिनükleotid trifosfatın (dNTP) (adenin, guanin, sitozin, timin) yeni zincire eklenerek polimerizasyon işleminin gerçekleşmesi temeline dayanmaktadır. Amplifikasyonun başarılı olup olmadığı PCR reaksiyonu ürünlerinin elektroforez işlemi sonrası, agaroz jel üzerinde UV ışık altında görüntülenmesi ile saptandı. Elektroforez işlemi negatif yüklü DNA molekülünün elektrik akımı ile, anot'tan, katot'a doğru hareket etmesi esasına dayanmaktadır. Amplifikasyon ürünleri, boyama solüsyonu eklendikten sonra konsantasyonu DNA molekülünün büyüklüğüne göre hazırlanmış agaroz jele mikro pipet yardımı ile uygulandı ve jel tankında elektrik akımını ileten uygun bir çözelti içinde doğru voltaj ve akım seçilerek yürütüldü.

2.5.2. DNA İzolasyonu

Tam kandan genomik DNA izolasyonu, Promega marka DNA izolasyon kiti kullanılarak yapıldı. - 80 °C de saklanan kan örneği oda sıcaklığında çözüldükten sonra dikkatlice alt üst edilerek karıştırıldı. 1.5 ml ependorf tübü içine 900 µl hücre

lizis solüsyonu konulduktan sonra üzerine 300 µl kan örneği eklendi ve dikkatlice 5-6 kez alt üst edilerek karıştırıldı. Karışım oda sıcaklığında 10 dakika inkübasyona bırakıldıktan sonra 13000 g'de 20 saniye santrifüj edildi. Süpernatant atıldıktan sonra tüp 20 saniye vortekslendi; üzerine 300 µl çekirdek lizis solüsyonu eklendikten sonra tüp içeriği viskoz hale gelinceye kadar 5-6 kez pipetlendi ve 37 °C'de 15 dakika inkübasyona bırakıldı. Daha sonra 1.5 µl RNaz solüsyonu eklenerek inkübasyon tekrarlandı. Tüpe 100 µl protein çöktürme solüsyonu eklendi, 20 saniye vortekslendikten sonra 13000 g'de 3 dakika santrifüj edildi. Süpernatant 300 µl isopropanol içeren tüplere aktarıldı ve solüsyon yavaşça çevrilerek beyaz DNA çökeltisinin oluşumu gözlemlendi. Daha sonra 13000 g'de 1 dakika santrifüj edilerek süpernatant atıldı, çökelti üzerine 300 µl %70'lik etanol eklenip hafifçe çevrilerek DNA ve tüpün içi etanolla yıkandıktan sonra 13000 g'de 1 dakika santrifüj edildi. Etanol dikkatlice alınıp uzaklaştırıldı ve tüp ağzı açık bir şekilde bir süre bekletilerek etanolün tamamen uzaklaşması sağlandı. Tüp içine 50 µl DNA rehidratasyon solüsyonu eklenerek oda sıcaklığında 1 gece bekletildi ve tüp çeperine yapışık halde bulunan DNA'nın rehidratasyon çözeltisine geçmesi sağlandı. 50 µl'lik DNA çözeltisi PCR 'a uygulanıncaya kadar -20 °C 'de saklandı.

2.5.3. *GSTMI* Geninin PCR ile Amplifikasyonu

GSTMI genotip analizi Nair ve arkadaşları tarafından açıklanan protokole göre yapıldı (72). PCR amplifikasyonunda istenen 216 baz çiftlik DNA bölgesi 5'-GTTGGGCTCAAATATACGGTGG-3' (forward) 5'-GAACTCCCTGAAAAGCTAAAGC-3' (reverse) primerleri kullanarak çoğaltıldı. β-globin geninin amplifikasyonu internal pozitif kontrol olarak kullanıldı ve amplifikasyon için

5'-GAAGAGCCAAGGACAGGTAC-3' (forward) ve 5'-CAACTTCATCCACGT
TCACC -3' (reverse) primerleri kullanıldı.(72)

Her bir reaksiyon için 200 µl'lik PCR tüpüne sırası ile:

2.5 µl	10 X Reaksiyon Tamponu*
1.5 µl	25 mM Mg ⁺⁺ *
0.5 µl	10 mM dNTP (mix)**
1 µl	10 µM GSTM1 (F)
1 µl	10 µM GSTM1 (R)
1 µl	10 µM B-Globin (F)
1 µl	10 µM B-Globin (R)
1 U	Taq DNA Polimeraz
50-100 ng	DNA (50 µl lik çözeltiden 1 µl)

kalıp DNA eklendikten sonra son hacim distile su ile 25 µl 'ye tamamlandı ve tüp kapakları kapatılmadan önce içerik birkaç kez dikkatlice pipetlendi. Örnekler PCR termal cyclus'a dikkatlice yerleştirildi. *GSTM1* geni için optimum olan reaksiyon ısıları ve döngü sayısı cihaza programlanarak polimerizasyon başlatıldı.

GSTM1 geni için optimum PCR şartları:

95 °C 'de 5 dakika başlangıç denatürasyonu

94 °C 'de 1 dakika denatürasyon

64 °C 'de 1 dakika primerlerin yapışması (annealing)

72 °C 'de 1 dakika polimerizasyon

72 °C 'de 5 dakika final ekstansiyon olmak üzere 30 döngü olarak gerçekleştirildi.

* Enzimi üreten firma tarafından sağlanmıştır

** Eşit konsantrasyonda adenin, guanin, sitozin, timin nükleotid karışımı (Eşit konsantrasyonda dört deoksitükleotid trifosfatın (adenin, guanin, sitozin, timin) karışımı)

PCR sonrası ürünler jel elektroforezine kadar -20 °C derin dondurucuda saklandı.

2.5.4. *GSTT1* Geninin PCR ile Amplifikasyonu

GSTT1 genotip analizi Nair ve arkadaşları tarafından açıklanan protokole göre yapıldı (72.). PCR işleminde *GSTT1* polimorfizmi için 450 bp'lik DNA bölgesi 5'-TTCCTTACTGGTCCTCACATCTC-3' (forward) ve 5'- TCACCGAATC ATGGCCAGCA -3' (reverse) primerleri kullanılarak (73) çoğaltıldı. Her bir reaksiyon için 200 µl'lik PCR tüpüne sırası ile:

2.5 µl	10 X Reaksiyon Tamponu [†]
1.5 µl	25 mM Mg ⁺⁺ *
0.5 µl	10 mM dNTP (mix)**
1 µl	10 µM <i>GSTT1</i> (F)
1 µl	10 µM <i>GSTT1</i> (R)
1 µl	10 µM B-Globin (F)
1 µl	10 µM B-Globin (R)
1 U	Taq DNA Polimeraz
50-100 ng	DNA (50 µl lik çözeltiden 1 µl)

Kalıp DNA eklendikten sonra son hacim distile su ile 25 µl 'ye tamamlandı ve tüp kapakları kapatılmadan önce içerik birkaç kez dikkatlice pipetlendi. Örnekler PCR termal cycler'a dikkatlice yerleştirildi. *GSTMI* geni için optimum olan reaksiyon ısıları ve döngü sayısı cihaza programlanarak polimerizasyon başlatıldı.

Amplifikasyon için *GSTMI* için kullanılan PCR şartları kullanıldı.

[†] Enzimi üreten firma tarafından sağlanmıştır

** Eşit konsantrasyonda adenin, guanin, sitozin, timin nükleotid karışımı (Eşit konsantrasyonda dört deoksintükleotid trifosfatın (adenin, guanin, sitozin, timin) karışımı)

PCR sonrası ürünler jel elektroforezine kadar -20 °C derin dondurucuda saklandı.

2.5.5. PCR Amplifikasyon Ürünlerinin Jel Elektroforezi

5XTBE çözeltisinin hazırlanışı: 4 g Trizma baz, 27,5 g borik asit ve 20 ml 0.5 M EDTA.2H₂O (pH:8) karıştırılarak distile su ile 1 litreye tamamlandı.

0.5XTBE çözeltisinin hazırlanışı: 100 ml 5XTBE çözeltisi alındı, distile su ile 1 litreye tamamlandı.

0.5 M EDTA çözeltisinin hazırlanışı: 93.05 g EDTA.2H₂O 400 ml distile suda çözüldü, 10 N NaOH ile pH'sı 8'e ayarlandıktan sonra son hacim distile su ile 500 ml'ye tamamlandı.

%2 lik Agaroz jel hazırlanışı: 3 g agaroz tartıldı. 500 ml'lik erlen içine konuldu, 0.5XTBE çözeltisi ile 150 ml ye tamamlandı. Mikro dalga fırın kullanılarak katı agaroz partiküllerinin tamamen eriyip saydam görünümlü jel haline gelinceye kadar kaynatılması suretiyle hazırlanan jel ~60 °C sıcaklığa kadar hızlıca soğutuldu ve jel tablasına döküldü.

PCR Ürünlerinin Uygulanması: 25 µl hacimdeki PCR ürününden 15 µl alındı ve üzerine 5 µl 6X boya solüsyonu eklendi, tüp içeriği birkaç kez pipetlendi. 0.5XTBE çözeltisi ile dolu olan tank içine oturtulmuş olan jelin ilk kuyucuğuna 100 baz çiftlik DNA markörü uygulandı ve sıra ile diğer kuyucuklara tüp içeriğinin tamamı (~20 µl) uygulandı.

Elektroforez işlemi 80 V 85 mA şartlarında 120 dakika sürdürüldü.

Sonuçların Değerlendirilmesi: Elektroforez işlemi bittikten sonra agaroz jel tanktan çıkarıldı. Çalkalayıcı üzerinde önce 0,5 µg/ml etidyum bromür (Et2Br) içeren çözelti ile 15 dakika, ardından 15 dakika distile su ile muamele edilerek interkalatör madde olan Et2Br'ün DNA çift sarmalına bağlanması sağlandı.

Daha sonra Jel, görüntüleme sistemine konularak UV ışık altında Et2Br'ün floresans özelliğine dayanarak DNA fragmanlarının bantlar halinde görüntülenmesi ile genotipler değerlendirildi. *GSTMI* pozitif genotip taşıyan bireylerde *GSTMI* genine ait 216 baz çiftlik ve β -globin genine ait 268 baz çiftlik 2 bant görülürken, *GSTMI* null genotip taşıyan bireylerde sadece β -globin genine ait tek bant görüldü. Aynı şekilde *GSTT1* pozitif genotip taşıyan bireylerde 450 baz çiftlik ve 268 baz çiftlik iki adet bant görülürken, *GSTT1* null genotiplerde β -globin genine ait tek bant görüldü. Her örneğin jel fotoğrafı çekilerek kaydedildi (Resim1).

2.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ YÖNTEMLERİ

İstatistiksel analizler için “SPSS 11.0 for windows” paket programı kullanılmıştır. İstatistiksel değerlendirmede “ $p<0,05$ ” istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Histopatolojik tanıya göre, hastaların genotip dağılımları, sigara ve alkol kullanımının istatistiksel değerlendirmesi χ^2 ve Fisher exact testi ile yapılmıştır.

BÖLÜM III

BULGULAR

Çalışmaya katılan 93 hastaya ait tüm bireysel veriler Tablo 5’de verilmiştir.

Hastaların içtikleri sigara miktarı, “hastanın sigara içtiği süre (gün) X içtiği günlük sigara adedi” olarak hesaplanmış ve paket-yıl olarak ifade edilmiştir. Sigara içme sayısına göre gruplandırma 0-20 paket-yıl, 20-40 paket-yıl ve >40 paket-yıl şeklinde yapılmıştır. Çalışmaya katılan hastalardan sadece 1 tanesi hiç sigara içmediği için bu hasta “0-20 paket-yıl” grubuna eklenmiştir.

Alkol kullanımında aylık içilen miktar göz önüne alınarak “<1 kadeh”, “1-2 kadeh”, “>2-4 kadeh”, “>4-8 kadeh” ve “>8 kadeh” şeklinde gruplandırma yapılmıştır.

Hastaların demografik özellikleri, sigara-alkol kullanımı, kanser histopatolojisi ve genotip özellikleri Tablo 6-10’da verilmiştir.

Histopatolojik sınıflandırmaya göre akciğer kanser tiplerinin dağılımı ile *GSTM1*, *GSTT1* genotip dağılımlarının grafiksel gösterimi Şekil 4-5’te verilmiştir.

Akciğer kanser vakalarının %19,4’ünü küçük hücreli akciğer kanseri ve %80,6’sını küçük hücreli dışı akciğer kanseri oluşturuyordu. Küçük hücreli dışı akciğer kanseri olgularının %2,2’si büyük hücreli akciğer kanseri, %10,8’i adenokarsinom ve %24,7’si skuamöz hücreli karsinom olarak saptandı. Küçük

hücreli dışı akciğer kanseri vakalarının %43'ünü tanısı konmamış vakalar oluşturmaktaydı.

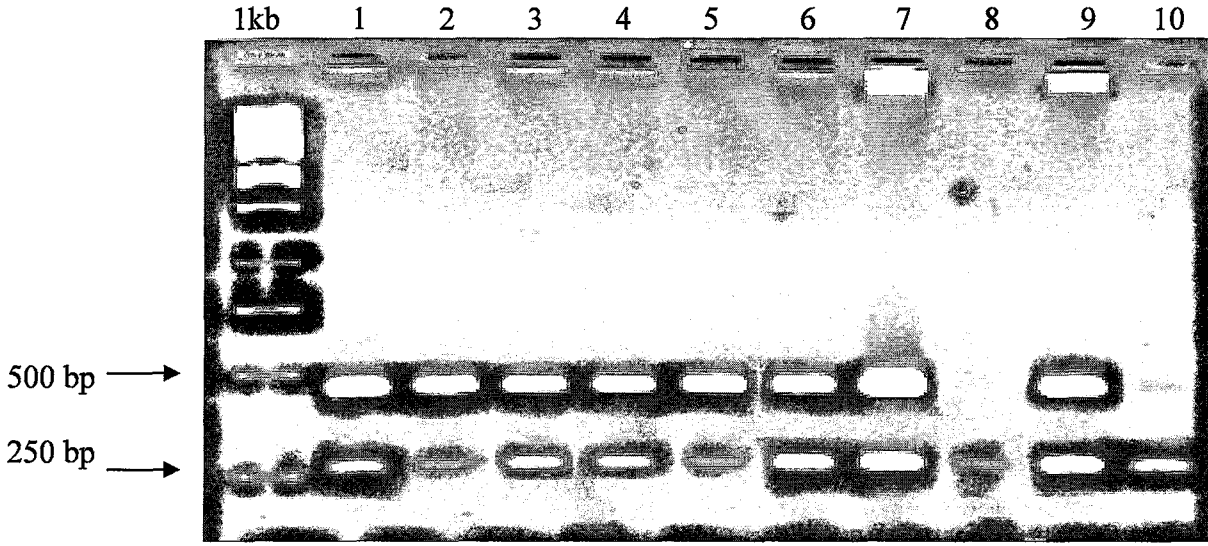
Hastaların %71'i *GSTM1* pozitif, %29'u *GSTM1* null, %87,1'i *GSTT1* pozitif ve %12,9'u *GSTT1* null genotipi taşıyordu. Yapılan istatistiksel değerlendirmede *GSTT1* ve *GSTM1* genotip dağılımlarının kanser histopatolojisi üzerine herhangi bir etkisi saptanmadı.

Hastaların sigara kullanımı ile genotipleri arasındaki ilişki değerlendirildiğinde *GSTM1* null genotipine sahip bireylerin içtikleri sigara miktarının *GSTM1* pozitif genotip taşıyanlara göre yüksek olduğu belirlendi. Ancak gerek *GSTM1* gerekse *GSTT1* null yada pozitif genotiplere sahip olma ile içilen sigara düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı (Tablo 8).

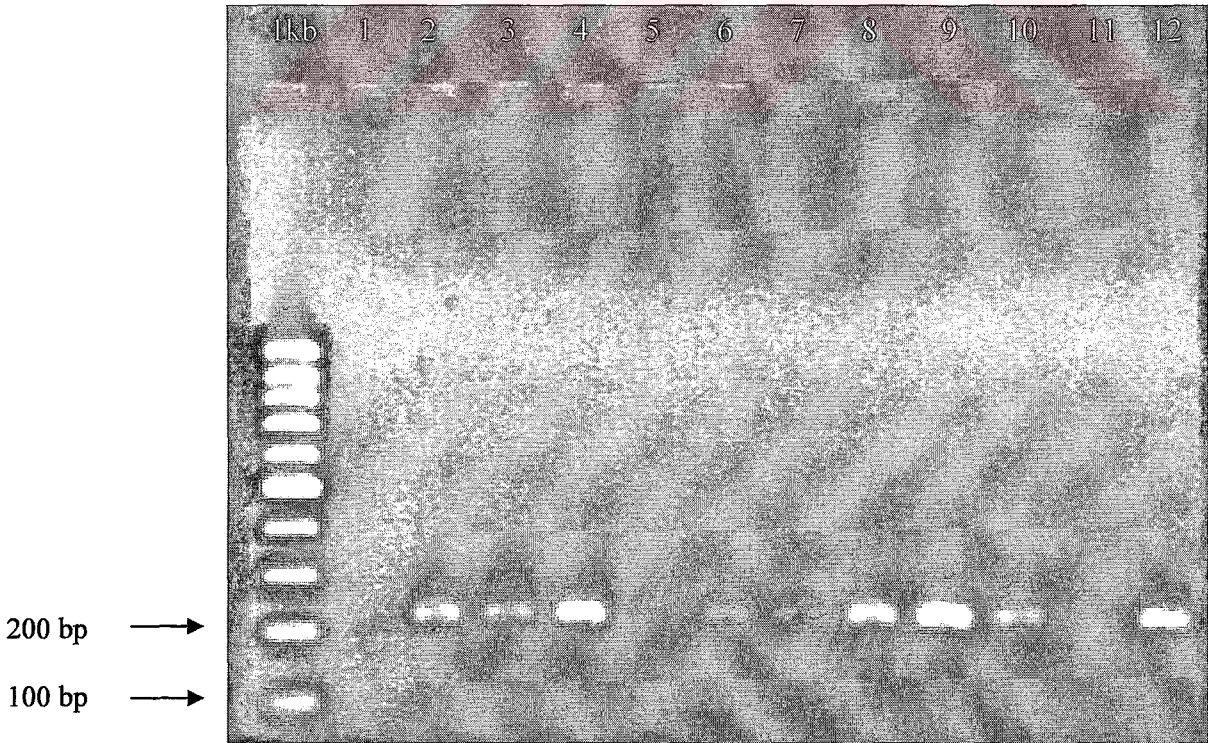
İçilen sigara miktarlarının kanser histopatolojisi üzerine bir etkisi olmadığı saptandı (Tablo 9).

Akciğer kanserinde alkol kullanma alışkanlığı ile genotip dağılımları ve Akciğer kanser histopatolojisi ile alınan alkol miktarı değerlendirildiğinde de istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (Tablo 10).

Resim 1. GSTT1 ve GSTM1 Jel Fotoğraflarından Örnekler



GSTT1 PCR Amplifikasyonu , GSTT1 450bp β -Globin 268 bp



GSTM1 PCR Amplifikasyonu, GSTM1 216 bp

Tablo 5. Hastalara ait tüm veriler

Örnek No	Kimlik	Cinsiyet	Yaş (yıl)	SİĞARA			ALKOL			Histopatolojik Tanı*	Evre	GSTM1	GSTT1
				İçme durumu	İçme Süresi (yıl)	İçilen Miktar (paket-)	Kullanma Durumu	Kullanma Süresi (yıl)	Kullanılan miktar (kadeh/yıl)				
1	S.A	E	42	+	23	20	-	.	0	SHK	3	+	
2	C.S	E	54	+	35	39	-	.	0	KHAK	4	+	
12	S.U	E	64	+	40	36	-	.	0	KHAK	1	+	
15	Ö.K	E	52	-	0	0	-	.	0	KHDAK	2	-	
16	D.S	E	70	+	40	26	-	.	0	KHDAK	4	+	
17	M.G	E	52	+	35	40	+	.	10	KHAK	4	+	
18	N.Ö	E	52	+	34	30	+	.	38	SHK	2	-	
19	S.D	E	54	+	35	39	-	.	0	SHK	4	-	
20	İ.G	E	52	+	40	25	+	.	39	KHDAK	4	+	
21	R.G	E	69	+	50	44	+	.	11	AK	3	+	
22	N.Ç	E	65	+	43	48	+	.	4	SHK	3	+	
23	C.S	E	58	+	35	31	-	.	0	KHDAK	4	-	
24	N.A	E	60	+	30	27	-	.	0	SHK	4	+	
25	A.K	E	56	+	37	33	-	.	0	AK	2	+	
26	Y.O	E	64	+	42	48	-	.	0	AK	4	+	
27	F.E	E	40	+	20	23	-	.	0	KHDAK	4	+	
28	M.M	E	69	+	45	51	-	.	0	SHK	2	+	
29	M.D	E	48	+	20	23	-	.	0	KHAK	3	-	
30	A.D	E	53	+	40	34	-	.	0	KHDAK	4	-	
31	H.K	E	75	+	35	31	+	.	32	KHDAK	4	+	
33	S.C	E	60	+	30	34	+	.	13	KHAK	4	-	
34	O.E	E	70	+	50	56	+	.	4	SHK	4	+	
36	K.D	E	73	+	50	44	-	.	0	KHAK	4	-	
37	İ.S	E	51	+	30	27	-	.	0	AK	4	-	
38	T.A	E	62	+	45	51	+	.	133	BHAK	1	-	

*KHAK: Küçük Hücreli Akciğer Kanseri; KHDAK: Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri; BHAK: Büyük Hücreli Akciğer Kanseri; AK: Adenokarsinom; SHK: Skuamöz Hücreli Karsinom

Devamı arka sayfada

Örnek No	Kimlik	Cinsiyet	Yaş (yıl)	SİGARA			ALKOL			Histopatolojik Tanı*	Evre	GSTM1	GSTT1
				İçme Durumu	İçme Süresi (yıl)	İçilen Miktar (paket-)	Kullanma Durumu	Kullanma Süresi (yıl)	Kullanılan miktar (kadeh/yıl)				
39	C.A	E	57	+	45	40	-	.	0	SHK	4	+	
40	N.O	E	58	+	40	36	+	15	17	AK	4	-	
43	S.G	E	54	+	30	34	+	20	11	KHDAK	4	+	
44	H.K	E	71	+	15	10	-	.	0	SHK	4	-	
46	A.K	E	59	+	35	40	+	25	11	AK	4	+	
47	H.E	E	65	+	44	50	-	.	0	KHAK	4	+	
50	V.H	E	66	+	30	26	-	.	0	AK	1	-	
51	N.D	E	62	+	40	36	-	.	0	SHK	4	-	
52	İ.E	E	54	+	40	36	-	.	0	KHDAK	3	+	
53	O.A	E	73	+	43	49	-	.	0	SHK	1	+	
55	H.A	E	65	+	45	40	+	15	4	KHAK	3	-	
58	P.S	E	64	+	40	45	-	.	0	KHAK	4	+	
63	M.İ	E	58	+	45	51	+	39	110	KHAK	4	+	
64	İ.K	E	59	+	25	16	-	.	0	SHK	4	+	
65	H.O	E	52	+	30	34	-	.	0	SHK	4	-	
66	R.E	E	66	+	40	36	+	10	3	AK	1	+	
67	M.T	E	45	+	20	23	+	10	3	KHAK	4	-	
68	M.E	E	55	+	35	40	-	.	0	KHDAK	4	+	
72	O.E	E	63	+	50	57	-	.	0	SHK	3	+	
73	A.G	E	60	+	45	51	+	30	118	KHAK	2	-	
74	A.A	E	48	+	30	34	+	15	59	SHK	3	-	
81	O.A	E	76	+	61	54	+	30	59	SHK	4	+	
83	Y.K	E	64	+	40	36	-	.	0	SHK	1	-	
89	S.O	E	73	+	58	66	+	45	133	BHAK	2	+	
98	A.T	E	67	+	40	36	-	.	0	KHDAK	4	+	
99	İ.S	E	60	+	40	36	-	.	0	SHK	4	+	

*KHAK: Küçük Hücreli Akciğer Kanseri; KHDAK: Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri; BHAK: Büyük Hücreli Akciğer Kanseri; AK: Adenokarsinom; SHK: Skuamöz Hücreli Karsinom

Devamı arka sayfada

Örnek No	Kimlik	Cinsiyet	Yaş (yıl)	SİGARA			ALKOL			Histopatolojik Tanı*	Evre	GSTM1	GSTT1
				İçme Durumu	İçme Süresi (yıl)	İçilen Miktar (paket-yıl)	Kullanma Durumu	Kullanma Süresi (yıl)	Kullanılan miktar (kadeh/yıl)				
105	N.E	E	70	+	25	22	+	40	23	KHAK	3	+	-
107	MB	E	74	+	60	53	-	.	0	AK	4	+	-
124	M.D	E	43	+	50	54	-	.	0	SHK	4	-	+
125	C.C	E	48	+	20	13	+	10	6	KHDAK	4	-	+
126	A.B	E	45	+	15	10	-	.	0	KHDAK	4	+	+
127	A.S	E	53	+	20	8	-	.	0	KHDAK	3	+	-
128	C.O	E	59	+	40	26	-	.	0	KHDAK	3	-	+
129	A.U	E	63	+	30	27	-	.	0	KHAK	4	+	+
130	A.D	E	59	+	20	13	+	10	11	KHDAK	4	+	+
131	H.D	E	51	+	40	45	+	40	23	KHDAK	4	+	+
132	A.R.F	E	61	+	25	22	+	5	6	KHAK	4	-	+
133	A.C	E	64	+	20	8	+	10	3	KHDAK	4	+	+
134	A.S	E	58	+	25	16	+	10	6	KHDAK	4	+	+
135	A.S	E	57	+	20	18	-	.	0	KHDAK	3	+	+
136	V.A	E	46	+	28	32	-	.	0	AK	4	-	+
137	U.K	E	63	+	40	45	+	42	124	SHK	1	+	-
138	M.D	E	55	+	30	27	-	.	0	SHK	3	+	+
139	A.A	E	56	+	30	27	-	.	0	KHDAK	4	+	+
140	A.S	E	55	+	53	60	+	50	63	KHDAK	4	+	-
143	V.O	E	62	+	45	51	-	.	0	KHDAK	4	+	+
144	K.Y	E	56	+	36	41	-	.	0	KHDAK	4	+	+
147	B.K	E	56	+	28	25	-	.	0	SHK	3	+	+
148	Z.E	E	47	+	31	27	+	20	6	KHDAK	3	+	-
152	A.Y	E	66	+	45	50	-	.	0	KHAK	3	+	+
154	S.C	E	61	+	40	36	-	.	0	KHDAK	4	+	+
155	C.K	E	67	+	5	2	+	2	1	SHK	1	+	+

*KHAK: Küçük Hücreli Akciğer Kanseri; KHDAK: Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri; BHAK: Büyük Hücreli Akciğer Kanseri; AK: Adenokarsinom; SHK: Skuamöz Hücreli Karsinom

Devamı arka sayfada

Örnek No	Kimlik	Cinsiyet	Yaş (yıl)	SİĞARA			ALKOL			Histopatolojik Tanı*	Evre	GSTM1	GSTT1
				İçme Durumu	İçme Süresi (yıl)	İçilen Miktar (paket-yıl)	Kullanma Durumu	Kullanma Süresi (yıl)	Kullanılan miktar (kaadeh/yıl)				
156	Y.O	E	73	+	30	26	-	.	0	KHAK	4	+	+
209	A.R.D	E	60	+	20	13	-	.	0	KHDAK	4	+	+
231	H.K	E	57	+	25	16	-	.	0	KHDAK	3	+	+
234	İ.Z	E	58	+	30	16	+	20	6	KHDAK	3	+	+
242	Y.T	E	50	+	30	33	-	.	0	KHDAK	4	+	+
243	H.S	E	66	+	30	12	-	.	0	KHDAK	4	+	+
244	H.G	E	70	+	30	27	+	10	4	KHDAK	4	+	+
245	H.K	E	71	+	25	10	-	.	0	KHDAK	3	+	+
246	H.Z	E	62	+	30	12	+	20	6	KHDAK	3	+	+
247	H.D	E	67	+	40	16	-	.	0	KHDAK	4	+	+
249	H.A	E	72	+	40	26	+	20	6	KHDAK	3	+	+
250	H.S	E	70	+	40	16	+	30	13	KHDAK	3	+	+
252	H.A	E	67	+	20	18	+	20	8	KHDAK	2	+	+
253	H.G	E	48	+	20	8	-	.	0	KHDAK	3	+	+
254	H.D	E	64	+	40	16	+	20	6	KHDAK	4	+	+
255	H.S	E	70	+	40	16	-	.	0	KHAK	3	+	+

*KHAK: Küçük Hücreli Akciğer Kanseri; KHDAK: Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri; BHAK: Büyük Hücreli Akciğer Kanseri; AK: Adenokarsinom; SHK: Skuamöz Hücreli Karsinom

Tablo 6. Akciğer kanser histopatolojisine göre hastaların özellikleri

A. Tüm hastalar

Histopatolojik Tanı*	Hasta sayısı n (%)	Yaş (yıl) ** (ort ± SS)	Sigara Alışkanlığı (+/-)	Alkol Alışkanlığı (+/-)
KHAK	18 (19,4)	61,72 ± 7,9	18/0	8/10
KHDAK	75 (80,6)	61,72 ± 8,1	74/1	38/37
Tüm Vakalar	93 (100,0)	59,99 ± 8,3	92/1	46/47

* KHAK: Küçük Hücreli Akciğer Kanseri; KHDAK: Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri;
**Yaş “ortalama (ort) ± standart sapma (SS)” olarak ifade edilmiştir

B. Küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalar

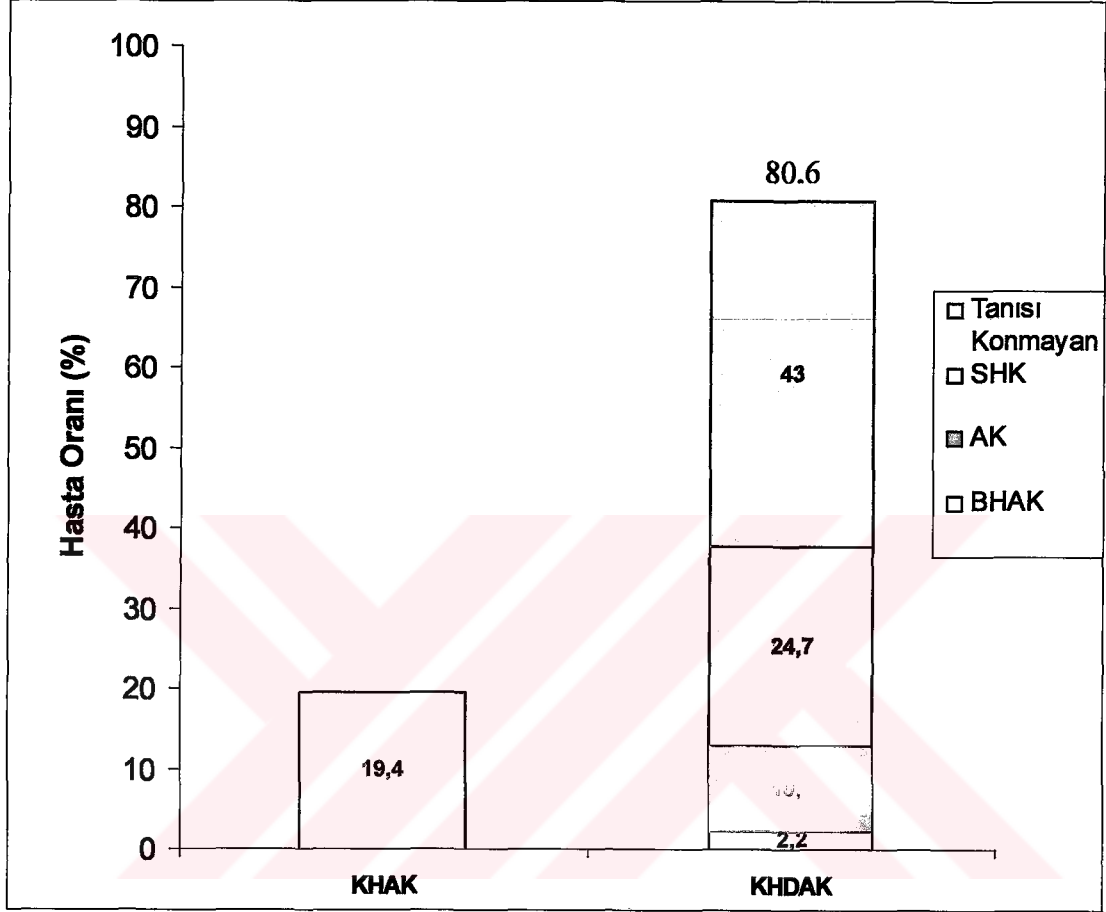
Histopatolojik Tanı*	Hasta sayısı n (%)***	Yaş (yıl) ** (ort ± SS)	Sigara Alışkanlığı (+/-)	Alkol Alışkanlığı (+/-)
SHK	23 (24,7)	60,04 ± 9,0	23/0	7/16
AK	10 (10,8)	60,90 ± 8,5	10/0	4/6
BHK	2 (2,2)	67,50± 7,7	2/0	2/0
Tanısı belli olmayan	40 (43)	58,58±8,1	39/1	17/23

*BHAK: Büyük Hücreli Akciğer Kanseri; AK: Adenokarsinom;
SHK: Skuamöz Hücreli Karsinom

**Yaş “ortalama (ort) ± standart sapma (SS)” olarak ifade edilmiştir

*** % değerleri tüm hastaların (n=93) %'si olarak gösterilmiştir

Şekil 4. Histopatolojik tanıya göre akciğer kanser tiplerinin dağılımı



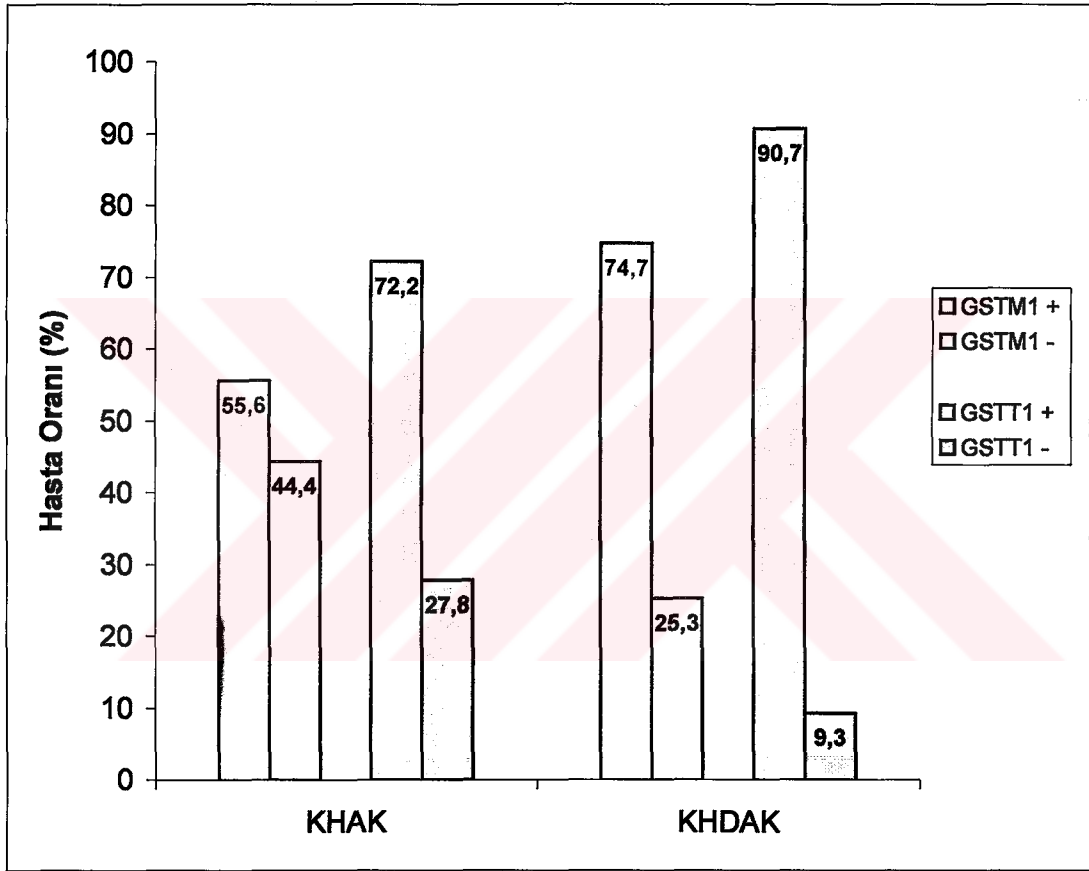
* KHAK: Küçük Hücreli Akciğer Kanseri; KHDAK: Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri;
BHAK: Büyük Hücreli Akciğer Kanseri; AK: Adenokarsinom;
SHK: Skuamöz Hücreli Karsinom

Tablo 7. Histopatolojik tanıya göre GSTM1 ve GSTT1 genotip dağılımları

Histopatolojik Tanı*	Hasta sayısı	GSTM1		GSTT1	
	n (%)	pozitif n (%)	null n (%)	pozitif n (%)	null n (%)
KHAK	18 (19,4)	10 (55,6)	8 (44,4)	13 (72,2)	5 (27,8)
KHDAK	75 (80,6)	56 (74,7)	19 (25,3)	68 (90,7)	7 (9,3)
Tüm Vakalar	93 (100)	66 (71,0)	27 (29,0)	81 (87,1)	12 (12,9)

* KHAK: Küçük Hücreli Akciğer Kanseri; KHDAK: Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri

Şekil 5. Histopatolojik tanıya göre GSTM1 ve GSTT1 genotip dağılımlarının grafiksel gösterimi



* KHAK: Küçük Hücreli Akciğer Kanseri; KHDAK: Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri

Tablo 8. Histopatolojik tanıya göre içilen sigara miktarları

Histopatolojik Tanı*	İçilen sigara miktarları (paket-yıl)		
	<20	20-40	>40
	n(%)	n(%)	n(%)
KHAK	1 (5,6)	11 (61,1)	6 (33,3)
KHDAK	22 (29,3)	36 (48,0)	17 (22,7)
Tüm Vakalar	23 (24,7)	47 (50,5)	23 (24,7)

* KHAK: Küçük Hücreli Akciğer Kanseri; KHDAK: Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri

Tablo 9. GSTM1 ve GSTT1 genotip dağılımları ve içilen sigara miktarları

Genotip	İçilen sigara miktarı(paket-yıl)			Toplam n(%)
	<20	20-40	>40	
	n(%)	n(%)	n(%)	
GSTM1 null	3 (11,1)	19 (70,4)	5 (18,5)	27 (100,0)
GSTM1 pozitif	20 (30,3)	28 (42,4)	18 (27,3)	66 (100,0)
GSTT1 null	2 (16,7)	5 (41,7)	5 (41,7)	12 (100,0)
GSTT1 pozitif	21 (25,9)	42 (51,9)	18 (22,2)	81 (100,0)

Tablo 10. Histopatolojik tanıya göre alkol kullanımı

Histopatolojik Tanı*	Alkol kullanma alışkanlığı	
	evet n(%)	hayır n(%)
KHAK	8 (44,4)	10 (55,6)
KHDAK	30 (40)	45 (60)

* KHAK: Küçük Hücreli Akciğer Kanseri; KHDAK: Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri

BÖLÜM IV

TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmamızda 93 akciğer kanserli hastada *GSTM1* ve *GSTT1* genotip dağılımı araştırılmıştır. Olgular histopatolojik tanıya göre gruplandırılmış ve verilerin histopatolojik farklılıklarla ilişkisi değerlendirilmiştir.

Akciğer kanserinin histopatolojisi genetik yatkınlık, ırk, yaşam şekli, çevresel ve mesleki maruziyet gibi çeşitli faktörlerden etkilenmektedir. Epidemiyolojik verilere göre ülkemizde en sık rastlanan akciğer kanseri skuamöz hücre karsinomudur; bunu küçük hücreli akciğer kanseri ve adenokarsinom izlemektedir (13,14). Çalışmamıza katılan bireylerin %19,4'ünü küçük hücreli akciğer kanserli, %80,6'sını ise küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalar oluşturmaktaydı. Küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalar grubundaki 40 kişinin (tüm hastaların % 43'ü) histopatolojik özelliklere göre alt tiplerinin ayırımı yapılamamıştı. Tüm hastaların %24,7'sini skuamöz hücre karsinomlu, % 10,8'ini adenokarsinomlu ve % 2,2'sini ise büyük hücreli akciğer kanserli hastalar oluşturmaktaydı. Görüldüğü gibi çalışmamızda akciğer kanserli hastaların histopatolojik dağılımı, epidemiyolojik verilerle benzerlik göstermektedir. Pınarbaşı ve arkadaşlarının 101 akciğer kanserli hastada yaptıkları araştırmada da benzer şekilde skuamöz hücreli karsinom sıklığının

yüksek olduğu (%43); bunu % 26 ile küçük hücreli akciğer kanserinin izlediği bildirilmiştir (55). Schneider ve arkadaşlarının 446 hasta ile yürüttükleri bir çalışmada da skuamöz hücreli karsinomun en yüksek oranda görülen akciğer kanseri olduğu saptanmıştır (%41) (56).

GSTM1 null genotipine sahip olmanın akciğer kanser riskiyle ilişkisinin araştırıldığı çalışma sonuçları çelişkilidir (52,55,56,66,67). Çalışmamıza katılan hastaların %29'u *GSTM1* null genotipine sahipti. Pınarbaşı ve arkadaşlarının çalışmasında bu oran %48 olarak bulunmuştur. Diğer popülasyonlardaki çalışmalara bakıldığında Alman Caucasianlar' da akciğer kanserli hastaların %52.5'inin, Fin popülasyonunda %62'sinin, Afrika kökenli Amerikalılar'da yapılan bir araştırmada hastaların %31.6' sının *GSTM1* null genotipi taşıdığı bildirilmiştir (56, 66, 67,68). 11 çalışmayı kapsayan bir meta-analiz çalışması sonucunda *GSTM1* delesyon polimorfizminin akciğer kanseri riskini 1.4 kez arttırdığı, ancak bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur (68). 23 vaka-kontrol çalışmasını kapsayan bir başka meta-analiz çalışmasında da istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte *GSTM1* delesyon polimorfizminin akciğer kanseri riskini 1.13 kez arttırdığı bildirilmiştir (71). Pınarbaşı ve arkadaşları ise çalışmalarında *GSTM1* delesyon polimorfizminin akciğer kanser riskini 4,1 kez arttırdığını saptamışlar ve akciğer kanser riski ile *GSTM1* null genotipi arasında güçlü bir ilişki olduğunu ileri sürmüşlerdir (55). GST polimorfizminin akciğer kanserli hastalarda dağılımını kapsayan çalışmamızda "kontrol grubu" olmadığı için *GSTM1* null genotipine sahip olmanın akciğer kanser riski ile ilişkisi değerlendirilemedi.

GSTM1 genotip dağılımını akciğer kanser histopatolojisine göre incelediğimizde *GSTM1* null genotip sıklığı küçük hücreli akciğer kanserinde

% 44.4, küçük hücreli dışı akciğer kanseri'nde ise % 25.3 olarak saptandı; ancak bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Ülkemizde yapılan diğer bir çalışmada Pınarbaşı ve arkadaşları da genotip dağılımı ile akciğer kanser histopatolojisi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptamamışlardır (55).

Hirvonen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada *GSTM1* null genotipinin skuamöz hücreli karsinom riskini artırdığı ileri sürülmüş, Ford ve arkadaşlarının Afrika kökenli Amerikalılar'da yaptıkları çalışmada da benzer sonuç elde edilmiştir (66,67). Kihara ve arkadaşları *GSTM1* null genotipinin skuamöz hücreli karsinom ve küçük hücreli akciğer kanseri riskini artırdığı ileri sürmüşlerdir (70). Stücker ve arkadaşlarının Fransız Caucasianlar' da yaptıkları çalışmada *GSTM1* null genotipinin adenokarsinom ve küçük hücreli akciğer kanseri riskinde artışa neden olurken skuamöz hücreli karsinom oluşumunda herhangi bir etkisi görülmemiştir (69).

Çalışmamızda *GSTT1* null genotip sıklığı %12,9 olarak bulundu. Kontrol grubu olmadığı için *GSTT1* null genotipinin akciğer kanser riski ile ilişkisi değerlendirilmedi. Stücker ve arkadaşlarının Fransız Caucasianlar' da yaptıkları araştırmada (251 hasta ve 268 kontrol) hasta grubunun %15'inin *GSTT1* null genotipine sahip olduğu, ancak bu genotipin akciğer kanser riskini etkilemediği gösterilmiştir (69). Kelsey ve arkadaşlarının akciğer kanserli hastalarda yaptıkları araştırmada da Afrika kökenli Amerikalılar ve Meksika kökenli Amerikalılar' da *GSTT1* null genotip sıklığının kontrollere göre anlamlı bir farklılık göstermediği bildirilmiştir (61). Schneider ve arkadaşlarının çalışmasında *GSTT1* null genotipi kontrol grubunda (%18,5), hasta grubuna (%16,8) göre daha yüksek bulunmuş, ancak farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bildirilmiştir (56).

GSTT1 genotip dağılımını akciğer kanser histopatolojisine göre incelediğimizde, *GSTT1* null genotip sıklığı küçük hücreli akciğer kanserinde (%27.8), küçük hücreli dışı akciğer kanserine göre (%9,3) daha yüksek bulunmasına karşın, *GSTT1* null genotip dağılımı ile akciğer kanseri histopatolojisi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Schneider ve arkadaşlarının çalışmasında da benzer sonuç bulunmuştur (56).

Sigara içme, akciğer kanseri etiolojisinde en büyük risk faktörü olarak bilinmektedir. Çeşitli çalışmalarda *GSTMI* null genotipine sahip olmanın sigara içen bireylerde akciğer kanseri riskini arttırdığı bildirilmiştir (55,67,70). Kontrol grubu olmadığı için bu çalışmada sigara içmenin akciğer kanser riski üzerindeki etkisi araştırılamamış, ancak GST polimorfizmi ile histopatolojik farklılıkların sigara içme ile ilişkisi değerlendirilmiştir. Çalışmaya katılanlardan *GSTMI* delesyonu olan bireylerde >20 paket-yıl sigara içenlerin oranı (%88.9), <20 paket-yıl sigara içenlere göre (%11.1) yüksek bulunmasına rağmen; farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildi. *GSTT1* genotip dağılımı ile içilen sigara miktarı arasında da bir ilişki saptanmadı. Pınarbaşı ve arkadaşlarının çalışmasında da *GSTMI* null genotipi ile sigara içme arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (55). Ford ve arkadaşlarının *GSTMI* null genotipi ile sigara içmenin akciğer kanseri üzerindeki kombine etkisini araştırdıkları çalışmada ise *GSTMI* null genotip taşıyan ve sigara içen bireylerde kanser riskinin 8.19 kat arttığı saptanmıştır (67).

Sonuç olarak çalışmamızda

- *GSTMI* ve *GSTT1* gen dağılımının akciğer kanser histopatolojisi üzerinde bir etkisi olmadığı
- İçilen sigara miktarı, GST polimorfizmi ve kanser histopatolojisi arasında anlamlı bir ilişki olmadığı bulunmuştur.

Son yıllarda çalışmalar akciğer kanser gelişiminde sitokrom P-450 enzimlerinin genetik polimorfizmlerinin etkisi üzerinde yoğunlaşmıştır (74,64,65). Bu tez çalışmasının bir parçasını oluşturduğu DPT projesinde de akciğer kanseri gelişiminde GST ve CYP-2A6 genetik polimorfizmlerinin etkileri araştırılmaktadır. Projenin tamamlanması ile elde edilen sonuçların, genetik polimorfizm ve sigara içmenin akciğer kanseri gelişimindeki rollerine ilişkin çalışmalara önemli katkı sağlayacağı düşüncesindeyiz.



ÖZET

Glutasyon S-transferazlar (GST), elektrofilik metabolitlerin glutasyon (GSH) ile konjugasyon reaksiyonlarını katalizleyen multifonksiyonel bir enzim ailesidir. GST enzim ailesinden *GSTM1* ve *GSTT1* sigara dumanında bulunan polisiklik aromatik hidrokarbonların (PAH) elektrofilik metabolitlerini detoksifiye ederler. *GSTM1* ve *GSTT1*' in insanlarda polimorfik olduğu bulunmuştur. Epidemiyolojik çalışmalar *GSTM1* ve *GSTT1* gen delesyonunun akciğer kanser riskini arttırdığını ileri sürmektedir.

Bu çalışmada *GSTM1* ve *GSTT1* genotip dağılımları akciğer kanserli 93 hastada araştırılmıştır. *GSTM1* ve *GSTT1* polimorfizmleri PCR analiz yöntemi ile tayin edilmiştir. Olgular akciğer tümörlerinin histopatolojik özelliklerine göre 2 gruba ayrılmıştır: küçük hücreli akciğer kanseri (%19,4) ve küçük hücreli dışı akciğer kanseri (%80,6). Küçük hücreli dışı akciğer kanseri; skuamöz hücreli karsinom (% 24,7), adenokarsinom (%10,8) ve büyük hücreli akciğer kanseri (% 2,2)' ni içeriyordu. *GSTM1* ve *GSTT1* null genotip dağılımları sırasıyla %29 ve %12,9' du. Çalışmamızda *GSTM1* ve *GSTT1* genetik polimorfizmlerinin akciğer kanseri histopatolojisi ve sigara içme üzerinde anlamlı bir etkisi bulunamamıştır.

ABSTRACT

Glutathione S-transferases (GST) are a multifunctional family of enzymes that catalyse the conjugation of glutathione (GSH) to a variety of electrophiles. *GSTM1* and *GSTT1*, the members of this family, detoxify the metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) found in tobacco smoke. *GSTM1* and *GSTT1* have been found to be polymorphic in human populations. Epidemiologic studies have suggested that individuals lacking *GSTM1* and *GSTT1* could potentially be at higher risk for lung cancer.

In the present study, distribution of *GSTM1* and *GSTT1* genotypes was investigated in 93 patients with lung cancer. The *GSTM1* and *GSTT1* polymorphisms were determined by PCR analysis. Cases were separated into two groups, based on histopathological features of lung tumors: small cell carcinoma (19,4%) and nonsmall cell carcinoma (80,6%). Nonsmall cell carcinoma included squamous cell carcinoma (24,7%), adenocarcinoma (10,8%) and large cell carcinoma (2,2%). The distribution of *GSTM1* and *GSTT1* null genotypes were 29% and 12,9% respectively. In current study, no significant effects of *GSTM1* and *GSTT1* genetic polymorphisms have been found on histopathology of lung cancer and smoking.

YARARLANILAN KAYNAKLAR

1. Spiro, SG., Porter, JC. (2002). Lung Cancer-Where are we Today Current Advances in Staging and Nonsurgical Treatment, *Am J Respir Crit Care Med*, 166: 1166-96
2. Parkin, GM., Pisani, P., Ferlay, J. (1999). Global Cancer Statistics, *CA Cancer J Clin*, 49: 33-64
3. Hecht, S.S. (1999). Tobacco Smoke Carcinogens and Lung Cancer, *J Natl Cancer Inst*, 91(14):1194-210
4. Engstrom, P. F., Clapper, M., Schnoll, R. A., Orleans, C. T., Kufe D.W. (2003) Cancer Medicine, Six edition, Inc., Ontario, Canada, page:383-396
5. Fidaner, C., Eser, Y., Parkin, M. (2001). Incidence in Izmir in 1993-1994: First Results From Izmir Cancer Registry, *Eur J Cancer* , 37(1): 83-92
6. İtil, O., Haydaroglu, A. (2000). Akciğer Kanserlerinin Epidemiolojisi ve Etiolojisi. Akciğer Kanserleri: Tanı ve Tedavi. İzmir, Ege Üniversitesi Basımevi, 15-34
7. Çelik, İ., Engin, K., Özyardımcı, N. (2001). Akciğer Kanserinde Epidemiyoloji, Akciğer Kanserleri. Tanı ve Tedavide Temel İlkeler ve Uygulamalar. İstanbul: Avrupa Tıp Kitapçılık. Yayınları, s:50-56.
8. Halilçolar, H., Tatar, D., Ertuğru, G., Çakan, A. (1999). Akciğer Kanseri Multidisipliner Yaklaşım. Toraks Kitapları Sayı:1, Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, s:17-22
9. Radzikowska, E., Raszkowski, K., Glaz, P. (2001). Lung Cancer in Patients Under 50 Years Old, *Lung Cancer*, 33: 203-211
10. Turkish Thoracic Society, Lung and Pleural Malignancies Study Group. (2002). Pattern of Lung Cancer in Turkey 1994-1998. *Respiration*; 69: 207-210
11. Akkoçlu, A., Savaş, İ. (2004). Akciğer Kanseri Tanı ve Tedavi Rehberi, Toraks Derneği, Akciğer ve Plevra Maligniteleri Çalışma Grubu
12. World Health Organization. (1999). Histological Typing of Lung and Pleural Tumors. *World Health Organization*, Copenhagen.
13. Skuladottir, H., Olsen, JH., Hirsch, FR. (2000). Incidence of Lung Cancer in Denmark: Historical and Actual Status, *Lung Cancer*, 27: 107-118
14. Cha, Q., Chen ,Y., Du, Y. (1997). The Trends in Histological Types of Lung Cancer During 1980-1988, Guangzhou, China., *Lung Cancer*, 17: 219-30

15. Çırak, K., Tatar, D., Özacar, R., Halilçolar, H. (1996). 40 Yaş Altı Akciğer Kanseri Olgularımız. XXI. Ulusal Türk Tüberküloz ve Göğüs Hastalıkları Kongresi Kitabı , 417-422
16. Karlıkaya, C., Akkoçlu, A. (2004). Akciğer Kanserinde Erken Tanı ve Korunma, *Türkiye Klinikleri Göğüs Hastalıkları Akciğer Tümörleri Özel Sayısı*, 2(3): 183-191
17. Mutlu, N. (2005). Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanseri Olgularında İmmünohistokimyasal Boyama ile Kemik İliğinde ve Mediastinoskopi ile N₀ Olan Lenf Nodlarında Mikrometastaz Araştırılması ve Sağkalıma Olan Etkisi, (Uzmanlık Tezi), İstanbul
18. Bilgel, N., Engin, K., Özyardımcı, N. (2001). Akciğer Kanserlerinin Epidemiyolojisi. 6.Uludağ Onkoloji Sempozyumu Kitabı ve Konsensus Raporu, Bursa Uludağ Üniversitesi Yayınları, 35-38
19. Barış, İ. (1987). Asbestos and Erionite Related Chest Diseases, Ankara, Semih Ofset Mat. 62-109
20. Tatar, D., Kılınç, O., Yorgancıoğlu, A. (2000). Akciğer Tümörü ve Akciğer Tüberkülozu Birlikteliği, *Solumum* , 2: 56-60
21. Zheng, W., Blot, W. Y., Liao, H. L., et al. (1987). Lung Cancer and Prior Tuberculosis Infection in Shanghai, *Br J Cancer*, 56:501
22. Novotny, T. E., Warner, K. E., Kendrick, J. S., et al. (1989). Smoking by Blacks and Whites: Socioeconomic and Demographic Differences, *Am J Public Health*, 78:1187-1192
23. Samet, J., Humble, C., Pathac, D., et al. (1986). Personal and Family History of Respiratory Diseases and Lung Cancer Risk, *Am Rev Respir Dis*, 134:466
24. Horwitz, R. I., Smaldone, L. F., Viscoli, C. M., et al. (1988). An Ecogenetic Hypothesis for Lung Cancer in Women, *Arch Intern Med*, 148:2609
25. Nakachi, N., Imai, K., Hayashi, S., et al. (1991). Genetic Susceptibility to Squamous Cell Carcinoma of the Lung in Relation to Cigarette Smoking Dose, *Cancer Res*, 51:5177
26. Bjelke, E. (1975). Dietary Vitamin A and Human Lung Cancer, *Int J Cancer*, 15:561

27. Woodson, K., Stewart, C., Barrett, M., et al.(1999). Effect of Vitamin Intervention on the Relationship, and Lung Cancer Risk Among Male Smokers, *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 8:965-970
28. Steinmetz, K. A., Potter, J. D., Falsom, A. R., et al. (1993). Vegetables, Fruit and Lung Cancer in the Iowa Women's Health Study, *Cancer Res*, 53:536
29. Stephen, S., Kristin, E., Hoffmann, D., Hoffmann, I., (1997). The Changing cigarette,1950-1995, *J Toxicol Environ Health*, 50:307-364
30. International Agency for Research (IARC) Monographs, (1986). Tobacco Smoking , *IARC Scientific Publication No:38*
31. International Agency for Research (IARC) Monographs, (1983). Polynuclear Aromatic Compounds, Part 1, Chemical, Environmental and Experimental Data, *IARC Scientific Publication No:32*
32. Thyssen, J, Althoff, J., Kimmerle, G., Mohr, U. (1981). Inhalation Studies With Benzo(a)pyrene in Syrian Golden Hamsters, *J Natl Cancer Inst* , 66: 575-577
33. Hecht, SS. (1998). Biochemistry, Biology and Carcinogenicity of Tobacco-Specific N-nitrosamines., *Chem Res Toxicol*, 11: 559-603
34. Hecht S., Hoffmann, D. (1988). Tobacco-specific nitrosamines, an important group of carcinogens in tobacco and tobacco smoke, *Carcinogenesis*, 9:117-24
35. International Agency for Research (IARC) Monographs, (1972). Some Inorganic Substances, Chlorinated Hydrocarbons, Aromatic Amines, N-Nitroso Compounds and Natural Products, *IARC Scientific Publication, No:1*
36. Hoffmann, D., Hecht, SS. (1990), Advances in Tobacco Carcinogenesis, *Handbook of Experimental Pharmacology*, 94/1: 63-102
37. Hemminki, K., Dipple, A., Shuker DEG., et al. (1994). DNA Adducts: Identification and Biological Significance, *IARC Scientific Publication No:125*
38. Miller, EC., Miller, JA., (1981). Searches for the Ultimate Chemical Carcinogenesis and Their Reactions with Cellulermacromolecules, *Cancer*, 47:2327-2345
39. Klaunig, J.E., Kamendulis, L.M. (2004). The Role of Oxidative Stress in Carcinogenesis, *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 44:239-267
40. Greenblatt, MS., Bennett, WP., Hollstein M., et al. (1994). Mutations in the p53 Tumor Suppressor Gene, *Cancer Res*, 54: 4855-4878
41. Hussain, SP., Harris, CC., (1998). Molecular Epidemiology of Human Cancer:Contribution of Mutation Spectra Studies of Tumor Tuppessor Genes, *CancerResearch*, 85: 4023-4037

42. Olshan, AF., Weissler, MC., Watson MA., et al. (1997). p53 Mutations in Head and Neck Cancer: New Data and Evaluation of Mutational Spectra, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 6: 499-504
43. Westra, WH., Slebos, RJ., Offerhaus GJ., et al. (1993). K-ras Oncogene Activation in Lung Adenocarcinomas From Former Smokers, *Cancer*, 72: 432-438
44. Strange, R., Jones, P., Fryer, A. (2000). Glutathione S-transferase: Genetics and Role in Toxicology, *Toxicology Letters*, 112-113: 357-363
45. Autrup, H. (2000). Genetic Polymorphisms in Human Xenobiotica Metabolizing Enzymes as Susceptibility Factors in Toxic Response, *Mutat Res*, 464(1):65-76
46. Cotton, S.C., Sharp, L., Little, J. and Brockton, N. (2000). Glutathione S-Transferase Polymorphisms and Colorectal Cancer: a Huge Review, *Am J Epidemiol*, 151(1):7-32
47. Geisler, S.A., Olshan, A.F. (2001). *GSTM1*, *GSTT1*, and the Risk of Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck: a Mini-Huge Review, *Am J Epidemiol*, 154(2):95-105
48. Landi, S. (2000). Mammalian Class Theta *GST* and Differential Susceptibility to Carcinogens: a Review, *Mutat Res*, 463(3):247-283
49. Wilce, M., Board, P., Feil, S., and Parker, M. (1995). Crystal Structure of A Theta-Class Glutathione Transferase, *The EMBO Journal*, 14:2133-2143
50. Kayaalp, S.O.(2002). Tıbbi Farmakoloji, Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd.Şti., 10. baskı, s: 43-57
51. Vural, N. (1996). Toksikoloji, Ankara Üniv. Ecz. Fak. Yayınları, No:73, s: 65-73
52. Stücker, I., Waziers, I., Cenee, S., et al. (1999). *GSTM1*, Smoking and Lung Cancer: A Case-Control Study, *International Journal of Epidemiology*, 28:829-835
53. Kihara, M., Noda, K. (1999). Lung cancer risk of the *GSTM1* null genotype is enhanced in the presence of the *GSTP1* mutated genotype in male japanese smokers, *Cancer Letters*, 137(1):53-60
54. Coughlin, S.S., Hall, I.J. (2002). Glutathione S-transferase Polymorphisms and Risk of Ovarian Cancer: a HuGE Review, *Genet Med*, 4(4):250-257
55. Pinarbasi, H., Silig, Y., Cetinkaya, O., et al.(2003). Strong Association Between the *GSTM1*- Null Genotype and Lung Cancer in a Turkish Population, *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 146:125-129

56. Schneider, J., Bernges, U., Philipp., and Weitowitz H. (2004). *GSTM1*, *GSTT1*, and *GSTP1* Polymorphism and Lung Cancer Risk in Relation to Tobacco Smoking, *Cancer Letters*, 208:65-74
57. Törüner, G., Akyerli, C., Uçar, A., et al. (2001). Polymorphisms of Glutathione S-Transferase Genes (*GSTM1*, *GSTP1* AND *GSTT1*) and Bladder Cancer Susceptibility In Turkis Population, *Arch Toxicol*, 75:459-464
58. Setiawan, V., Zhang, Z., Yu, G., et al. (2000). *GSTT1* and *GSTM1* Null Genotypes and the Risk of Gastric Cancer: A Case- Control Study in a Chinese Population, *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 9:73-80
59. Amorim, L.M., Rossini, A., Mendça, G.A.S., et al. (2002). *CYP1A1*, *GSTM1*, and *GSTT1* Polymorphisms and Breast Cancer Risk in Brazilian Women, *Cancer Letters*, 181: 179-186
60. Norppa, H. (2001). Genetic Polymorphisms and Chromosome Damage, *Int. J. Hyg. Environ. Health*, 204:31-38
61. Kelsey, K.T., Spitz, Z.F. (1997). Polymorphisms in the glutathione S-transferase class mu and theta genes interact and increase susceptibility to lung cancer in minority populations, *Cancer Causes Control*, 8: 554-559
62. Haugen, A., Ryberg, D., Mollerup, S., et al. (2000). Gene-environment Interactions in Human Lung Cancer, *Toxicol Lett*, 112-113:233-237
63. Ryberg, D., Skaug, V., Hwer, A., et al. (1997). Genotypes of Glutathione Transferase M1 and P1 and Their Significance for Lung DNA Adduct Levels and Cancer Risk, *Carcinogenesis*, 18:1285-1289
64. X Xu., KT Kelsey., (1996). Cytochrome P450 CYP1A1 MspI Polymorphism and Lung Cancer Susceptibility, *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 5: 687-692
65. Kawajiri, K. Nakachi, T., (1996). Association of CYP1A1 Germ Line Polymorphisms with Mutations of the p53 Gene in Lung Cancer, *Cancer Res*, 56: 72-76
66. Hirvonen, A., Husgafvel-Pursiainen, K., Anttila, S. and Vainio, H. (1993). The *GSTM1* Null Genotype as a Potential Risk Modifier for Squamous Cell Carcinoma of the Lung, *Carcinogenesis*, 14(7):1479-1481
67. Ford, J.G., Li, Y., O'Sullivan, M.M., et al. (2000). Glutathione S-transferase M1 Polymorphism and Lung Cancer Risk in African-Americans, *Carcinogenesis*, 21(11):1971-1975

68. McWilliams JR, Sanderson BJ., (1995). Glutathione S-Transferase M1 (GSTM1) deficiency and lung cancer risk., *Cancer Epidemiol Biomarkers* 4:589-594
69. Stücker, I., Hirvonen, A., Waziers, I., et al. (2002). Genetic Polymorphisms of Glutathione S-Transferases as Modulators of Lung Cancer Susceptibility, *Carcinogenesis*, 23:1475-1481
70. Kihara, M., Kihara, M., Noda, K. (1994). Lung Cancer Risk of *GSTM1* Null Genotype is Dependent on the Extent of Tobacco Smoke Exposure, *Carcinogenesis*, 15(2):415-418
71. Houlston, R.S. (1999). Glutathione S-transferase M1 Status and Lung Cancer Risk: a Meta-analysis, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 8(8):675-682
72. Nair, U.J., Nair, J., Mathew, B. and Bartsch, H. (1999). Glutathione S-transferase M1 and T1 Null Genotypes as Risk Factors for Oral Leukoplakia in Ethnic Indian Betel Quid/Tobacco Chewers, *Carcinogenesis*, 20(5):743-748
73. Cai, L., Yu, S.Z., Zhang, Z.F. (2001). Glutathione S-transferases M1, T1 Genotypes and the Risk of Gastric Cancer: a Case-control Study, *World J Gastroenterol*, 7(4):506-509
74. Aynacioglu, A.S., Cascorbi, I., Mrozikiewicz PM., and Roots I. (1998). High frequency of CYP1A1 mutations in a Turkish population. *Arch Toxicol*, 72: 215-218

EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ ARAŞTIRMA ETİK KURULU
RESEARCH ETHICS COMMITTEE OF MEDICAL FACULTY, EGE UNIVERSITY
Bornova, İZMİR-TÜRKİYE

Sayı:03-6/25M-395

25.06.2023

Sayın
Doç. Dr. Zeki TOPÇU
Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Kurulumuza başvurusunu yaptığınız protokol ve bilgilendirilmiş gönüllü olur formu ile ekli diğer belgeler çerçevesinde tasarlanan "**Ülkemizde Tütün Kullanımına Bağlı Akciğer Kanseri Oluşumu Üzerinde Sitokrom P4502A6 ve Glutasyon-S-Transferaz Genetik Polimorfizmlerinin Etkilerinin Belirlenmesi ve Farmakogenomik Yönden Değerlendirilmesi**" konulu araştırmanız incelenmiş, **araştırma giderlerinin gönüllüye ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödetilmediği koşullarda** adı geçen araştırmaya başlanmasında sakınca olmadığına oy birliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.



Prof. Dr. Kaan KAVAKLI
Başkan

Eki: İlgili Yerel Etik Kurul Kararı

İletişim İçin :
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi
Araştırma Etik Kurulu
Telefon/ Faks : 0 232 373 78 81
0 232 343 43 43/ 42 19
E-Posta : aetik@med.ege.edu.tr

EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ ARAŞTIRMA ETİK KURULU
RESEARCH ETHICS COMMITTEE OF MEDICAL FACULTY, EGE UNIVERSITY
Bornova, İZMİR-TÜRKİYE

ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL ADI	Ülkemizde Tütün Kullanımına Bağlı Akciğer Kanseri Oluşumu Üzerinde Sitokrom P4502A6 ve Glutasyon-S-Transferaz Genetik Polimorfizmlerinin Etkilerinin Belirlenmesi ve Farmakogenomik Yönden Değerlendirilmesi
	SORUMLU ARAŞTIRICI ÜNVANI/ADI	Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Biyoteknoloji Anabilim Dalı
	ARAŞTIRMA MERKEZİ	Doç. Dr. Zeki TOPÇU
	DESTEKLEYİCİ FİRMA	

DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	Belge Adı	Değişiklik No./ Tarihi	Dili
	PROTOKOL		
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLURU		
	OLGU RAPOR FORMU		

ÇALIŞMA ESASI	İYİ KLİNİK UYGULAMALAR KILAVUZU
----------------------	--

KARAR BİLGİLERİ	Karar No : 03- 6/ 25	Tarih :
	Fakültemizde yapılması tasarlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgelerin araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmesi sonucunda, araştırmaya ilişkin giderilerin gönüllüye ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödenmediği koşullarda gerçekleştirilmesinde sakınca olmadığına oy birliği ile karar verilmiştir.	

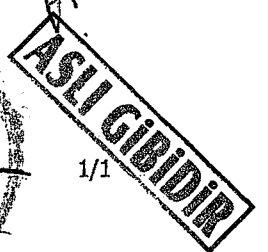
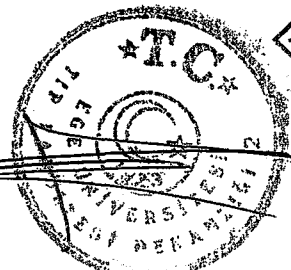
ETİK KURUL ÜYELERİ

Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Kabılım (**)	İmza
Prof. Dr. Kaan KAVAKLI Başkan	Çocuk Sağlığı Hst. ve Çocuk Kan Hst.	E.Ü.T.F. Çocuk Sağlığı ve Hst.AD.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Saliha SOYDAN Başkan Yardımcısı	Patoloji	E.Ü.T.F. Patoloji AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Uzm. Ecz. Neşe BOZTOK Raportör	Eczacı / Halk Sağlığı	E.Ü. ARGEFAR	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Ali Haydar BAYAT Üye	Tıp Tarihi ve Deontoloji	E.Ü.T.F. Tıp Tarihi ve Deontoloji	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Taner ONAT Üye	Biyokimya	E.Ü.T.F. Biyokimya AD.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Filiz BÜYÜKKEÇECİ Üye	İç Hst. ve Hematoloji	E.Ü.T.F. İç Hst. AD. Hematoloji BD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Yıldırım YÜZER Üye	Genel Cerrahi	E.Ü.T.F. Genel Cerrahi AD.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Hayriye ELBİ Üye	Psikiyatri	E.Ü.T.F. Psikiyatri AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Sibel GÖKSEL Üye	Farmakoloji	E.Ü.T.F. Farmakoloji AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Bahrî ÖZTÜRK Üye	Ceza ve Ceza Muhakemesi Hukuku	DEÜ.Hukuk Fakültesi	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Yard.Doç. Dr. Ekin Ö. AKTAŞ Üye	Adli Tıp	E.Ü.T.F. Adli Tıp AD.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	

Araştırma ile İlişki
Toplantıda Bulunma

Revizyon Tarihi : 02.06.2002

Bekir KESEBİR
FAKÜLTE SEKRETERİ



1/1

Gönüllü Olur Formu/Hasta

Tarih:

Araştırmanın Adı:

Ülkemizde tütün kullanımına bağlı akciğer kanseri oluşumu üzerinde Sitokrom *P450 2A6* ve Glutasyon-S-transferaz genetik polimorfizmlerinin etkilerinin belirlenmesi ve farmakogenomik yönden değerlendirilmesi.

Çalışmanın Amacı Ve Yapısı:

Kanser bütün dünyada olduğu gibi ülkemizin de en önemli sağlık sorunlarından bir tanesidir. Türkiye’ de toplum tabanlı kayıt sistemlerinin verileri yeterince güvenilir olmamakla birlikte, istatistikler incelendiğinde kanser en sık karşılaşılan ölüm nedenleri arasında kalp hastalıklarından sonra ikinci sırada yer almaktadır. Akciğer kanseri dünyada en sık karşılaşılan 10 habis tümör arasındadır. Ancak bireylerin metabolik genlerinin ülkemizde akciğer kanseri üzerindeki etkileri bilinmemektedir. Kanser kaynaklı ölümleri azaltmada başarılı olabilmek için kanser eğilimi gösteren risk grupları belirlenmelidir.

Bu çalışma sonunda elde edeceğimiz sonuçlar, tedavide kişiye özel ilaç hazırlanmasının yanı sıra genetik risk faktörlerinin belirlenerek kansere karşı koruyucu önlemlerin alınmasına da katkı sağlayacaktır.

Bu çalışmayı yapabilmek için kolunuzdan 5 ml kan alınacaktır. İğne batmasına bağlı olarak dikkate değer bir acı duyulmayacaktır. İhmal edilebilir bir olasılıkla iğne batması sonrasında kanamanın uzaması veya enfeksiyon riski göz önüne alınmaktadır. Kanınızdan genetik materyal DNA elde edilecektir. Bu aşamada başarısız olduğunda bir kez daha kan vermeniz istenebilir.

Hastalığınızın tanısını koyabilmemiz için bronkoskopi işlemi ile 1mg doku örneği almamız gerekmektedir. Bronkoskopi akciğer bronş sisteminden tanı koymak amacıyla ışıklı bir tıbbi cihaz ile örnek alma işlemine verilen addır. Alınan örneklerden elde edilen genetik bilginiz gizli tutulacaktır.

Biopsi örneğinin alınmasından sonra enfeksiyon olasılığı ise çalışmada bütün işlemlerde steril malzeme kullanılmasıyla ortadan kaldırılacaktır. Genel olarak çalışmamız risk taşımamakta ve herhangi bir rahatsızlığa neden olmayacağı beklenmektedir

Gereken tedaviyi yaptırmak için bu çalışmaya katılma zorunluluğunuz yoktur. Çalışma tamamiyle gönüllü olma esasına dayalıdır. Araştırmaya katılıp katılmamaya karar vererseniz, bu konudaki bilgileri Dr.’ den alabilirsiniz. Araştırmanın herhangi bir aşamasında olurunuzu geri çekme ve araştırmadan ayrılma hakkına sahipsiniz. Araştırmadan ayrılmaya karar verdiğinizde, bunu hemen doktorunuza haber vermeniz önemlidir. Araştırmadan ayrılmış olmanız, size sağlanan sağlık hizmetinde herhangi bir aksamaya neden olmayacaktır.

Ayrılmadan önce, araştırmaya ilişkin bilgilerinizin değerlendirilebilmesi için son bir kez kontrole gelmeniz gerekmektedir.

Yapılacak tahlil ve tetkikler size ve/veya bağlı olduğunuz sağlık giderlerini karşılamakla yükümlü olan kuruluşa herhangi bir mali yük getirmeyecektir.

Doktorunuz aşağıdaki durumlardan bir veya birkaçını gözlemlediğinde sizi araştırma dışına alma hakkına sahiptir:

- Sağlık hizmetinizin daha iyileştirilmesi,
- Çalışma kurallarına yeterince uymamanız,
- Diğer etkenler.

Araştırma süresince size ait bilgiler kesinlikle gizli tutulacak ve araştırma grubu dışında hiç kimse sizden elde edilen bilgilere ulaşamayacaktır. Adınız, adresiniz ve şahsi bilgileriniz gizli tutulmak kaydıyla, araştırmaya ilişkin tüm bilgiler gibi, sizin tıbbi bilgileriniz de bilimsel amaçla yayınlanarak duyurulabilir. Araştırmadan ayrılırsanız bile size ilişkin bu verilerin bilimsel olarak kullanımı engellenmeyecektir.

Araştırma süresince herhangi bir sorunuz olduğunda Dr.....ilenumaralı telefonda görüşerek bilgi alabilirsiniz.

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarda söz konusu Klinik Araştırmaya kendi rızamla, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı, İmzası, Adresi (Varsa Telefon No, Faks No)/ Tarih :

Velayet Veya Vesayet Altında Bulunanlar İçin Veli Veya Vasinin Adı, İmzası, Adresi /Tarih :
(Varsa Telefon No, Faks No) :

Açıklamaları Yapan Araştırmacının Adı, İmzası / Tarih :

Rıza Alma İşlemine Başından Sonuna Kadar Tanıklık Eden Kuruluş Görevlisinin Adı, İmzası,
Görevi/ Tarih :

EK:3**Olgu Rapor Formu**

Örnek numarası:

Kayıt tarihi:

Hasta adı ve soyadı:

Cinsiyeti:

Doğum yeri ve tarihi:

Beden/kütle indeksi:

Adresi:

Telefon numarası:

Tanı koyan merkez:

Histolojik tanı:

Lezyonun yeri:

T___ N___ M___ (0,1,2)

Evre ___ (I, II, III, IV)

Tütün kullanma alışkanlığı:

1. Şimdiye kadar hiç kullandınız mı? Evet ___ Hayır ___

2. Evet ise, kaç yıl? _____

3. Günde en az 1 tane olmak üzere, hiç 6 ay ve daha uzun süre sigara içtiniz mi?

Evet ___ Hayır ___

4. Şu anda sigara içiyor musunuz?

Evet ___ Hayır ___

5. Sigara kullandığınızda günde kaç tane içiyordunuz?

0-5 ___ 6-10 ___ 11-15 ___ 16-20 ___ >20 ___

6. Günde 1 taneden daha az sigara içiyorsanız; haftada kullandığınız sigar miktarı ne?

0-5 ___ 6-10 ___ 11-15 ___ 16-20 ___ >20 ___

7. Sigaranın türünü işaretleyiniz.

Kansas100S

Pall Mall

Tekel 2000

Hanımeli100S

Yerli Winston

Winston 100S

Yeni Harman

Meclis 100S

Marlboro(paket)

Salem 100S

Samsun

Samsun 216

Marlboro(kutu)

Dunhill

Maltepe

Birinci

Barclay 100S

Camel

Bitlis

Sarma tütün(özel)

Marlboro Lights

Camel Lights

Bafra

Tokat 85 mm

Marlboro Lights 100S

Winston Superlight

8. Sigarayı bıraktığınız bir dönem oldu mu?

Evet _____ Hayır _____

9. Yanıtınız evetse, kaç yıl önce? _____

10. Bırakma döneminiz ne kadar sürdü? _____ yıl/ _____ ay

11. Pipo kullanma alışkanlığınız var mı?

Evet _____ Hayır _____

12. Yanıtınız evetse, günde kaç pipo içiyorsunuz? _____

13. Tütün çiğneme alışkanlığınız var mı?

Evet _____ Hayır _____

14. Alkol kullanma alışkanlığınız var mı?

Evet _____ Hayır _____

15. Yanıtınız evetse, kaç yıldır? _____ yıl

16. Alkol kullanma sıklığı: _____ gün/hafta

17. Alkolün türünü/türlerini işaretleyiniz.

Bira

Rakı

Şarap

Diğer

18. Alkol miktarı: _____ duple/gün

Bulgular:

CYP 2A6*: _____ / _____

GSTM 1: ()wt () null

Ekspresyon: _____

ÖZGEÇMİŞ

1979 yılında İzmir’de doğdum. 1997 yılında Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesinde lisans eğitimime başladım ve 2001 yılında mezun oldum. 2002 yılında Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesinde Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisans programına başladım. Aynı yıl Sağlık Bilimleri Enstitüsü’nce açılan ‘araştırma görevlisi kadro sınavı’ nı kazanarak Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı’nda göreve başladım Halen aynı anabilim dalında Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktayım. Türk Biyokimya Derneği, Avrupa Biyokimya Derneği ve Türk Toksikoloji Derneği’ne üyeyim.