

**T.C.**  
**CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ**  
**Biyokimya ve Klinik Biyokimya Anabilim Dalı**

**HEPATOSELÜLER YETMEZLİK/SİROZ GELİŞİMİNDE GLUTATYON-S  
TRANSFERAZ M1 VE T1 POLİMORFİZMLERİNİN ROLÜ**

**UZMANLIK TEZİ**  
**Dr. Metin DEMİR**

**Tez Danışmanı**  
**Prof. Dr. Zeki ARI**

**MANİSA, 2007**

## ÖNSÖZ

Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya Anabilim Dalı'nda sürdürdüğüm uzmanlık eğitimim süresince verdikleri destek ve katkılarından, gösterdikleri sevgi ve anlayışlarından dolayı başta Anabilim Dalı Başkanı ve tez danışmanım Prof. Dr. Zeki ARI'ya ve değerli hocalarım, Doç. Dr. Ahmet VAR'a, Doç. Dr. Ece ONUR'a, Doç. Dr. Cevval ULMAN'a, Doç. Dr. Fatma TANELİ'ye,

Tezimin tüm aşamalarında desteğini ve yardımını esirgemeyen Biyolog Mevlüt ALDIRMAZ 'a,

Asistanlığım boyunca desteğini esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Yeşim GÜVENÇ'e,

Dört yıl boyunca çalışmalarımızı uyumlu bir şekilde yürüttüğümüz, iyi ve kötü zamanlarda birbirimize destek olduğumuz asistan arkadaşlarım Dr. Serdar SEVEN'e, Dr. Mustafa ALTAŞ'a, Dr. Özlem GÜNAY'a, Dr. Nesrin ÖZLEN'e, Dr. Derya GÜLEÇ'e, Dr. Gürol Şahin ULUTAŞ'a, Dr. Esat KILIÇ'a, Dr. Ferda DOĞAN BOZYİĞİT'e, Dr. Nurser ARİFOĞLU'na, Dr. Mehmet ÇALKAN'a , Dr. Ferhunde PULULAR'a, Dr. Soner ERDİN'e,

Uz. Biyolog Huri ALDIRMAZ'a ve teknisyen arkadaşlarıma,

Hayatım boyunca her konuda yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen sevgili anneme, babama ve ablama, birlikteliğimiz sürecinde ve asistanlığım boyunca desteğini, anlayışını ve sevgisini esirgemeyen sevgili eşime ve yaşam sevincim kızım Ece'ye

En içten teşekkür ve şükranlarımı sunarım.

**Dr. Metin Demir**, Manisa 2007

## KISALTMALAR

- AC : Akciğer  
AIDS : Acquired immune deficiency syndrome  
ALT : Alanin Aminotransferaz  
Bç : Baz çifti  
cGST : Sitoplazmik Glutasyon-S Transferaz  
DNA : Deoksiribonükleik asit  
dNTP : Deoksinükleotid trifosfat  
EDTA : Etilen diamin tetra asetik asit  
GSH : Glutasyon (redükte)  
GST : Glutasyon-S Transferaz  
HBV : Hepatit B virusu  
HBcAg: Hepatit B Core Antijeni  
HBeAg: Hepatit B “e” Antijen  
HBsAg: HBV yüzey antijeni  
HCV : Hepatit C virusu  
HCC : Hepataselüler karsinom  
HNE : 4- hidroksinoneal  
KC : Karaciğer  
kb : Kilobaz  
OR : Odds Ratio  
PCR : Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)  
RNA : Ribonükleik asit  
Rpm : Revolutions per minute (dakikadaki dönüş hızı)  
SOD : Süperoksit Dismutaz  
SLE : Sistemik Lupus Eritamatozus  
SPSS : Statistical package for social science: Sosyal bilimler için istatistik paketi

## İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ

KISALTMALAR

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
I. GİRİŞ	1
II. GENEL BİLGİLER	3
II.1.Hepatit B Enfeksiyonu	3
II.2. Hepatit C Enfeksiyonu	9
II.3. Karaciğer Sirozu	11
II.4. Glutasyon-S Transferaz Enzimleri	12
III. GEREÇ VE YÖNTEM	18
III.1.Araç ve Gereçler	18
III.2 Yöntem	18
III.2.1. Çalışma Gruplarının Oluşturulması	18
III.2.2. Kan Örneklerinin Alınması	19
III.2.3. DNA izolasyonu	19
III.2.4. GSTM1, GSTT1 Polimorfizm Taraması	20
III.3. İstatistiksel Analiz	23
IV. BULGULAR	24
V. TARTIŞMA	29
VI. SONUÇ VE ÖNERİLER	36
VII. ÖZET	37
VIII. İNGİLİZCE ÖZET	38
IX. KAYNAKLAR	40

## I. GİRİŞ

Karaciğer sirozu başta viral hepatit ve alkol olmak üzere çeşitli etmenlerin yol açtığı parankim hasarı, fibroz ve nodül oluşumu ile birlikte, lobüler ve vasküler yapının bozulmasıyla karakterize, dönüşümsüz diffüz bir kronik karaciğer hastalığıdır. B ve C hepatit sonrası görülen siroz oranı ülkemizde %60-65 civarındadır.

Hepatit B akut enfeksiyonu takiben, kronik enfeksiyon geliştirme riski yaşla ters orantılıdır. Doğumda enfekte olanların yaklaşık %90'ı, 1-5 yaşları arasında enfekte olanların %25-50'si, 5 yaşından sonra enfekte olanların %1-5'i kronik HBV enfeksiyonu geliştirir. Kronik enfekte kişilerin yaklaşık üçte birinde, orta veya ciddi kronik hepatit, siroz veya primer hepatoselüler kanser gelişebilir.

Akut C hepatiti %70-80 oranında asemptomatik seyretmekte ve hastaların yaklaşık %70-80'inde kronikleşmektedir. Kronik hepatiti olanlarda ise hafif-ağır arası değişen seyirler görülür ve yaklaşık %20'sinde 10-20 yıl arası karaciğer sirozu oluşur. Hepatit C virüsüne bağlı sirozlu hastalarda yıllık karaciğer kanseri sıklığı %1-4 arasında değişmektedir.

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda serbest radikallerin hepatobiliyer hastalıkların önemli bir kısmının patogenezinde yer aldıkları gösterilmiştir. Serbest radikal hasarının sınırlandırılmasında güçlü bir antioksidan defans mekanizmasına sahip karaciğerin bu konuda nasıl yenilgiye uğradığı henüz açık değildir.

Glutatyon-S transferaz (GST) enzim sistemleri birçok farklı ksenobiyotik ve endojen bileşiklerin detoksifikasyonu ve biyotransformasyonunda önemli rol oynayan Faz II metabolizması enzimlerindedir. Karaciğerde GST aktivitesi yüksek konsantrasyonlarda tespit edilmiştir.

İnsanlarda GSTM1 ve GSTT1 polimorfiktir ve ırklara göre değişik oranlarda delesyonları görölmektedir. GSTM1 ve GSTT1 aktivitesinin yokluğu (null genotip) bu genlerin homozigot olarak delesyona uğramasından kaynaklanmaktadır.

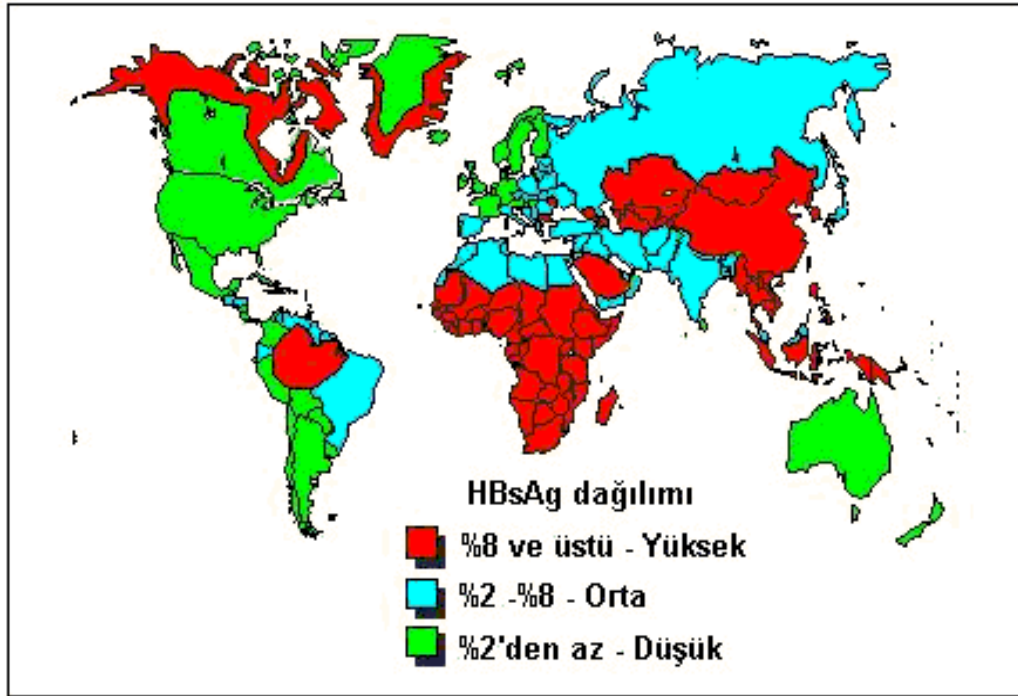
Daha önce literatürde benzerine rastlamadığımız çalışmamızda antioksidan yollarda işlev gösteren GST süperalesinin üyelerinden GSTM1 ve GSTT1'in aktivitesinin yokluğunun (null genotip) kronik B veya C hepatitinden siroz gelişiminde belirleyici olduğu hipotezini ileri sürerek, bölgemizde kronik B veya C hepatit sirozu oluşumunda glutatyon-s transferaz gen polimorfizminin bir risk faktörü olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

## **II. GENEL BİLGİLER**

### **II.1.Hepatit B Enfeksiyonu**

Hepatit B enfeksiyonu, akut ve kronik karaciğer hastalığının tüm dünyada görülen en sık sebebidir(1). Dünyada yaklaşık iki milyardan fazla kişinin HBV ile enfekte olduğu, her yıl 1-2 milyon kişinin direkt olarak HBV enfeksiyonu ve komplikasyonlarına bağlı olarak yaşamını yitirdiği bildirilmektedir. Tüm dünyada nüfusun yaklaşık %5'inde HBV taşıyıcılığının olduğu varsayılmakta ve tüm dünyadaki HBV taşıyıcılarının sayısının 350 milyon civarında olduğu kabul edilmektedir. Gelişmiş batı ülkelerinde taşıyıcılık sıklığı %1'den düşük, gelişmekte olan bazı ülkelerde (örneğin Güneydoğu Asya'da) %20'den fazladır. Dünya nüfusunun üçte biri yüksek enfeksiyon riski olan bölgelerde yaşamaktadır(2).

ABD'de her yıl 140.000 yeni hepatit enfeksiyonu bildirilmektedir. T.C. Sağlık Bakanlığı kayıtlarına göre 1996 ve 1997 yıllarında HBV enfeksiyonu morbidite hızları yüzbinde 3.9 ve 6.9, taşıyıcılık oranı %5-8 ve %4-14 olarak bildirilmiştir(3). (Şekil 1).



Şekil 1: HBsAg'nin dünyadaki dağılımı(2).

HBV, akut hepatitin yanı sıra kronik hepatit, karaciğer sirozu ve hepatoselüler karsinoma yol açması nedeniyle tüm dünyada önemli bir sağlık sorunudur. HBsAg pozitifliği oranı Birleşik Amerika ve Kuzey Avrupa

ülkelerinde %0.1-0.2 iken bu oran Afrika ve Uzak Doğu'da %10-15 civarındadır. Ülkemizde ise çeşitli çalışmalarda elde edilen oranlar %6-10 arasında değişmektedir(4).

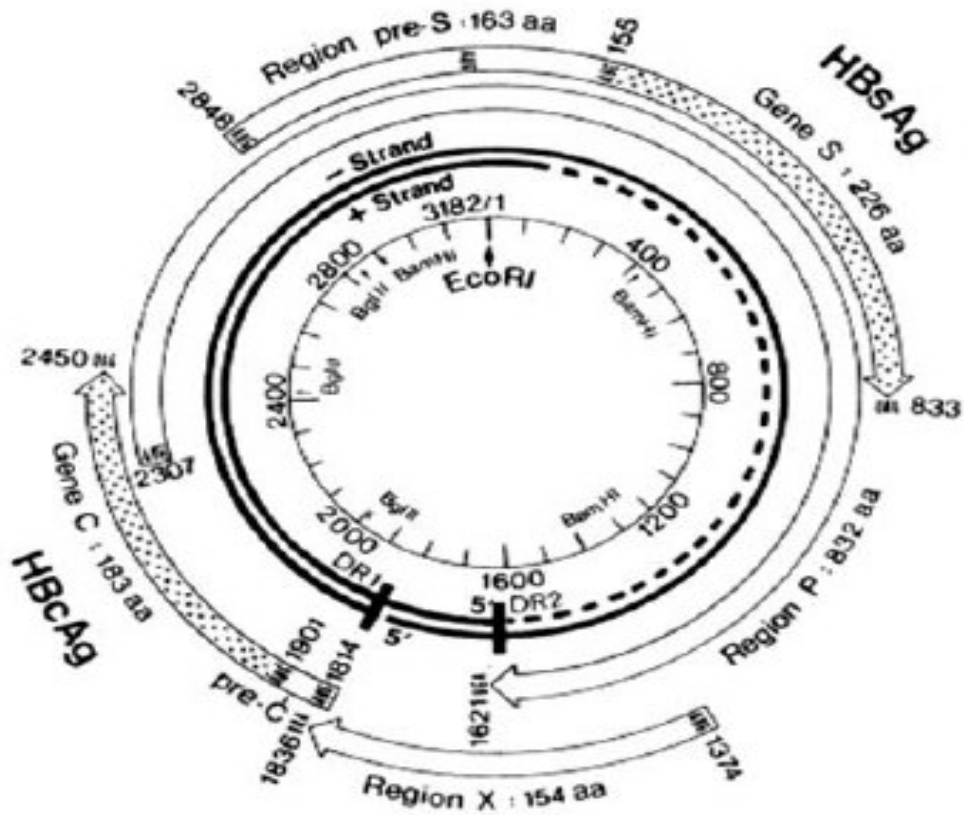
Hepatit B akut enfeksiyonu takiben, kronik enfeksiyon geliştirme riski yaşla ters orantılıdır. Doğumda enfekte olanların yaklaşık %90'ı, 1-5 yaşları arasında enfekte olanların %25-50'si, 5 yaşından sonra enfekte olanların %1-5'i kronik HBV enfeksiyonu geliştirir(5).

Kronik enfekte kişilerin yaklaşık üçte birinde, orta veya ciddi kronik hepatit, siroz veya primer hepatoselüler kanser gelişebilir. Ayrıca infant ya da genç çocuk olarak enfekte olanlarda erken ölüm oranları %25 civarındadır(6).

Akut HBV enfeksiyonunun inkübasyon zamanı 45 ile 160 gün arasında (ortalama 120 gün) değişebilir ve akut hastalığın başlangıcı genellikle sinsidir. Enfekte olan kişilerde, HBsAg, HBV maruziyetinden 30-60 gün sonra serumda belirlenir. HBsAg varlığı, devam eden HBV enfeksiyonunu ve potansiyel enfeksiyöz durumu gösterir. Bütün HBV enfeksiyonlarında anti-HBc gelişir ve geçmiş veya devam eden enfeksiyonu işaret eder. Akut veya yeni alınmış enfeksiyonu anlamak için anti-HBc'nin IgM sınıfına bakılabilir, çünkü bu akut hepatit B'nin başlangıcında belirlenir ve 6 ay kadar kalır. HBV enfeksiyonundan iyileşen kişilerde, HBsAg 2-3 ay içinde serumdan kaybolur ve iyileşme döneminde anti-HBs gelişir. Anti-HBs varlığı, iyileşmeyi ve HBV enfeksiyonuna immüniteyi belirtir. HBeAg, akut ve kronik hastaların serumunda belirgindir. HBeAg varlığı viral replikasyon ve yüksek virüs seviyesi ile ilgilidir. Anti-HBe varlığı replikasyonun olmaması ve virüs seviyesinin azalmasıyla ilgilidir. Fakat HBsAg-pozitif kişiler, potansiyel enfeksiyöz olarak düşünölmelidir(7).

HBV, Hepadnaviridae ailesine bağlıdır. Hepadnavirüsler 42 nm çapında, enveloplu virüslerdir. Elektron mikroskopunda çift katmanlı olarak görünür. Dıştaki katman viral enveloptur, HBsAg'den oluşur. İçteki katman ise ikosahedral nükleokapsiddir, HBcAg'den oluşur, 37 nm çapındadır ve viral DNA genomunu çevreler(8). (Şekil 2).





Şekil 2: HBV genom yapısı(9)

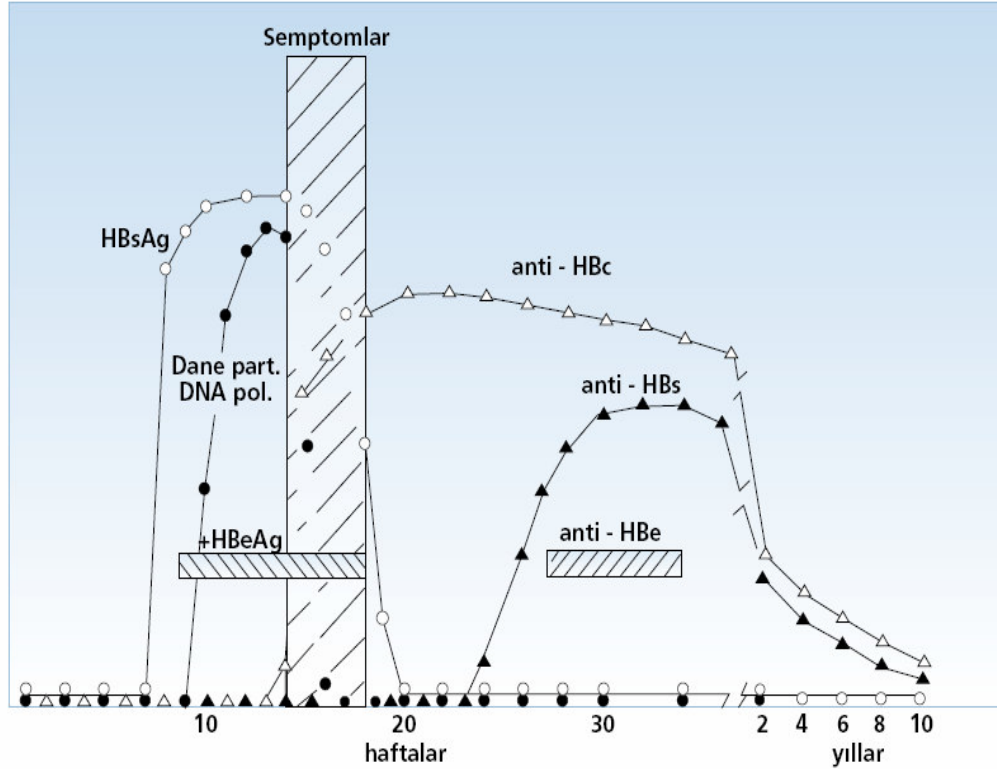
HBV serum içinde 30-32 C°de 6 ay, -20 C°de ise yıllarca canlılığını korur. Serum içinde 60 C°ye 4 saat dayanabilir. Kuru sıcak hava ile 180 C°de 1 saatte, otoklavda 121 C°de 15 dk.'da, kaynatma ile 10-20 dk.'da inaktive olur. Kimyasal ajanlardan %0.1-0.2'lik glutaraldehit, %0.5-1'lik Sodyum Hipoklorit, izopropil veya etilalkol virüsü inaktive eder(10).

**HBsAg ve Anti-HBs:** Lipoprotein yapısında olup, serumda veya diğer vücut sıvılarında Dane partikülünün bir komponenti olarak veya 20-22 nm çapında küre veya silindir biçiminde ayrı olarak bulunur. HBs Ag, klinik belirtiler ortaya çıkmadan önce serumda saptanır. Serumda varlığı, akut HBV enfeksiyonunu ve kanın enfekte olduğunu gösterir. Serumda saptandıktan 4 hafta sonra klinik hepatit tablosu ortaya çıkar. Belirtilerle birlikte HBe Ag, DNA polimeraz ve HBV-DNA saptanabilir. HBsAg, akut viral hepatit B olgularında 2-6 ay içinde kaybolur ve antikor saptanıncaya kadar pencere

dönemi oluşur. Bu pencere döneminden sonra anti-HBs antikoru pozitif olarak saptanmaya başlar ve ömür boyu varlığını korur. Bu nedenle saptanması, daha önce HBV enfeksiyonunu ve kısmen ileriye yönelik korunmayı gösterir. HBsAg 6 aydan uzun sürmesi durumunda hastalığın kronikleşmesi söz konusudur.

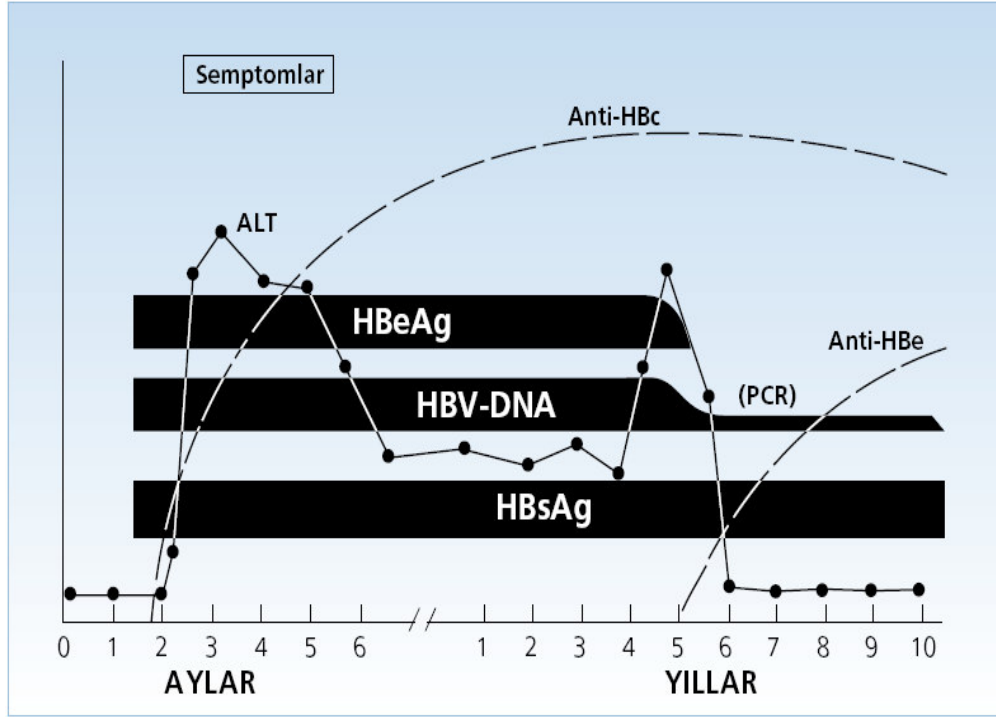
**HBcAg ve Anti-HBc:** İntakt virion 42 nm çapındadır ve kimyasal maddeyle parçalanırsa 27 nm çapındaki nükleokapsid core partikülü izole edilebilir. Çıplak core partikülleri dolaşımda bulunmazlar. Nükleokapsid üzerindeki antijen Hepatit B Core antijen olarak adlandırılır. HBsAg ile asla çapraz reaksiyon vermez. HBcAg kanda sadece Dane partikülleri içinde bulunur, hepatositlerde ise nükleusta yer alır. Çekirdeğe karşı antikor (Anti-HBc) genellikle hastalığın klinik olarak ortaya çıkışı ile belirir ve giderek azalarak yıllar ve yaşam boyunca devam eder. Anti-HBc ayrıca kronik HBsAg taşıyıcılarında bulunur.

**HBeAg ve Anti-HBe:** Virüsün çekirdeğinden türeyen bir peptittir ve sadece HBsAg pozitif serumlarda bulunur. Dolayısıyla üretimi DNA polimeraz aktivitesine paralellik gösterir. HBeAg klinikte yüksek bulaştırıcılık ve viral replikasyonun mevcut olduğunu göstermede son derece önemli bir antijendir. Akut hepatitli hastada erken evrede geçici olarak yükselir, düşüşü ile birlikte Anti-HBe ortaya çıkar. Bu durum biyokimyasal iyileşmenin ve enfeksiyonun ortadan kalktığının müjdecisi olabilir(11). (Şekil 3).



Şekil 3: Akut HBV enfeksiyonunun seyri(12)

Serumda en az 6 ay süreyle HBsAg pozitifliğinin saptanması durumunda kronik HBV enfeksiyonu söz konusudur. HBV direk sitopatik bir virüs olmayıp enfeksiyonun seyri vücutun virüse karşı immün yanıtı belirlemektedir. HBV'ne karşı immün yanıtın henüz yetersiz olduğu yenidoğan döneminde kronik enfeksiyon gelişme riski ortalama %90 iken bu oran erişkinler de %10'dan daha azdır. Diğer yandan cins (erkeklerde kadınlara göre 6 kat daha fazla kronik enfeksiyon gelişmektedir), etnik köken, AIDS, böbrek yetersizliği ya da kanser gibi hastalıkların varlığı, immünsüpresif ilaç alımı ve uyuşturucu madde bağımlılığı gibi durumlar kronik enfeksiyon gelişme riskini artırmaktadır(13). (Şekil 4).



Şekil 4: Kronik HBV enfeksiyonunun seyri(12)

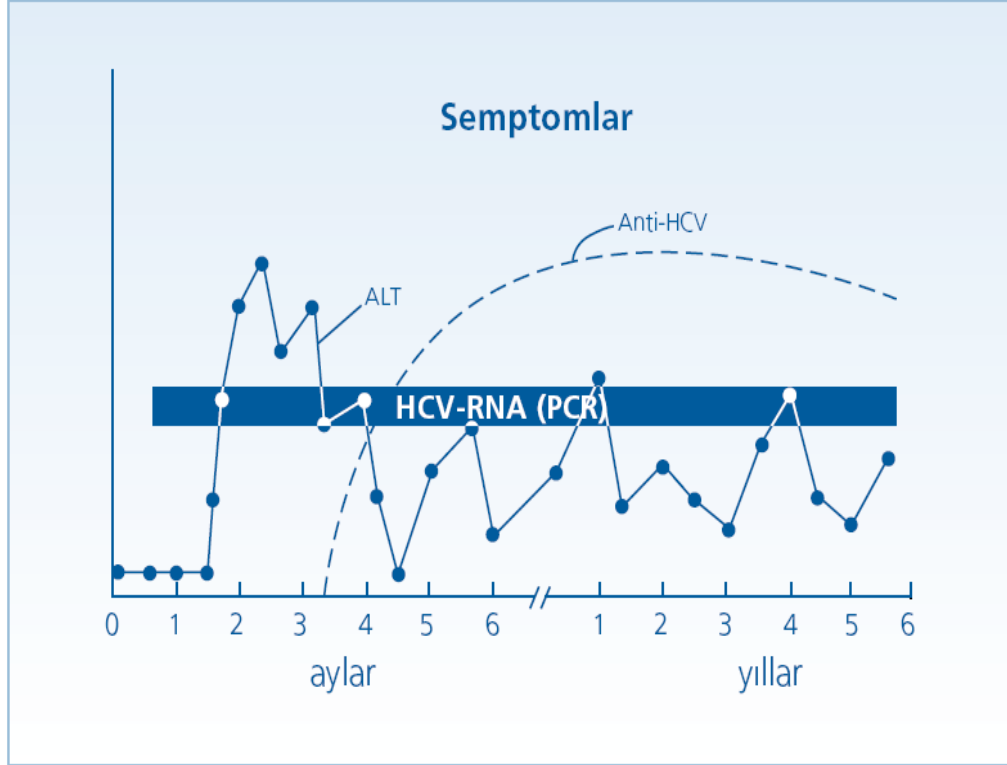
## II.2. Hepatit C Enfeksiyonu

HCV küresel, zarflı, pozitif sarmallı, yaklaşık 50 nm boyutlarında bir RNA virusudur. Dünyada yaklaşık 300 milyon kişide HCV enfeksiyonu olduğu tahmin edilmektedir(14).

Hepatit C'nin genel toplumdaki sıklığı, Mısır'da %5'in üzerinde, Japonya'da %2-3, ABD ve Fransa'da %1-2, diğer Avrupa ülkelerinde ise %0.3-1 arasındadır. Ülkemizde, Şentürk tarafından yapılan ve 5000 sağlıklı kişiyi kapsayan bir çalışmada sıklık %0.3 bulunmuştur(15).

Gelişmiş ülkelerde akut hepatitlerin %20'sinden, kronik hepatitlerin ise %70'inden, son dönem sirozun %40'undan, hepatoselüler karsinomanın %60'undan ve karaciğer transplantasyonunun %30'undan HCV enfeksiyonu sorumludur. Akut C hepatiti %70-80 oranında asemptomatik seyretmekte ve

hastaların yaklaşık %70-80'inde kronikleşmektedir(16). Kronik hepatiti olanlarda ise hafif-ağır arası değişen seyirler görülür ve yaklaşık %20'sinde 10-20 yıl arası karaciğer sirozu oluşur. Hepatit C virusuna bağlı sirozlu hastalarda yıllık karaciğer kanseri sıklığı %1-4 arasında değişmektedir. (Şekil 5).



Şekil 5: Akut HCV infeksiyonunun seyri(17).

**Anti-HCV total:** Akut hepatit C'de antikor gelişme süresi 4-24 hafta arasında olup; ortalama 8-10 haftadır. Akut hepatit C'de transaminazlarda artış ile anti-HCV pozitifleşmesi arasında seronegatif pencere dönemi bulunmaktadır.

**Anti-HCV IgM:** HCV'nin core proteinine karşı gelişen IgM antikorunu hepatitin başlangıcından kısa bir süre sonra ortaya çıkmakta ve yeni

geçirilmiş infeksiyonlarda sıklıkla pozitif bulunmaktadır. Bunun yanında birçok olguda, akut dönemde anti-core IgM pozitifliği IgG ile eş zamanlı ya da kısa süre önce ortaya çıktığından, akut infeksiyonda tanı değeri yoktur. Yapılan çalışmalarda, iyileşen infeksiyonlarda IgM pozitifliğinin yaklaşık 6 ay sonra kaybolduğu, kronikleşen olgularda ise pozitifliğinin devam ettiği bildirilmektedir.

**HCV core Antijen:** Seronegatif pencere döneminde, erken HCV infeksiyonun tanısında kullanılmaya başlanmıştır. Bu testle ilgili çalışmalar devam etmektedir(17).

#### **Akut HCV infeksiyonunda kronikleşme riskini arttıran özellikler:**

Parenteral bulaşma

Birden çok tranfüzyon öyküsü

Akut dönemde ciddi semptomlar

Akut dönemde yüksek ALT düzeyi

Yüksek titre anti-HCV pozitifliği

Erkek cinsiyet

40 yaşından daha büyük kişiler

### **II.3. Karaciğer Sirozu**

Karaciğer sirozu başta viral hepatit ve alkol olmak üzere çeşitli etmenlerin yol açtığı parankim hasarı, fibroz ve nodül oluşumu ile birlikte, lobüler ve vasküler yapının bozulmasıyla karakterize, dönüşümsüz diffüz bir kronik karaciğer hastalığıdır. Etiyoloji ne olursa olsun sonunda ortaya çıkacak morfolojik tablo aynıdır. Karaciğer sirozu tanısı morfolojik bir tanıdır. Morfolojik olarak ayırım mikronodüler, makronodüler ile mikro ve makronodüllerin birlikte bulunduğu mikst tip olmak üzere üç şekilde yapılmaktadır. Mikronodüler siroz, çapı 3 mm'den küçük rejenerasyon nodülleri, kalın, düzenli septa oluşumu ile karakterizedir. Zamanla mikst veya makronodüler tipler sonuçlanır. Alkolik siroz bu tipi temsil eder. Makronodüler siroz ise çapı 3 mm'den büyük, değişik boyutlarda nodüller ve septa oluşumu ile karakterizedir(18).

Karaciğer sirozunun etiolojisinde %60'a varan oranlarda viral hepatitlerin (%55.1-%59.5) katkılarının olduğu kanıtlanmıştır(19). Hepatitlerden sonra görülen karaciğer sirozlarının gelişmesinde rol oynayan en önemli faktörler:

- 1-Hepatit virüslerinin virulansları
- 2-Virüsle karşılaşan karaciğer hücrelerinin sayısı
- 3-Hastanın direnci
- 4-Organizmada meydana gelen immunolojik olaylar (20).

#### **II.4. Glutatyon-S Transferaz Enzimleri**

Glutatyon; glutamik asit, sistein ve glisinden oluşan bir tripeptiddir. GSH, akciğer, bağırsak, böbrek ve kısmen karaciğer gibi eksojen toksinlere direkt olarak maruz kalabilen organlar için çok önemlidir. Karaciğer, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu ile devreye giren ve aynı zamanda GSH için ana depo olan bir organdır. Glutatyon en yüksek hücre içi derişimine (~10 mM) hepatositlerde ulaşır. Hepatositler, potansiyel toksinlere karşı GSH'ı kullanırlarken, diğer yandan da GSH'ı sentezleyebilen özelleşmiş hücrelerdir. Organizmanın antioksidan kapasitesinin korunması canlılığın devamı açısından çok önemlidir. Glutatyon eksikliğine bağlı olarak birçok dokuda çeşitli mitokondriyal dejenerasyonla bağlantılı olarak hücre hasarı meydana gelmektedir. Normal bir hücrede, spesifik olarak hücresel kompartmanlara yerleştirilmiş olan oksidan-antioksidan sistemler dengesindeki herhangi bir bozukluk bir çok patofizyolojik durumun (nörodejeneratif hastalıklar, yaşlanma, kanser, immün hastalıklar gibi) ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Birçok hastalığın patofizyolojisinde yer alan glutatyon eksikliğinin, GSH veya GSH öncülleri verilerek önlenildiği veya geriye döndürülebildiği çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir(21).

Glutatyon ile ksenobiyotiklerin reaksiyonlarını katalizleyen enzimlere "glutatyon-s transferazlar", kısaca "GST" denir(22). GST enzim sistemleri birçok farklı ksenobiyotik ve endojen bileşiklerin detoksifikasyonu ve

biyotransformasyonunda önemli rol oynayan Faz II metabolizması enzimlerindedir(23).

GST enzimleri GST genleri tarafından kodlanırlar. Çevresel kaynaklı kimyasallar ve doğal olarak oluşan birçok metabolitin detoksifikasyonundan sorumludurlar(24). Glutasyon-s transferazlar elektrofilik ksenobiyotikleri inaktive ederek vücuttan atılmak üzere konjugasyonunu sağlayan dimerik enzimlerdir(25).

Biyolojik membranların lipid peroksidasyonu sonucunda oluşan alkenler, epoksitler, hidroperoksitler ve aldehitler gibi toksik ürünler çeşitli GST izoenzimlerinin substratıdır. Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda, çeşitli GST enzimleri ile oksidatif stresle ilişkili hastalıklara yatkınlığın artışı arasında bir korelasyon bulunması ve çeşitli dokulardan elde edilen GST enzimlerinin 4-hidroksi alkenal gibi oksidatif stres ürünlerine afinite gösterdiğinin tespit edilmesi, GST'ların oksidatif strese karşı korumadaki önemini ortaya koymaktadır(26). Glutasyon konjugasyonu elektrofilik merkezi bulunan bir bileşikle glutasyonun bir tiyoeter bağı oluşturması esasına dayanır.

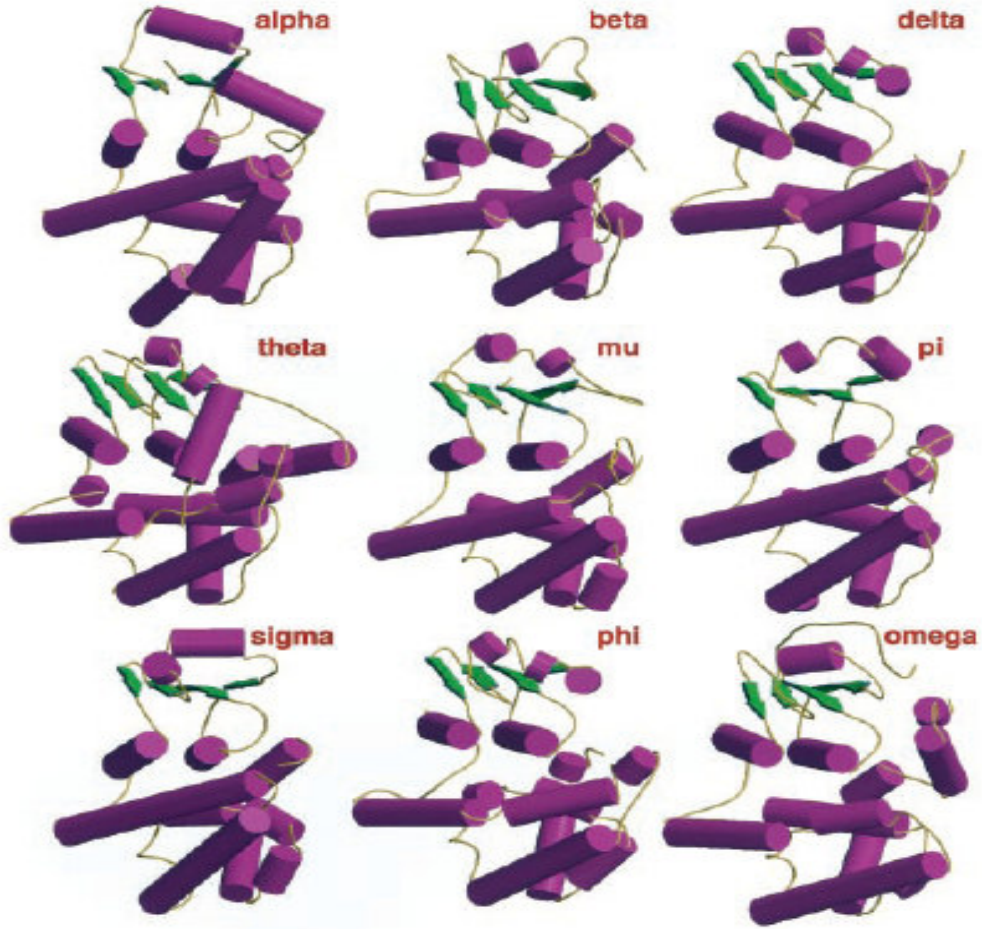
GST'lar kanserojen bileşiklerin detoksifikasyonunda görev alan ve DNA zararına karşı dokuları koruyan enzimlerdir. Bu enzimler ilaçlar, yiyecek ya da yiyeceklerdeki katkı maddeleri ile vücuda alınan toksik ve kanserojenik bileşiklere karşı dokuları korumaktadır.

Glutasyonun ksenobiyotik metabolizmasındaki rolü; faz I enzimlerce oluşturulan reaktif türlerin glutasyon ile konjugasyona girmesi ve sonuçta hücre makromolekülleri (DNA, RNA, protein) ile bağlanmasını engelleyerek hücre hasarını önlemesi şeklinde gerçekleşmektedir. Ksenobiyotiğin reaktif türleri, bir proteine bağlanarak onu değişikliğe uğratıp antijenik özelliğini değiştirebilir. Ksenobiyotik bir hapten, yani tek başına antikor sentezini uyarmayan bir molekül gibi davranıp, antikorla birleşip hücreyi hasara götürebilir(27).

GST'lar membrana bağlı ve soluble olmak üzere iki grupta incelenmektedirler. Memelilerde 7 farklı soluble GSTs sınıfı vardır. Bunlar alpha, mü, omega, pi, sigma, theta'dan ve zeta'dan oluşur(28). Bitkilerde,



böceklerde ve diğer canlılarda bu sayı daha da artabilir (29). (Şekil 6) Kromozom lokalizasyonları alpha, 6p12(30); mü, 1p13.3(31); omega, 10q24.3(29); pi, 11q13(32); sigma, 4q2-22(33) ; theta, 22q11.1(34); zeta 14q24.3(35) 'dür.



Şekil 6: GST süper ailesi(29)

Alfa gen ailesi içinde 5 insan GST izoenzimleri saptanmıştır. Kromozom 6p12 üzerinde sunulur. Alfa sınıfı izoenzimler karaciğer, böbrek ve adrenal dokuda güçlü olarak eksprese edilirler. Ancak bazı bireylerde bu alfa sınıfı enzimler eksprese edilmez. Bu genetik olarak saptanan eksikliğin son derece nadir olduğuna inanılır(36).

Sitozolik GST'lar her bir subuniti yaklaşık 25000 Da moleküler ağırlıkta dimerik proteinlerdir. GST proteinin en büyük miktarı karaciğer tarafından salınır ve tüm GST'ların %3-5'ini oluşturur(40).

Alfa sınıfı GST'ların karakteristik özellikleri, glutatyon'da çeşitli ajanların konjugasyonuna rağmen, farklı kortikosteroidlerin izomerasyonu ve organik hidroperoksidadlara doğru non selenyum bağımlı glutatyon peroksidad aktivitesi içerir. Alfa sınıfı GST'ın karaciğer izoenzimlerinden başka anlamlı yüksek peroksidad aktivitesi gösteren farklı bir formu insan derisinde saptanmıştır. Diğer GST'larla karşılaştırıldığında, GSTA2, ozonun toksitesinde katkıda bulunan 9,10 metil-linolat ozonid'e karşı en yüksek aktivite gösterdiği gösterilmiştir. Alfa sınıfı cGST'lar, bilirubin ve diğer organik anyonların hepatik bağlanmasından sorumlu majör GST izoenzimidir(37). GSTA4-4, 4-hidroksinonenal'ın ve lipid peroksidadasyonu sonucunda üretilen sitotoksik bir  $\alpha,\beta$ -doymamış aldehyd'in konjugasyonunu kataliz eder(38). GSTA3-3,  $\Delta^5$  androstene-3,17-dione'un izomerizasyonunda önemli bir rol oynar(39). Sigma sınıfı GST, prostaglandin D<sub>2</sub>'ye prostaglandin H<sub>2</sub>'nin izomerizasyonunda oynadığı rolden dolayı prostaglandin D-sentaz olarak bilinir.

Mu sınıfı GST'nin 5 geni, M1'den M5'e kadar insanda saptanmıştır. Bu genler kromozom 1p13 üzerinde bir küme olarak oluşur. Bu genlerin ekspresyonu dokular arasında geniş varyasyonlar gösterir. En yaygın eksprese edilen gen GSTM1'dir. GSTM2 iskelet kasında daha sınırlıdır. GSTM3' de olduğu gibi beyin, akciğer ve testiste de bulunmuştur. GSTM4 insan lenfoblastoid hücrelerinde bulunmuştur. GSTM5 beyinde eksprese edilir.

GSTM1 ekspresyonu otozomal dominant kalıtım gösterir ve populasyonun çoğunda GSTM1 ekspresyonu %40-60 arasındadır(41). Başka bir çalışmada insanlarda GSTM1'in polimorfik olduğu ve bireylerin %35-60'ında bulunmadığı gösterilmiştir. Bu enzim beyaz populasyonun %50-60'ında bulunmazken, Kuzey Amerikalı siyahların %28'inde ve Nijeryalılarda ise %22 gibi daha düşük yüzdelerde bulunur(42). GSTM1'in gösterdiği genetik polimorfizm çeşitli ksenobiyotiklerin toksik etkilerine bireylerin

hassasiyetini saptamada bir faktör olabilir. Örneğin genel olarak anlamlı mutajenik ve karsinojenik potansiyele sahip olduğu düşünülen polisiklik aromatik hidrokarbonlardan çok sayıda epoksik metabolitlere karşı GSTM 1'in yüksek aktivitesinin özel anlamı olabilir(42).

Karaciğerde sitozolik GST aktivitesinin yaklaşık yarısından fazlası GSTM1 kaynaklıdır ve GSTM1 hepatositlerde yüksek düzeyde eksprese edilirken, bilier epitelyum hücrelerinde düşük eksprese edilir(44). GSTT1 de polimorfiktir ve insan popülasyonlarının %10-65'inde bulunmamaktadır. Amerikalı beyazların %17'si, Nijeryalıların %39'u, Hindistan'da yaşayan ingilizlerin %3.2'si GSTT1-1 enzim aktivitesi bulundurmazlar. GSTM1 ve GSTT1 aktivitesinin yokluğu (null genotip) bu genlerin homozigot olarak delesyona uğramasından kaynaklanmaktadır(42).

Pi genleri arasında, GSTP1 saptanmıştır. Bu 11q13 üzerinde haritalanmıştır. Pi sınıfı izoenzimler tüm GST' ların en yaygın dağılmış enzimi gibi görülmektedir ve çoğu dokuda en yoğun formdadır(45). Karaciğer hariçtir. Karaciğerde alpha ve mü gen aileleri yüksek olarak eksprese edilir. Fakat fetal karaciğerde majör GST formu pi sınıfı izoenzimlerdir. GSTP1-1, acrolein ve crotonaldehide gibi kısa zincirli  $\alpha,\beta$ -doymamış aldehitlere GSH'ın birleşmesini (konjugasyonu) kataliz edebilir. GSTP1-1, acrolein'e karşı çok yüksek aktiviteye sahiptir(46). Enzim aktivitesi klinik anlamı olabilen bireyler arası geniş varyasyonlar gösterir. Bazı çalışmalarda plazmada genel tümör markırı olarak GSTP1'in olası rolü önerilmiştir(47).

İnsan GST zeta geni, 10.9 kb uzunluğunda olup 9 ekzondan oluşmuştur ve kromozom 14q24.3 üzerinde yer almaktadır. GSTZ1 geninde çok sayıda polimorfik bölge bulunmaktadır. Bunlar arasında en yaygın olanı 94. ve 124. nükleotitlerde yer almaktadır(48).

GST Zeta tirozin katabolizmasında önemli bir rol oynar ve  $\alpha$ -halo asidlerin biyotransformasyonu için de önemlidir(49,50).

Tüm GST'lar 1-kloro-2,4-dinitrobenzenden substrat olarak faydalanırlar ve GST'ların karakterizasyonunda bir araç görevi yaparlar. 2-kloro-5-nitrobenzonitrilin'in de GST'lar için substrat görevi yaptığı

bulunmuştur. GSTT1 için diğer spesifik substrat p-nitrobenzil klorid, diklorometan, etilen oksid ve metilbromid'dir. Diklorometan boyalarda çözücü, temizlik maddelerinde, soğutucularda, kahve dekafeinizasyonunda kullanılan önemli bir endüstriyel bileşiktir. Bu bileşiğin toksisitesinde geniş türsel farklılıklar bulunur. Farelerde bu bileşiğin GSH konjugasyonu ile aktive edilerek akciğer ve karaciğer kanserlerine neden olduğu belirtilmiştir(51).

## III GEREÇ VE YÖNTEM

### III.1. Araç ve Gereçler

<b>Santrifüj</b>	Hettich mikro 200/Soğutmalı (Germany)
<b>Otomatik Pipetler</b>	Biohit ( Finland)-İsolab (Germany)
<b>Mikrodalga fırın</b>	Arçelik (Türkiye)
<b>Vorteks</b>	Yellowline (USA)
<b>Benmari:</b>	Medingen W 22 (0-99 °C) (Germany)
<b>Termal Cykler</b>	2720 Applied Bioystems (Singapore)
<b>Elektroforez güç kaynağı</b>	Thermo EC 4000 P (USA)
<b>Jel görüntüleme sistemi</b>	Syngene (USA)

### III.2.Yöntem

#### III.2.1. Çalışma Gruplarının Oluşturulması

Çalışmamıza; kontrol grubu, siroz olmayan viral hepatitliler ve siroz olan viral hepatitliler olmak üzere üç grup dahil edilmiştir.

**Grup 1:** Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalı Hepatoloji polikliniği tarafından takip edilen ve siroz olmayan kronik B veya C viral hepatitli 40 hasta dahil edilmiştir.

**Grup 2:** Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalı Hepatoloji polikliniği tarafından takip edilen ve biyopsi ile siroz tanısı konulmuş olan kronik B veya C viral hepatitli 7 hasta dahil edilmiştir.

**Grup 3:** Kontrol grubu: Hepatit markırlarına bakılmış ve negatif olan 57 sağlıklı birey dahil edilmiştir.

Tablo 1'de grupların yaş dağılımı verilmiştir.

Tablo1: Grupların yaş dağılımı

YAŞ	GRUP1	GRUP 2	GRUP 3
21-40	4	-----	22
41-60	33	4	25
≥61	3	3	10
<b>TOPLAM</b>	40	7	57

Tablo 2'de grupların cinsiyet dağılımı verilmiştir.

Tablo 2: Grupların cinsiyet dağılımı

CİNSİYET	GRUP1	GRUP 2	GRUP 3
ERKEK	24	1	29
KADIN	16	6	28
<b>TOPLAM</b>	40	7	57

### III.2.2. Kan Örneklerinin Alınması

Hastaların ve sağlıklı gönüllülerin kan örnekleri Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu onayı ile alındı. Hastalar çalışma konusunda bilgilendirilerek, rızalarının alındığına dair bilgilendirilmiş onay formları kan alınmadan önce imzalatılmıştır.

DNA izolasyonu için hastalardan ve kontrol grubundan EDTA'lı tüp içerisine 2 ml periferik kan örnekleri alınmıştır. DNA izolasyonuna kadar örnekler -20 °C'de saklandı.

### III.2.3. DNA izolasyonu

DNA izolasyonu ticari kit (Omega Bio-Tek Blood DNA izolasyon kit'i katalog no: DZ3392, Doraville, GA USA) kullanılarak yapıldı.

Kandan aşağıdaki protokole göre genomik DNA elde edildi:

1. Örnekten 250 µl alınıp nükleaz free 1.5 ml tüplere koyulur. Üzerine 250 µl Buffer BL ve 20 µl protease enzimi eklenir. 10-15 saniye iyice vortexlenir.

2. Tüpler 45 C°'ye ayarlanmış sıcak su banyosuna yerleştirilerek oluşan lizat solüsyonu 20 dk inkübe edilir.
3. Sıcak su banyosundan alınan tüpler üzerine 260 µl etanol(%100) ilave edilir. Vortexlenir(10-15 saniye). Tüp içeriği 2 ml santrifüj tüpüne yerleştirilmiş HiBind DNA spin kolona aktarılır.
- 4.10.000 rpm'de 1 dk. santrifüj edilir.
5. Alttaki tüpler atılır ve spin yeni bir santrifüj tüpüne yerleştirilir. Üzerine 500 µl HB Buffer ilave edilir.
6. 10.000 rpm'de 1 dk. santrifüj edilir.
7. Alttaki tüp içindeki sıvı dökülür, aynı tüp içine yerleştirilen spin üzerine 650 µl Wash Buffer ilave edilir ve 10.000 rpm'de 1 dk. santrifüj edilir.
8. Alttaki tüpler atılır ve spin yeni bir tüpe yerleştirilir. 650 µl Wash Buffer ilave edilir.
9. 10.000 rpm'de 1 dk. Santrifüj edilir.
10. Tüpler değiştirilmeden bir kere daha 10.000 rpm'de 1 dk. santrifüj edilerek artıkların tamamen spinden ayrılması sağlanır.
11. Spinler 1.5 ml'lik tüplere yerleştirilir ve üzerine 100 µl önceden sıcak su banyosunda 70 °C'ye ısıtılmış Elution Buffer eklenir.
12. 10.000 rpm'de 1 dk. Santrifüj edilir.
13. Tüpler değiştirilmeden tekrar 100 µl önceden ısıtılmış Elution Buffer eklenir ve yine 10.000 rpm'de 1 dk. santrifüj edilir.
14. Spin kolonlar atılır. 1.5 ml tüpler içindeki DNA solusyonu kullanıma hazırdır.

#### **III.2.4. GSTM1, GSTT1, Polimorfizm Taraması**

Bu çalışmada son hacim 50 µL olacak şekilde; 0.5 µM her bir primerden, 2 ünite Taq DNA polymerase, 10x PCR buffer, 1.5 mmol/L MgCl<sub>2</sub>, 0.02 mM her bir dNTP'den ve 5 µL elde edilen DNA (30-50 ng/mL)ve steril distile su katıldı(52).

GSTM<sub>1</sub> F Primer : 0.3 µl

GSTM<sub>1</sub> R Primer: 0.3 µl

GSTT<sub>1</sub> F Primer: 0.3 µl

GSTT<sub>1</sub> R Primer: 0.3 µl

DHFR F Primer: 0.3 µl  
DHFR R Primer: 0.3 µl  
Taq DNA polymerase: 0.4 µl (2 U)  
10XPCR buffer: 5 µl  
MgCl<sub>2</sub>: 3 µl  
dNTP's: 4\*0.3 µl=1.2 µl  
DNA: 5 µl  
Steril distile su: 33.6 µl  
Toplam: 50 µl

Bu çalışmada GSTM1 geni F: 5'-AACTCCCTGAAAAGCTAAAGC 3'-  
R: 5'-GTTGGGCTCAAATATACGGTGG-3' primerleri kullanılarak çoğaltılmış  
ve 209 bç. lik PCR ürünü elde edilmiştir. GSTT1 geni F: 5'-  
TTCCTTACTGTCTCACATCTC-3' R: 5'-TCACCGGATCATGGCCAGCA-3'  
primerleri kullanılarak çoğaltılmış ve 459 bç.lik PCR ürünü elde edilmiştir.  
DHFR geni internal kontrol olarak kullanılmıştır. DHFR geni için F: 5'-  
GCATGTCTTTGGGATGTGGA-3' R: 5'-GGAATGGAGAACCAGGTCTT-3'  
primeri kullanılmıştır.

#### **Primerlerin sulandırılması:**

Çalışmamızda kullanılan primerlerin sulandırma prosedürü

GSTM<sub>1</sub> F : 719.4 µl steril distile su ilave edildi.

GSTM<sub>1</sub> R : 841.3 µl steril distile su ilave edildi.

GSTT<sub>1</sub> F : 873.9 µl steril distile su ilave edildi.

GSTT<sub>1</sub> R : 913.3 µl steril distile su ilave edildi.

DHFR F : 616.4 µl steril distile su ilave edildi.

DHFR R : 637.1 µl steril distile su ilave edildi.

Elde edilen primerler 100 pmol/ µl derişime sahiptir.

**Amplifikasyon şartları:** Başlangıç 94 °C de 5 dk denatürasyon, 35 döngü  
olarak 94 °C de 1 dk denatürasyon, 58 °C de 1 dk hibridizasyon, 72 °C de 1  
dk uzama, 72 °C de 10 dk son uzama olarak gerçekleştirildi.



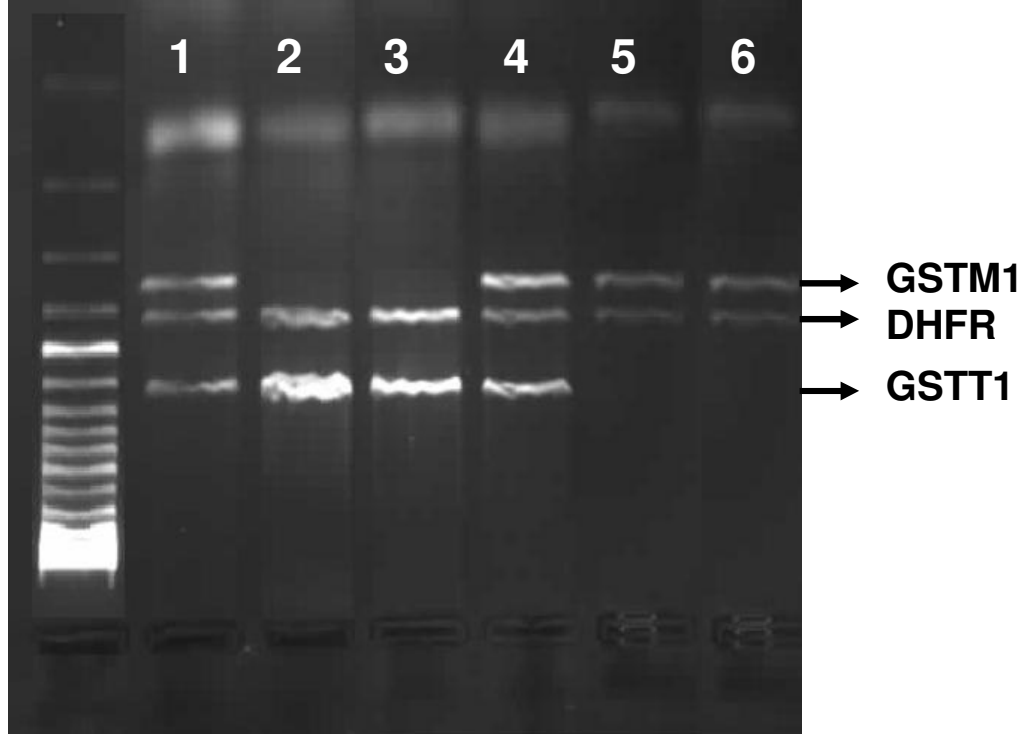
### **Jel elektroforezi ve DNA ürünlerinin yürütülmesi**

- jel elektroforezi için %2'lik agaroz jel hazırlandı.
- 0,6 gr agaroz 30 ml 0.5XTBE tamponla çözüldü.
- Bu karışım mikrodalga fırında 2 dakika ısıtıldı
- 3 µl Etidiyum Bromür eklendi
- Karışım biraz soğuması için beklendi.
- Agoroz Jel, Jel yatağına döküldü ve taraklar takıldı
- Soğumaya bırakıldı
- Elektroforez tankına yerleştirildi
- Her örnek için 1 µl gel loading dye ve 10 µl hasta DNA örneği karışımı jele yüklendi
- Elektroforez 125 V 'da 45 dk. çalıştırıldı

### **10X TBE Tamponu Hazırlanışı:**

- 108 gr Tris
- 55 gr Boric asid
- 40 gr EDTA
- Distile su ile 1 litreye tamamlandı.

Daha sonra Amplifiye olmuş PCR ürünleri %2'lik ethidium bromid'li agaroz jel elektroforezinde 125 V 'da 45 dk yürütüldü ve görüntülendi. (Şekil 7).



Şekil 7: GSTM1 (209 bç.) ve GSTT1 (459 bç.) genotiplendirmesi. 2,3 GSTM1 null genotip. 5,6 GSTT1 null genotip.

### III.3. İstatistiksel Analiz

Çalışma verileri, SPSS 10.0 istatistik paket programı kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirildi. Elde edilen verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde Lojistik Regresyon modelleri kullanıldı. Bu modelde %95 güven aralığı içerisinde Univariate OR ve Multivariate OR oranları hesaplandı.

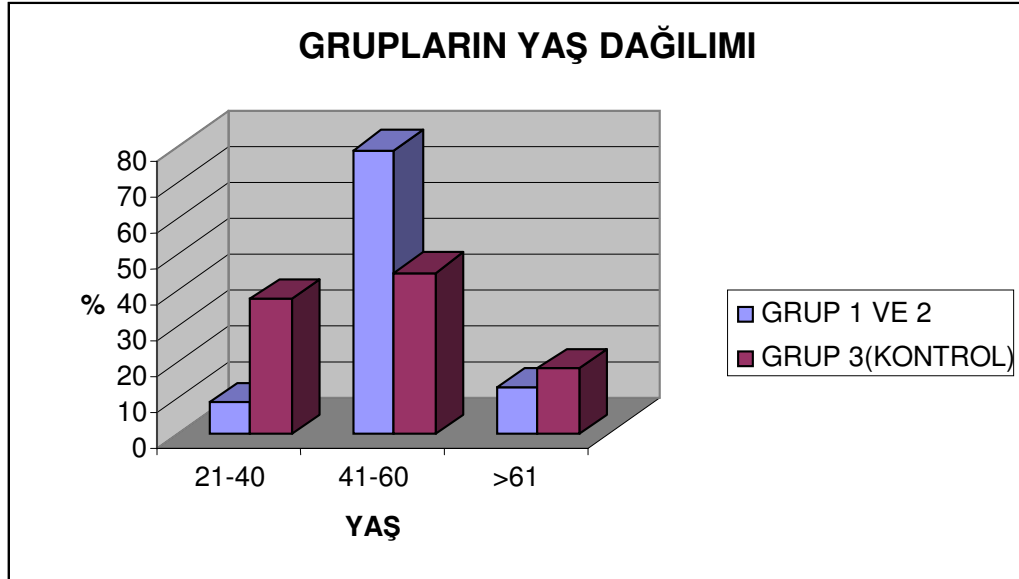
#### IV. BULGULAR

Çalışmamızda Mayıs 2006-Eylül 2007 tarihleri arasında Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalı Hepatoloji polikliniği tarafından takip edilen siroz olmayan kronik B veya C viral hepatitli 40 hasta, biyopsi ile siroz tanısı konulmuş olan kronik B veya C viral hepatitli 7 hasta ve 57 sağlıklı kişi de kontrol grubu olarak seçilmiştir.

Çalışmamıza katılan hasta ve kontrol gruplarına ait yaş, cinsiyet ve GST gen polimorfizm dağılım bulguları Tablo 3,4,5,6 ile Grafik 1,2,3,4'de verilmiştir.

Tablo 3: Viral hepatit ve kontrol gruplarının yaş dağılımı

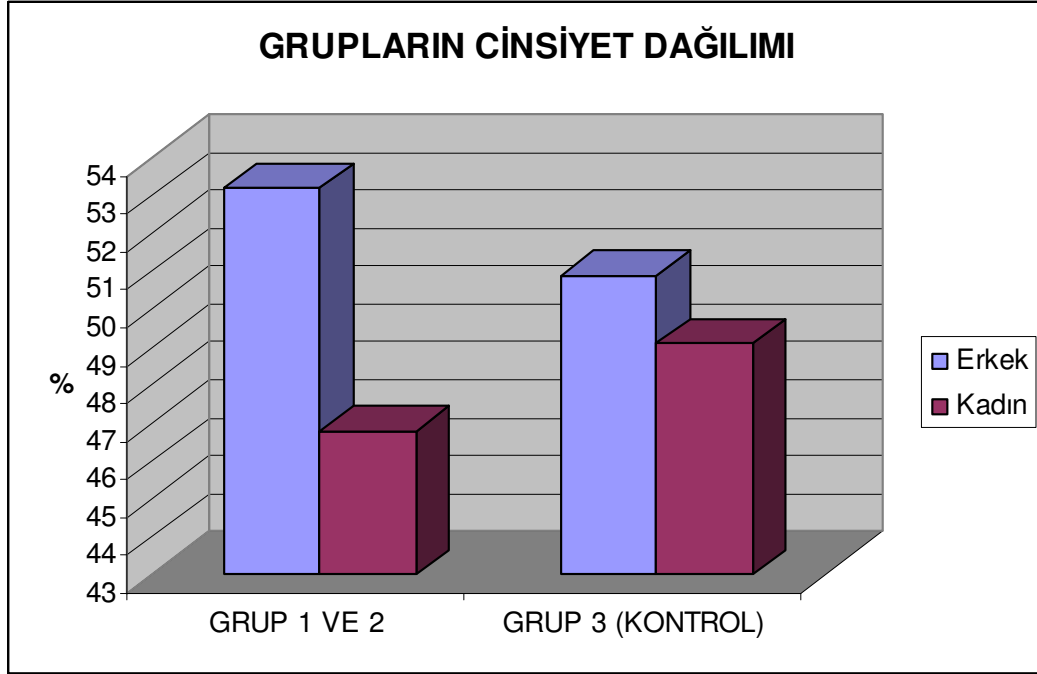
Yaş	Viral Hepatit(n:47) %	Kontrol(n:57) %
21-40	8,5	37,5
41-60	78,7	44,6
>61	12,8	17,9



Grafik 1: Grupların yaş dağılımı

Tablo 4: Viral hepatit ve kontrol gruplarının cinsiyet dağılımı

Cinsiyet	Viral Hepatit(n:47) %	Kontrol(n:53) %
Erkek	53,2	50,9
Kadın	46,8	49,1



Grafik 2: Grupların cinsiyet dağılımı

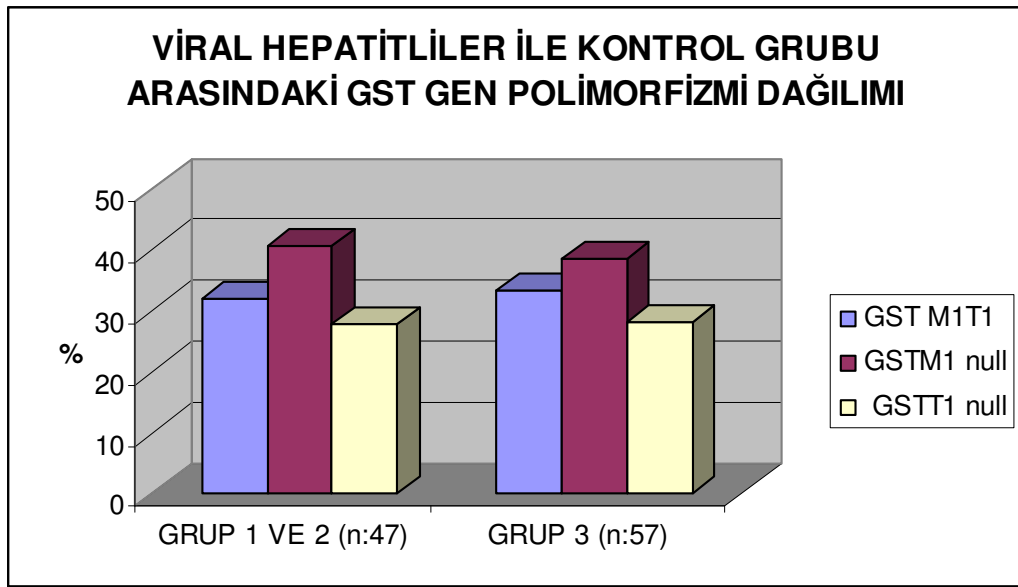
Tablo 5: Viral hepatit ile kontrol grubu arasındaki GST gen polimorfizmi dağılımı

Polimorfizm	Grup 1 ve 2 (n:47) %	Grup 3 (Kontrol) (n:57) %	Univariate OR (%95güven aralığı)	Multivariate OR* (%95 güven aralığı)
GSTM1T1	31,9	33,3	1	1
GSTM1 null	40,4	38,6	1,094 (0,439-2,728)	1,153 (0,422-3,152)
GSTT1 null	27,7	28,1	1,029 (0,380-2,789)	0,898 (0,306-2,634)

\*Yaş ve cinsiyete göre düzeltilmiş

Viral hepatitli hasta grubunda (n=47) GSTM1 null genotipli bireyler kontrol grubuna (n=57) göre daha yüksek oranda görülmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı (OR=1,153; %95 CI=0,422-3,152).

Viral hepatitli hasta grubunda (n=47) GSTT1 null genotipli bireyler kontrol grubuna (n=57) göre daha düşük oranda görülmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı (OR=0,898; %95 CI=0,306-2,634).



Grafik 3: Viral hepatitliler ile kontrol grubu arasındaki GST gen polimorfizmi dağılımı

Tablo 6: Siroz olmayan viral hepatitlilerle, siroz olan hastalar arasındaki GST gen polimorfizmi dağılımı

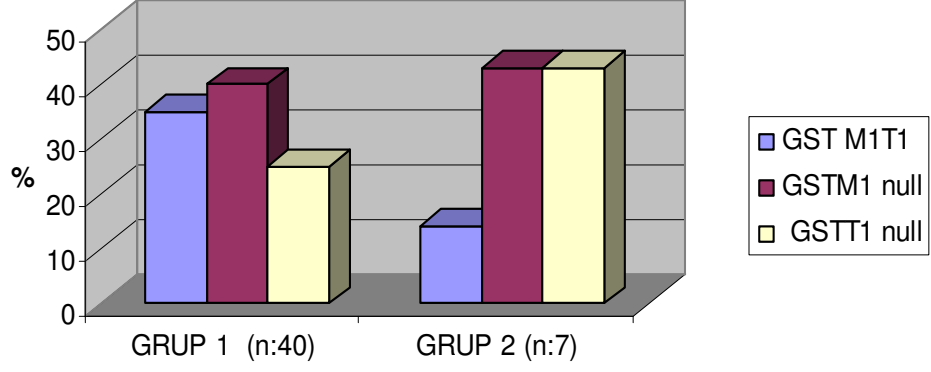
<b>Polimorfizm</b>	<b>Siroz olmayan viral hepatit (n:40) %</b>	<b>Siroz (n:7) %</b>	<b>Univariate OR (%95 güven aralığı)</b>	<b>Multivariate OR* (%95 güven aralığı)</b>
<b>GSTM1T1</b>	35	14,3	1	1
<b>GSTM1 null</b>	40	42,9	2,624 (0,244-28,123)	2,045 (0,156-26,831)
<b>GSTT1 null</b>	25	42,9	4,199 (0,379-46,474)	2,350 (0,147-37,611)

\*yaş ve cinsiyete göre düzeltilmiş

Siroz gelişmiş kronik B veya C viral hepatitli hastalarda (n=7), GSTM1 null genotipli bireyler siroz olmayan kronik B veya C viral hepatitli hastalara (n=40) göre daha yüksek oranda görülmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı (OR=2.045; %95 CI=0,156-26,831).

Siroz gelişmiş kronik B veya C viral hepatitli hastalarda (n=7), GSTT1 null genotipli bireyler siroz olmayan kronik B veya C viral hepatitli hastalara (n=40) göre daha yüksek oranda görülmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı (OR=2.350; %95 CI=0,147-37,611).

**SİROZ OLMAYAN VİRAL HEPATİTLİLERLE,  
SİROZ OLAN HASTALAR ARASINDAKİ GST GEN  
POLİMORFİZMİ DAĞILIMI**



Grafik 4: Siroz olmayan viral hepatitlilerle, siroz olan hastalar arasındaki GST gen polimorfizmi dağılımı

## V. TARTIŞMA

Hepatit B ve C enfeksiyonu sonucu, kronik hepatit, siroz ve hatta primer HCC olabilir. Hepatitten siroza değişim veya tedaviye cevap kişiden kişiye değişmektedir. Bu farklılıklar hastalığın etmenine ve ilaç metabolizması ve hedef proteinlerdeki bireysel farklılıklara bağlıdır. Hepatit enfeksiyonunun ilerlemesi kişinin genetik duyarlılığına bağlı olabilir. Hastalığın progresyonundaki bu farklılığın ne kadarı kişisel farklılıklara bağlı olduğu bilinmemektedir (53,54).

Serbest radikallerin hepato-biliyer hastalıkların önemli bir kısmının patogeneğinde yer aldıkları hemen hemen kesindir. Serbest radikal hasarının sınırlandırılmasında güçlü bir anti-oksidan defans mekanizmasına sahip karaciğerin bu konuda nasıl yenilgiye uğradığı henüz açık değildir ve eksikliği gösterilen defansif ajanların yerine konulması da net bir olumlu etki yaratamamaktadır. Bu yeterli konsantrasyonların sağlanamamasından veya hasar başladıktan sonra bu ajanların etki gösterememesinden kaynaklanıyor olabilir. Buna karşılık serbest radikallerin hedefi olan hepatosit ve mitokondrial membranların lipid peroksidasyon hasarına karşı güçlenmesini sağlayan ajanlarla oldukça umut verici sonuçlar alınmıştır. Serbest radikal hasarını azalttığı düşünölen bazı sistemlerin deneysel olarak bloke edilmesi paradoksik olarak hasarı arttırabilmektedir(55).

KC hücre hasarı ve sirozun gelişimindeki skar dokusu oluşumu sonuçta KC yetmezliğine yol açar. Bu durum genellikle toksik bileşikler ve karsinojenleri detoksifiye eden KC enzimlerinin normal dışı aktivitesiyle açıklanır(56). KC detoksifiye edici enzimleri arasında GST oksidatif stresten korunmada anahtar rol oynayan enzimlerdendir.



Reaktif oksijen metabolitleri arasında sayılan 4-hidroksinoneal en sitotoksik ve mutajenik aldehidler arasındadır. GST'nin ise glutatyonun hidroksi alkallenlerle konjugasyonunu kataliz ettiği bilinmektedir(57). Bu spesifik katalitik aktivite sebebiyle GSTA4-A oksidatif hasardan korunmak için araştırılan ana GST izoformu olmuştur. Desmonts ve ark.(58) yaptıkları çalışmalarda demir yüklemesinin fare GSTA1, A4, M1 ve P1'in karaciğer ve böbrekte ekspresyonunu araştırmışlardır. Demir yüklenmiş hayvanlarda GSTA1, A4 ve M1 protein ve mRNA düzeylerinin karaciğerde artmış böbrekte ise GSTA4 düzeyi yükselirken GSTA1 ve M1 ekspresyonu belirgin şekilde azaldığı bulunmuştur. Fare hepatosit primer kültürlerinde demir sitrat tek başına kullanıldığında oksidatif stres ve hücre hasarı yaratarak GSTA4 ekspresyonu artmış, oysa demir sitrat ve desferoksamin veya E vitamini beraber kullanıldığında toksisite ve GSTA4 artışı nlenmiştir. Bu çalışmanın sonucunda demir yüklemesi gibi serbest radikal oluşumuna sebep olan durumlarda, karaciğer ve böbrekte GSTA4 ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir.

Reaktif oksijen ve nitrojen türevleri karaciğer hastalığının başlangıcı ve ilerleyişi üzerine etiyolojiden bağımsız olarak önemli rol oynar. Reaktif oksijen metabolitleri birçok sitokin ve büyüme faktörünün transkripsiyon ve aktivasyonunda önemli rol oynarlar. Bu durum daha fazla reaktif oksijen ve nitrojen metabolitlerinin oluşmasına neden olur. Serbest radikallerin ana kaynağı hepatosit mitokondrisi, sitokrom P450 enzimleri, endotoksinle aktive olmuş makrofajlar ve nötrofillerdir. Serbet radikale bağlı hasarın göstergeleri arasında malondialdehit, 4-hidroksinoneal, protein türevleri, peroksinitrit, nitrotrozin ve benzerleri veya glutatyon, E vitamini, C vitamini, selenyum azlığı, viral ve alkolik karaciğer hastalıklarında gösterilmiştir. Bu markırlar karaciğer hasarının derecesini izlemek için için, antiviral tedavilere cevabın ölçülmesi ve yeni tedavi stratejilerinin denenmesi için kullanılabilir. Son alışmalar olası redoks gen tedavisi üzerinde yoğunlaşmaktadır. Hepatositlerin antioksidan yeterliliklerini arttırarak transgen vektörleri kullanılarak oksidatif stres durumları önlenebilir ve bu şekilde karaciğer hasarı azaltılabilir. Özellikle SOD gibi antioksidan enzimlerin genlere

eklenmesi ve retroviral vektörlerin kullanımı detoksifiye edici enzimlerden GST ve katalazların indüklenmesi intrahepatik inflamatuvar ve fibrotik hasarın azaltılması için yeni umut verici yaklaşımlar arasında sayılabilir(59).

Kanser tipleriyle detoksifikasyon metabolizmasında görev alan enzimleri kodlayan genler arasındaki ilişkinin gösterilmesi, değişik kanserler tiplerinde risk grubunda olan insanların belirlenmesi açısından önemlidir.

Acar ve ark.(60) 110 larinks squamous hücreli karsinomlu hastada yaptıkları çalışmada GSTM1-null genotipini %51.8, GSTT1-null genotipini %30, her iki cGST-null genotipini %16.4 bulmuşlardır. GSTM1-null genotiplilerde larinks squamous hücreli karsinom gelişme riskinin 1.78 kat arttığını (OR: 1.78, %95 CI: 1.11-2.87), GSTT1-null genotiplilerde 2.29 kat arttığını (OR: 2.29, %95 CI: 1.31-4.01), her iki GSTs-null genotipli olanlarda ise 3.3 kat arttığını bulmuşlardır (OR:3.3 %95 CI: 5-7.29).

Sümer ve ark.(61) tarafından Türk toplumunda normal bireylerde ve akciğer kanserli hastalarda GSTM1 null allel frekansı incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre akciğer kanserli hastalarda GSTM1 null allel frekansı (N=44) %72.7, normal bireylerde ise (N=100) %66 olarak bulunmuştur. Akciğer kanserli hastalarda null allel frekansı normal bireylerden yüksek olmasına karşın bu fark istatistiksel anlam taşımamaktadır (OR:0.73; %95 CI: 0.33-1.59). Elde edilen bu ilk sonuçlar GSTM1 null genotipinin Türk hastalarda akciğer kanser gelişimine bir katkısı bulunmadığını savunmaktadır.

Ada ve ark.(62) Türk toplumunda sitokrom P450, GSTM1 ve GSTT1 polimorfizmini araştırmışlardır. Sağlıklı bireylerde (n=133) yapılan bu çalışmada GSTM1 null genotipini %51.9 ve GSTT1 null genotipini %17.3 bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda ise normal bireylerde GSTM1 null genotipi %38.6, GSTT1 null genotipi %28.1 bulunmuştur.

Arslan ve ark.(63) 144 Türk bireyde GSTM1 genotipi ile primer beyin tümörleri arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır (primer beyin tümürlü 53 hasta, 91 sağlıklı kontrol). Hasta grubunda GSTM1 null genotipli bireyler kontrol grubuna göre daha yüksek oranda görülmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulamamışlardır (OR: 1.90, %95 CI: 0.92-3.96,  $X^2 = 2.981$ ,

P= 0,084). Ayrıca GSTM1 polimorfizmi ile beyin tümörlü hastaların sigara içme durumu(OR:0,61 %95 CI: 0,19-1,91, P=0.39) ve histopatolojik beyin tümör tipleri (glioma ve meningioma) arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptayamamışlardır.

GST izoenzim sınıfları arasında GSTM1 ve T1 null genotip taşıyıcıları karaciğerde organik hidroperoksitler ve elektrofilik bileşenleri inaktif hale getirmekte yeterli fonksiyon gösteremiyebilirler. Daha spesifik olmak gerekirse sigaradaki polisiklik aromatik hidrokarbonlar ve aflatoksin B için bu yetersizlik daha belirgin olabilir. Bu durum, GST polimorfizminin kanser geliştirme riski üzerine olan rolünün biyolojik açıklamasını oluşturmaktadır. GST M1 ve T1 polimorfizmleri kolorektal, AC, mesane ve diğer kanserlerde çalışıldığında farklı sonuçlar elde edilmiştir(64,65).

Adero ve ark.(66) HCC'lı 188 hastada ve 329 sağlıklı kontrolde multiplex PCR ile Dihidrofolat redüktaz genini internal kontrol olarak kullanarak GSTM1 ve T1 polimorfizmini çalışmışlardır. GSTM1 genotipini hastalarda %47.8 (n=88), kontrol grubunda ise %45.3 (n=149) olarak bulmuşlardır (OR:1.11 %95 CI: 0.76–1.62 P=0.58). GSTT1 genotipi ise hastalarda %28.8 (n=53), kontrol grubunda %23.1(n=76) olarak bulmuşlardır (OR: 1.35 %95 CI: 0.88-2.07 P= 0.15). Sonuç olarak yüksek riskli İspanyol popülasyonunda HCC insidansı GSTM1 ve T1 polimorfizmi ile ilişkili bulunmamıştır. Alkol kullanmanın tek bilinen risk faktörü olan HCC grubunda yüksek oranda double null genotipinin bulunması, aynı grubun önceki çalışmalarında yapmış oldukları alkolik sirotik olup henüz HCC'ya dönüşmemiş fenotipteki double null genotip artışıyla uyumlu, ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Alkol ile ilişkili HCC'da null genotip sahibi olmak, HCC gelişme riskini etkilemekte ve HCC gelişiminde genetik ve çevresel faktörlerin birlikte etkili olduğu hipotezini desteklemektedir.

Anti-GSTA1-1 GST'nin subtipleri arasında karaciğerde en çok eksprese edilen ve insanda en çok çalışılan antikordur. Kato ve ark.(67) otoimmün hepatitli hastalarının serumunda anti-GSTA1-1 'in frekansı ve anlamı üzerine çalışmışlardır. Otoimmün hepatitli 74 hasta, kontrol olarak 20 primer bilier siroz, 10 primer sklerozan kolanjit, 40 karaciğer siroz tip B ve C,

32 SLE ve 20 normal kontrol kullanmışlardır. Anti-GSTA1-1 antikorunu, rekombinant GST A1-1 proteini antijen olarak kullanılarak immunobloting yöntemi ile ölçülmüştür. Anti-GSTA1-1 otoimmün hepatitli hastanın 12 sinde (%16) görülürken kontrol serumlarının hiçbirinde (2 bilier siroz hastası hariç) görülmemiştir. Anti-GSTA1-1 pozitif otoimmün hepatit hastalarında negatif olanlara göre ağır klinik ve kötü prognoz izlenmiştir. Bu sonuçlara göre az görülmesine rağmen anti-GSTA1-1'in otoimmün hepatitlerde erken progresyon markırı olabileceği yorumu yapılmıştır.

Savolainen ve ark.(68) yaptıkları çalışmada alkolik karaciğer hastalığı meydana gelmesi ve GSTM1 null genotipi arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Polimeraz zincir reaksiyonu ile 33 kontrol, 43 orta alkol tüketicisi ve 313 yüksek alkol tüketenlerde GSTM1 null genotipi incelemişlerdir. Bu genotip, alkolik yağlı karaciğer, alkolik hepatitler ve alkolik karaciğer fibrozislerinin varlığı ile karşılaştırılmıştır. GSTM1 null genotipi, seride bulunan hastaların %44.7'sinde bulunmuştur, farklı tüketici grupları (kontrol; %36.4; orta tüketiciler; %39.5; ve yüksek tüketiciler; %46.3) arasında belirli bir farklılık gözlenmemiştir. GSTM1 null genotipi, orta alkol tüketicilerinde alkolik karaciğer hastalığı oluşumu ile ilişkili değildir. Null genotipinin sıklığı, normal karaciğer histolojili yüksek tüketicilerde alkolik karaciğer hastalığı olan yüksek tüketicilerden istatistiksel olarak ( $p=0.07$ , OR:1.75) daha düşüktür. Alkolik karaciğer hastalığı olmayan yüksek tüketiciler ile karşılaştırıldığı zaman null genotip, düşük karaciğer fibrozisli yüksek tüketicilerinki kadar sıklıkla görülmektedir ( $p = 0.05$ , OR:1.8) ve istatistiksel olarak ilerlemiş karaciğer fibrozisli alkoliklerin arasında belirgin bir şekilde sıklığı daha fazladır ( $p<0.025$ , OR: 2.3). Etanolün toksik etkilerine karşı cevapta karaciğer irreversible hasar oluşumunda artmış duyarlılığın GST M1 genindeki homozigot delesyonla ilgili olabileceği düşünülmüşlerdir. Bu çalışmada null genotipi ve alkolik karaciğer sirozu oluşumu arasında anlamlı ilişki bulmuşlardır.

Ghobadloo ve ark.(69) tarafından kriptojenik karaciğer sirozlu 45 hastada ve 56 sağlıklı kontrolde GSTP1, GSTT1, ve GSTM1 polimorfizmi incelenmiştir. Ile/Val ve Val/Val GSTP1 genotipleri sirozlu hastalarda (n=39, %87) kontrol grubuna (n=10; %18) oranla daha sık bulunmuştur (OR:34.04,

%95 CI:10.70-108.31,  $P<0.001$ ). Val/Val GSTP1 genotipleri sirozlu hastalarda ( $n=23$  %53), kontrol grubunda ( $n=1$  %2) yüksek bulunmuşlardır (OR: 50.7, %95 CI: 6.46-398.9). Ile/Val GSTP1 genotipleri sirozlu hastalarda ( $n=16$  %35), kontrol grubundan ( $n=9$  %16) yüksek bulunmuştur (OR:3.5 %95 CI: 1.2–8.3). GSTM1 null genotip sirotik hastalarda sağlıklı kontrol grubundan daha yaygındır (OR 6.83, %95 CI 2.53-18.42,  $P<0.001$ ). GSTT1'in delesyonu iki grup arasında belirgin bir fark göstermemiştir (OR:2.35, %95 CI 0.76 - 7.28,  $P= 0.111$ ). GSTT1 ve GSTM1 polimorfizmi bilinmeyen bir mekanizma ile sirozun gelişmesi ile ilişkili olabilir. Düşük detoksifikasyon aktiviteli proteini kodlayan Val/Val GSTP1 genotipinin kriptojenik karaciğer sirozu ile olan dikkat çekici ilişkisi, bu polimorfizmin kriptojenik karaciğer sirozu için önemli bir risk faktörü olduğunu göstermiştir.

Ghobadloo ve ark.(70) yaptıkları diğer bir çalışmada 41 sağlıklı HBV taşıyıcısı hasta, 37 kronik B hepatitli hasta, 38 kronik B hepatit sirozu gelişmiş hasta ve 59 sağlıklı kontrol grubunda GSTT1, M1 ve P1 polimorfizmini incelemişlerdir. GSTP1-Val/Val genotipi, karaciğer sirozlu hastalarda (%27) sağlıklı HBV taşıyıcılarından daha yüksek bulunmuştur (%2.4; OR:14.8, %95 CI:1.8–122.5). GSTP1-Val/Ile genotipi, karaciğer sirozlu hastalarda (%59.5) sağlıklı HBV taşıyıcılarından daha yüksek bulunmuştur (%19.5; OR:6.1, %95 CI:2.1–16.7). GSTP1-Val/Val genotipi, kronik hepatitli hastalarda (%19.4) sağlıklı HBV taşıyıcılarından daha yüksek bulunmuştur (%2.4; OR:9.65, %95 CI:1.1–82.8). GSTM1 null genotipi, karaciğer sirozlu hastalarda (%71.1) sağlıklı HBV taşıyıcılarından daha yüksek bulunmuştur (%27.5; OR:6.5, %95 CI:2.4-17.4). GSTM1 null genotipi, kronik hepatitlilerde (%64.9) HBV taşıyıcılarından daha yüksek bulunmuştur (%27.5 OR 4.9, 95% CI: 1.8–12.8). GSTT1 genotipi tüm gruplarda benzer bulunmuşlardır. HBV enfeksiyonlu hastalarda, null GSTM1 ve GSTP1-Val polimorfizmi hastalığın progresyonu ile ilgili olduğu sonucuna varmışlardır.

Bizim çalışmamızda sağlıklı kontrol grubumuzda( $n=57$ ) GSTM<sub>1</sub> null genotipi %38.6, GSTT<sub>1</sub> null genotipi %28.1 bulunmuştur. Siroz olmayan kronik B veya C viral hepatitli hastalara ( $n=40$ ) GSTM<sub>1</sub> null genotipi %40, GSTT<sub>1</sub> null genotipi %25 bulundu. Siroz gelişmiş kronik B veya C viral

hepatitli hastalarda (n=7) hem GSTM1 null genotipi, hemde GSTT1 null genotipi %42.9 bulundu.

Viral hepatitli hasta grubunda (n=47) GSTM1 null genotipli bireyler kontrol grubuna (n=57) göre daha yüksek oranda görülmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı (OR:1,153 ; %95 CI:0,422-3,152). Viral hepatitli hasta grubunda (n=47) GSTT1 null genotipli bireyler kontrol grubuna (n=57) göre daha düşük oranda görülmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı (OR:0,898 ;%95 CI:0,306-2,634). Siroz gelişmiş kronik B veya C viral hepatitli hastalarda (n=7), GSTM1 null genotipli bireyler siroz olmayan kronik B veya C viral hepatitli hastalara (n=40) göre daha yüksek oranda görülmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı (OR:2.045; %95 CI:0,156-26,831).

Siroz gelişmiş kronik B veya C viral hepatitli hastalarda (n=7), GSTT1 null genotipli bireyler siroz olmayan kronik B veya C viral hepatitli hastalara (n=40) göre daha yüksek oranda görülmesine rağmen, istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı (OR:2.350; %95 CI: 0,147-37,611).

GSTT1 ve GSTM1 polimorfizmi bilinmeyen bir mekanizma ile sirozun gelişmesi ile ilişkili olabilir. Kronik B veya C hepatitli hastalarda, null GSTM1 ve GSTT1 polimorfizminin hastalığın progresyonunda etkili olduğunu ve bu yüzden risk grubunda olan hastaların belirlenmesi gerektiğini düşünmekteyiz. Bölgemizde yaptığımız GSTM1 ve GSTT1'in aktivitesinin yokluğunun (null genotip) kronik B veya C hepatitinden kronik B veya C hepatit sirozu oluşumunda GST gen polimorfizminin bir risk faktörü olup olmadığını gösteren çalışmamız bir ilk olma özelliği taşımaktadır. Hasta ve kontrol gruplarındaki sayı artırılarak yeni çalışmalar yapıldığında istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar bulunabileceğini düşünmekteyiz. Bu nedenle çalışmamızın daha geniş sayıda hasta gruplarıyla yapılan araştırmalarla desteklenmesinin uygun olacağı kanısına varılmıştır.

## VI. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

1. Çalışmamızda siroz gelişmiş kronik B veya C viral hepatitli hastalarda GSTM1 null genotipi ve GSTT1 null genotipi, siroz olmayan kronik B veya C viral hepatitli hastalara göre daha yüksek oranda görülmesine rağmen istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki bulunamadı.
2. Viral hepatitli hasta grubunda GSTM1 null genotipli bireyler kontrol grubuna göre daha yüksek oranda görülmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı.
3. Viral hepatitli hasta grubunda GSTT1 null genotipli bireyler kontrol grubuna göre daha düşük oranda görülmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı.
4. Hasta ve kontrol gruplarındaki sayı artırılarak yeni çalışmalar yapıldığında istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar bulunabileceğini düşünmekteyiz.
5. GSTT1 ve GSTM1 polimorfizmi bilinmeyen bir mekanizma ile sirozun gelişmesi ile ilişkili olabilir.
6. Bölgemizde sağlıklı kontrol grubunda GSTM1 null genotipi %38.6, GSTT1 null genotipi %28.1 bulundu.
7. Yapılan literatür taramalarında GSTM1 ve GSTT1'in aktivitesinin yokluğunun (null genotip) kronik B veya C hepatitinden kronik B veya C hepatit sirozu oluşumunda glutatyon-s transferaz gen polimorfizminin bir risk faktörü olup olmadığını gösteren çalışmaya rastlayamadığımızdan bir ilk olma özelliği taşıyan çalışmamızın, daha geniş hasta gruplarıyla yapılan çalışmalarla desteklenmesi uygun olacaktır.

## VII. ÖZET

**Amaç ve kapsam:** Antioksidan yollarda işlev gösteren GST ailesinden GSTM1 ve GSTT1 aktivite yokluğunun (null genotip) kronik B veya C hepatitden siroz gelişiminde olası rolünün araştırılması amaçlanmıştır.

**Materyal-metod:** Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalı tarafından takip edilen siroz olmayan kronik B veya C viral hepatitli 40 hasta ile biyopsi ile tanısı konulmuş siroz olan kronik B veya C viral hepatitli 7 hasta, ve kontrol grubu olarak hepatit markırları negatif olan 57 sağlıklı gönüllü birey çalışmamıza dahil edilmiştir. Periferik kan örneklerinden, lökosit genomik DNA'sı ticari izolasyon kiti ile ayrıldı. PCR ile amplifikasyonu yapılan örnekler %2'lik agaroz jel elektroforezinde yürütüldü ve görüntülendi. Veriler, Odd Ratio oranları %95 güven aralığı içerisinde SPSS 10.0 programı ile istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** Sağlıklı kontrol grubumuzda(n=57) GSTM<sub>1</sub> null genotipi %38.6, GSTT<sub>1</sub> null genotipi %28.1 bulundu. Siroz gelişmiş kronik B veya C viral hepatitli hastalarda (n=7), GSTM1 null genotipli bireyler siroz olmayan kronik B veya C viral hepatitli hastalara (n=40) göre daha yüksek oranda görülmesine rağmen (%42.9, %40) istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı (OR: 2.045; %95 CI: 0,156-26,831). Siroz gelişmiş kronik B veya C viral hepatitli hastalarda (n=7), GSTT1 null genotipli bireyler siroz olmayan kronik B veya C viral hepatitli hastalara (n=40) göre daha yüksek oranda görülmesine rağmen (%42.9, %25) istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı (OR:2.350; %95 CI:0,147-37,611).

**Sonuç:** Siroz gelişmiş hepatitli hastalarda GSTM1 null genotipi ve GSTT1 null genotipi, siroz olmayan kronik B veya C viral hepatitli hastalara göre daha yüksek oranda görülmesine rağmen istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki bulunamadı. Daha geniş popülasyonlarda yapılacak çalışmalarda istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar bulunabileceğini kanısına varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Glutasyon-s transferaz M1, Glutasyon-s transferaz T1, Genetik polimorfizm, Kronik Hepatit, Siroz



## VIII. İNGİLİZCE ÖZET / ABSTRACT

### **The role of Glutathione-S Transferase M1 and T1 polymorphisms on progression of hepatocellular insufficiency to cirrhosis.**

**Aim and Background:** We intended to investigate the probable role of activity absence (null genotype) of GSTM1 and GSTT1 functioning in antioxidant pathways, on progression of chronic B or C hepatitis to cirrhosis.

**Methods:** The patient population included 40 B or C chronic hepatitis patients without cirrhosis, 7 patients with cirrhosis diagnosed by biopsy (B or C type chronic hepatitis) compared to hepatitis markers negative control group (n=57) of normal healthy volunteers. All patients were recruited from the outpatient clinic of Gastroenterology, Celal Bayar University Faculty of Medicine. Genomic DNA of leukocytes for polymerase chain reaction (PCR) analysis was isolated using a commercial isolation kit PCR analysis was assessed for GSTM1 and GSTT1 genotypes. The PCR products were resolved on electrophoresis 2% agarose jell and visualized. Odds ratios and 95% confidence intervals were calculated for the two genotypes. The statistical software used for the data analyses was SPSS version 10.0.

**Results:** The prevalence of GSTM1 and GSTT1 null genotypes in the control group (n=57) were 38.6%, 28.1% respectively. The prevalence of GSTM1 null genotype in the B or C chronic hepatitis patients with cirrhosis group (n=7) was 42.9%, compared to 40% in the B or C chronic hepatitis patients without cirrhosis group (n=40), giving an odds ratio (OR) of 2.045 (95% confidence interval CI: 0.156-26.831). Although the prevalence of GSTM1 null genotype was higher in the B or C chronic hepatitis with cirrhosis group it was not statistically significant. The prevalence of GSTT1 null genotype in the B or C chronic hepatitis patients with cirrhosis group (n=7) was 42.9%,

compared to 25% in the B or C chronic hepatitis patients without cirrhosis group (n=40), giving an odds ratio (OR) of 2.350 (95% confidence interval CI: 0.147-37.611). The prevalence of GSTM1 null genotype was higher in the B or C chronic hepatitis with cirrhosis group but it was not statistically significant.

**Conclusion:** The prevalence of GSTM1 null genotype and GSTT1 null genotype in the B or C chronic hepatitis patients with cirrhosis was higher compared to the patients without cirrhosis but the ratio's were not statistically significant. We believe that investigations with higher population groups could reveal results with statistical significance.

**Key Words:** Glutathione-s transferase M1, Glutathione- s transferase T1, Genetic polymorphism, Chronic hepatitis, Cirrhosis

## IX. KAYNAKLAR

1. Kasapoğlu B, Türkay C. Okült (OCCULT) Hepatit B Enfeksiyonu. Güncel Gastroenteroloji. 2007; 11/2: 51-6
2. World Health Organization. Hepatitis B. WHO/CDS/CSR/LYO/2002.2
3. Karadakovan A. "Hepatit -B İnfeksiyonu Ve Koruyucu Önlemler" Aile ve Toplum Dergisi, 2002; 5:Cilt:2
4. Özdemir S, Kural Sezer E, Sonsuz A, ve ark. Asymptomatic "healthy" HBsAg carrier state in Turkey. Cerrahpaşa J Med 1998; 29 (3): 141-4
5. Mahoney FJ. Update On Diagnosis, Management, and Prevention of Hepatitis B Virus Infection Clinical Microbiology Reviews. 1999;12: 351-66
6. McMahon BJ, Alberts SR, Wainwright RB, et al. Hepatitis B-related sequelae: prospective study of 1400 hepatitis B surface antigen-positive Alaska native carriers. Arch Intern Med 1990; 150: 1051-4
7. Arslan Ergül A. B Hepatit Etiyolojisinde Konağa Ait Genetik Faktörler [Tez]. Ankara. Ankara Üniv.2004
8. Lai MMJ, Mason WS. Molecular biology of hepatitis viruses, 4<sup>th</sup> Ed. Ed. I. M. Arias, J. L. Boyer, F. V. Chisari, N. Fausto, D. Schachter, D. A. Shafritz. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins. 2001:831-56
9. Arslan Ergül A. Hepatit Virüslerinin Moleküler Biyolojisi Güncel Gastroenteroloji. 2003; 7/1: 91-6
10. Dişibeyaz S. Kronik Hepatit B. Güncel Gastroenteroloji. 2004; 8/2: 140-2
11. Şener K. HbsAg(+) Gebelerde Transplasental Geçişin Araştırılması. [Tez] İstanbul. Bakırköy Kadın ve Çocuk Hastalıkları Eğitim Hastanesi ve Doğumevi. 2005
12. Centro laboratuvarı, "Hepatit B Virus (HBV) Serolojik ve Moleküler Tanısı", <<http://www.centro.com.tr/download/HEPATIT%20B.pdf>>

13. Özdemir S. Kronik Hepatit B ve D (Delta) Gastroenterolojide Klinik Yaklaşım Sempozyum Dizisi. 2004; 38: 143-9
14. Aygen B. Türkiye Klinikleri J Int Med Sci 2006; 2(16): 21-33
15. Şentürk H. Hepatit C. Hepato-Bilier Sistem ve Pankreas Hastalıkları Sempozyum Dizisi.2002; 28: 79-85
16. Karaca Ç, Çakaloğlu Y, Demir K, ve ark. Hepatit C virus infeksiyonlu hastalarda hepatit B virus sıklığı. Akademik Gastroenteroloji Dergisi, 2004; 3 (2): 76-8
17. Centro laboratuvarı, "Hepatit C Virus (HCV) Serolojik ve Moleküler Tanısı", <<http://www.centro.com.tr/download/HEPATIT%20C.pdf>>
18. Özdemir S. Hepato-Bilier Sistem ve Pankreas Hastalıkları Sempozyum Dizisi 2002; 28: Karaciğer Sirozunun Kliniği 93-6
19. Öktem A. Türkiye'de Kronik Siroz ve Hepatosellüler Karsinoma Etiyolojisi. Güncel Gastroenteroloji 2003; 7/3: 187-91
20. Gürakar M, Gürakar A. A'dan Z'ye Hepatit. 2. baskı. Etiler(İstanbul).Selçuk Ofset;2001
21. Aksoy Y. Antioksidan Mekanizmada Glutatyonun Rolü. T Klin Tıp Bilimleri 2002; 22: 442-8
22. Hayes J.D, Pulford D.J. The Glutathione S-Transferase Supergene Family: Regulation of GST and the Contribution of the Isoenzymes to Cancer Chemoprotection and Drug Resistance. Crit Rev Biochem Mol Biol. 1995: 30; 445-600
23. Lo HW, Osman FA. Genetic polymorphism and function of glutathione S-transferases in tumor drug resistance. Current Opinion in Pharmacology 2007; 7: 367-74
24. Board P, Coggan M, Johnston P, et al. Genetic Heterogeneity Of The Human Glutathione Transferases: A Complex of Gene Families. Phar Ther. 1990; 48: 357-69.
25. Ketterer B, Harris J.M, Talaska G, et al. The Human Glutathione S-Transferase Supergene Family, Its Polymorphism, and Its Effects on Susceptibility to Lung Cancer. Env Health Persp. 1992; 98: 87-94.

26. Özeydin A, Onaran İ, Ulutin T. GSTT1 Null Genotipinde Eritrosit Glutasyon Konjugat Transportu. Kocatepe Tıp Dergisi 2004; 5: 59-62
27. Board P, Coggan M, Johnston P, et al. Genetic Heterogeneity Of The Human Glutathione Transferases: A Complex of Gene Families. *Phar Ther.*1990; 48; 357-69.
28. Mannervik B, Awasthi YC, Board PG, et al. Nomenclature for human glutathione transferases. *Biochem J.* 1992; 282: 305-6.
29. Board PG, Coggan M, Chelvanayagam G, et al. Identification, characterization and crystal structure of the omega class of glutathione transferases. *J Biol Chem.* 2000; 275: 24798-806.
30. Board PG, Webb GC. Isolation of a cDNA clone and localization of human glutathione S-transferase 2 genes to chromosome band 6p12. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1987; 84: 2377-81
31. Ross VL, Board PG and Webb GC. Chromosomal Mapping of the Human Mu Class Glutathione S-Transferases to 1p13. *Genomics.*1993;18: 87-91
32. Board PG, Webb GC, Coggan M. Isolation of a cDNA clone and localization of the human glutathione S-transferase 3 genes to chromosome bands 11q13 and 12q13-14. *Ann. Hum. Genet.* 1989; 53: 205-13
33. Kanaoka Y, Fujimori K, Kikuno R, et al. Structure and chromosomal localization of human and mouse genes for hematopoietic prostaglandin D synthase. *Eur. J. Biochem.* 2000; 267: 3315-22
34. Tan KL, Webb GC, Baker RT, et al. Molecular cloning of a cDNA and chromosomal localization of a human theta-class glutathione S-transferase gene (GSTT2) to chromosome 22. *Genomics* 1995; 25: 381- 87
35. Blackburn AC, Woollatt E, Sutherland GR, et al. Characterization and chromosome location of the gene GSTZ1 encoding the human Zeta class glutathione transferase and maleylacetoacetate isomerase. *Cytogenetics and Cell Genetics* 1998; 83: 109-14

36. Stockman PK, McLellan LI, Hayes JD. Characterization of the basic glutathione S-transferase B1 and B2 subunits from human liver. *Biochem J* 1987; 244: 55-61
37. Seidegard J, Ekström G. The Role of Human Glutathione Transferases and Epoxide Hydrolases in the Metabolism of Xenobiotics. *Environ Health Perspect* 1997;105: 791-99
38. Board PG. Identification of cDNAs encoding two human Alpha class glutathione transferases (GSTA3 and GSTA4) and the heterologous expression of GSTA4-4. *Biochem. J.* 1998; 330: 827-31.
39. Johansson AS, Mannervik B. Human Glutathione Transferase A3-3, a Highly Efficient Catalyst of Double-bond Isomerization in the Biosynthetic Pathway of Steroid Hormones. *J Biol Chem* 2001; 276: 33061-65
40. Hayes JD, Mantle TJ. Use of immunoblot techniques to discriminate between the glutathione S-transferase Yf Yk, Ya, Ynl Yb and Yc subunits and to study their distribution in extrahepatic tissues. *Biochem J.* 1986; 233: 779-88
41. Seidegard J, Pero RW. The hereditary transmission of high glutathione transferase activity towards trans-stilbene oxide in human mononuclear leukocytes. *Human Genet* 1985; 69: 66-8
42. Whalen R, Boyer T.D. Human Glutathione S-Transferases. *Sem Liver Dis*, Vol. 1998; 18: 4
43. Warholm M, Guthenberg C, Mannervik B. Molecular and catalytic properties of glutathione S-transferase p from human liver: an efficiently conjugating epoxides. *Biochem* 1983; 22: 3610-17
44. Roy B, Chowdhury A, Kundu S, et al. Increased risk of antituberculosis drug-induced hepatotoxicity in individuals with glutathione S-transferase M1 'null' mutation. *J Gastroenterol Hepatol* 2001; 16:1033-37.
45. Suzuki T, Coggan M, Shaw DC, et al. Electrophoretic and immunological analysis of human glutathione S-transferase isoenzymes. *Ann Hum Genet* 1987; 51: 95-106.

46. Ellis EM. Reactive carbonyls and oxidative stress: Potential for therapeutic intervention. *Pharmacology & Therapeutics* 2007;115: 13-24
47. Pavelic ZP, Wang X, Li Y, et al. Overexpression of glutathione S-transferase pi messenger RNA and its relationship to gene amplification in head and neck squamous cell carcinoma *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 1997; 254 : 144-6
48. Karakaş S. Glutasyon S-transferaz Z1 (GSTZ1) Gen Polimorfizmi ile Mide Kanseri Arasındaki İlişki [Tez]. Mersin. Mersin Üniversitesi, 2004
49. Canon JMF, Penalva MA. Characterization of a Fungal Maleylacetoacetate Isomerase Gene and Identification of Its Human Homologue. 1998; 273: 329-37.
50. Tong Z, Board PG, Anders MW. Glutathione transferase zeta catalyses the oxygenation of the carcinogen dichloroacetic acid to glyoxylic acid. *Biochem J.* 1998; 331: 371-74
51. Ekinci M. Bronsiyal Astımlı Çocuklarda Glutasyon-S Transferaz Gen Polimorfizminin Bir Risk Faktörü Olarak Belirlenmesi [Tez]. İstanbul Sağlık Bakanlığı Haseki Eğitim Ve Araştırma Hastanesi; 2006
52. Girisha KM, Gilmour A, Mastana S, et al. T1 and M1 polymorphism in glutathione S-transferase gene and coronary artery disease in North Indian population. *Indian Journal of Medical Sciences,* 2004; 58: 520-6
53. Chisari FV, Ferrari C. Hepatitis B virus immunopathogenesis. *Annu Rev Immunol.* 1995;13: 29–60.
54. Wang FS. Current status and prospects of studies on human genetic alleles associated with hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 641-4.
55. Şentürk H. Serbest Radikal Hasarının Hepato-Biliyer Sistem Hastalıklarındaki Rolü. *Kocatepe Tıp Dergisi* 2004; 5:1-8
56. Cabre M, Camps J, Paternain JL, et al. Time course of changes in hepatic lipid peroxidation and glutathione metabolism in rats with carbon tetrachloride-induced cirrhosis. *Hepatology* 1999; 29: 664-9.

57. Hayes JD, Pulford DJ. The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 1995; 30: 445-600.
58. Desmots F, Rissel M, Pigeon C, et al. Differential Effects Of Iron Overload On GST Isoform Expression In Mouse Liver And Kidney And Correlation Between GSTA4 Induction And Overproduction Of Free Radicals: *Free Radical Biology & Medicine.* 2002; 32: 93-101
59. Loguercio C, Federico A. Oxidative Stress In Viral And Alcoholic Hepatitis Serial Review: Reactive Oxygen and Nitrogen in Inflammation Guest Editor: Giuseppe Poli. *Free Radical Biology & Medicine* 2003; 34: 1-10
60. Acara H, Öztürk K, Müslümanoğlu MH, ve ark. Relation of glutathione S-transferase genotypes (GSTM1 and GSTT1) to laryngeal squamous cell carcinoma risk: *Cancer Genetics and Cytogenetics* 2006; 169: 89-93
61. Aras S. GSTM1 Geninin Normal Bireylerde ve Akciğer Kanserli Hastalarda RFLP Analizi ile İncelenmesi [Tez]. Ankara. Ankara Üniversitesi, 2001
62. Ada AO, Süzen SH, Iscan M. Polymorphisms of cytochrome P450 1A1, glutathione S-transferases M1 and T1 in a Turkish population. *Toxicology Letters* 2004; 151: 311-15
63. Serdal Arslan, Mahir Budak, Sami Bardakçı. GSTM1 Polimorfizmi İle Primer Beyin Tümörleri Arasındaki İlişkinin Araştırılması. *C.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi.* 2005; 26: 1
64. Rowe JD, Nieves E, Listowsky I. Subunit diversity and tissue distribution of human glutathione S-transferases: interpretation based on electrospray ionization-MS and peptide sequence-specific antisera. *Biochem J* 1997;325:481-6.
65. Eaton DL, Bammler TK, Kelly EJ. Interindividual differences in response to chemoprotection against aflatoxin-induced



hepatocarcinogenesis: implications for human biotransformation enzyme polymorphisms. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2001; 500: 559-76.

- 66.** Ladero JM, Martinez C, Martin EG, et al. Glutathione S-transferase M1 and T1 genetic polymorphisms are not related to the risk of hepatocellular carcinoma: A study in the Spanish population. *European Journal Of Cancer* 2006; 42: 73-7
- 67.** Kato T, Miyakawa H, Ishibashi M. Frequency and significance of anti-glutathione S-transferase autoantibody (anti-GST A1-1) in autoimmune hepatitis. *Journal of Autoimmunity* 2004; 22: 211-6
- 68.** Savolainen VT, Pajarinen J, Perola M, et al. Glutathione-S-Transferase GST M1 "Null" Genotype and the Risk of Alcoholic Liver Disease. *Alcohol Clin Exp Res.* 1996; 20: 1340-5
- 69.** Ghobadloo SM, Yaghmaei B, Bakayev V, et al. GSTP1, GSTM1, and GSTT1 Genetic Polymorphisms in Patients With Cryptogenic Liver Cirrhosis. *J Gastrointest Surg.* 2004;8: 423-7
- 70.** Ghobadloo SM, Yaghmaei B, Allameh A, et al. Polymorphisms of glutathione S-transferase M1, T1, and P1 in patients with HBV-related liver cirrhosis, chronic hepatitis, and normal carriers. *Clinical Biochemistry* 2006; 39: 46-9