

T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ BİYOLOJİ  
ANABİLİM DALI

**CYP1A2, CYP2D6, GSTM1, GSTP1 VE GSTT1 GENLERİ  
VARYANTLARININ MESANE TÜMÖRÜ İLE İLİŞKİSİ**

**DOKTORA TEZİ**

Dr. Ertan ALTAYLI

Samsun  
Temmuz-2007

T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ BİYOLOJİ  
ANABİLİM DALI

**CYP1A2, CYP2D6, GSTM1, GSTP1 VE GSTT1 GENLERİ  
VARYANTLARININ MESANE TÜMÖRÜ İLE İLİŞKİSİ**

**DOKTORA TEZİ**

Dr. Ertan ALTAYLI

Danışman: Yrd.Doç.Dr. Sezgin GÜNEŞ

Samsun  
Temmuz-2007

**T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

Bu çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Biyoloji Programında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Hasan BAĞCI, Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Ali Faik YILMAZ, Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Figen CELEP, Karadeniz Teknik Üniversitesi

Üye : Yrd. Doç. Dr. Nurten KARA, Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye : Yrd. Doç. Dr. Sezgin GÜNEŞ, Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurul'unca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

**Prof. Dr. Süleyman ÇELİK  
Enstitü Müdürü**

## TEŞEKKÜR

Ondokuz Mayıs Üniversitesi (OMÜ), Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı (SAMSUN)'nda, doktora eğitimimin her aşamasında yetişmem için çok çaba harcayan ve bana her konuda destek olan danışmanım, Tıbbi Biyoloji A.D. öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Sezgin GÜNEŞ'e çok teşekkür ederim.

Doktora eğitimim ve tez çalışmalarım sırasında her konuda destek veren, özellikle moleküler biyoloji ve genetik alanında yetişmemde büyük emeği olan, insan genom projesi konusunda ufkumuzu açan; Tıbbi Biyoloji A.D. Bşk. Prof. Dr. Hasan BAĞCI'ya teşekkür ederim. Doktora eğitimim sırasında yoğun çaba ve desteğiyle özellikle Tıbbi Genetik ve Sitogenetik alanında yetişmemde büyük katkısı olan Tıbbi Biyoloji A.D. öğretim üyesi Prof. Dr. Gülsen ÖKTEN'e teşekkür ederim. Hem doktora eğitimim sırasında hem de tez çalışmalarım sırasında her konuda destek veren Tıbbi Biyoloji A.D. öğretim üyesi ve tez izleme komitemin üyesi Yrd. Doç. Dr. Nurten KARA'ya teşekkür ederim. Tez çalışmalarım sırasında destek olan, Üroloji A.D. öğretim üyesi ve tez izleme komitemin üyesi Prof. Dr. Ali Faik YILMAZ'a teşekkür ederim. Doktora eğitimim sırasında desteğini esirgemeyen Tıbbi Biyoloji A.D. öğretim üyesi Prof. Dr. Mehmet ELBİSTAN'a teşekkür ederim. Ayrıca, önce tez izleme komitemde görev alan; ancak daha sonra iş yeri değişikliği nedeniyle tez izleme komitemden ayrılmak zorunda kalan, Doç. Dr. Cenk BİLEN ve Yrd. Doç. Dr. Burak KOÇAK'a, harcadıkları emekten ve katkılarından ötürü teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım sırasında desteğini esirgemeyen, Gülhane Askeri Tıp Fakültesi Üroloji A.D. öğretim üyeleri Doç. Dr. Serdar GÖKTAŞ'a, Yrd. Doç. Dr. H. Cem IRKILATA'ya, OMÜ Tıp Fakültesi Biyokimya A.D. Bşk. Prof. Dr. Muhlise ALVUR'a ve verilerin istatistik değerlendirmesindeki katkılarından ötürü Yrd. Doç. Dr. Cengizhan AÇIKEL'e teşekkür ederim.

Doktora eğitimim sırasında, her konuda birbirimize destek olduğumuz, çalışma arkadaşlarım; Ferda ALPARSLAN PINARLI'ya, Nevin KARAKUŞ'a, Emre TAŞKIN'a ve Şengül TURAL'a, Serbülent YİĞİT'e ve Özlem SEZER'e teşekkür ederim.

Tezimle ilgili laboratuvar çalışmalarım sırasında gösterdikleri sıcak ilgi ve destekten ötürü teknisyen arkadaşlarım Öznur MIRİK'a ve Mukadder AYDOĞDU'ya teşekkür ederim. Ayrıca genel ve idari hizmetlerde görev yapan Namık CANTÜRK'e, Erkan CINDIK'a ve İbrahim KESKİN'e teşekkür ederim. Ayrıca bu çalışmaya gönüllü olarak katılarak hasta ve kontrol grubunu oluşturan kişilere ve emeği geçen herkese teşekkür ederim.

Bu çalışmaya mali destek veren Ondokuz Mayıs Üniversitesi Araştırma Fonu'na teşekkür ederim. Ayrıca Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü ve aynı zamanda Farmakoloji Anabilim Dalı Bşk., değerli öğretim üyesi Prof. Dr. Süleyman ÇELİK'e ve diğer tüm değerli personeline teşekkür ederim.

Doktora eğitimimin başından itibaren beni teşvik eden ve destek olan değerli ağabeyim Dr. Muhittin ÖZÇELİK'e teşekkür ederim. Ayrıca doktora eğitimim sırasında desteğini esirgemeyen değerli komutanlarıma, askeri doktor ağabeylerime, meslektaşlarıma ve arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Son olarak doktora eğitimim sırasında yaşadığım tüm zorlukları aşmamda destek olan; bu yoğun dönemde çocuklarımız Işıl ve Bahadır'ın yetiştirilmesinde daha fazla emek harcayan ve büyük sabır gösteren sevgili eşim Oya'ya çok teşekkür ederim.

## ÖZET

# ***CYP1A2, CYP2D6, GSTM1, GSTP1 VE GSTT1 GENLERİ VARYANTLARININ MESANE TÜMÖRÜ İLE İLİŞKİSİ***

**Dr. Ertan ALTAYLI, Doktora Tezi**

**Ondokuz Mayıs Üniversitesi Samsun, Temmuz-2007**

Mesane kanseri, gelişmiş ülkelerdeki üriner sistem kanserleri içerisinde en önemlilerinden biridir. Mesane kanseri, etiyojisi büyük ölçüde bilinmemekle birlikte, genetik ve çevresel faktörlerin etkili olduğu düşünülmektedir. Ksenobiyotik metabolizmasında yer alan CYP ve GST enzimleri karsinogenlerin detoksifikasyonunu sağlarlar. Bu yüzden ksenobiyotik metabolizma enzimleri mesane kanserinin etiopatogenezinde önemli rol oynarlar. Ksenobiyotik metabolizmasında yer alan enzimlerin bir çoğunun polimorfizmleri, sözü edilen enzimlerin in vivo ifade seviyesinde değişikliklere yol açmaktadır.

Biz çalışmamızda, ksenobiyotik metabolizmasında önemli rol oynayan CYP ve GST metabolizma enzimlerinden *CYP1A2* (C734A), *CYP2D6* (G1934A) ve *GSTP1* (I105V) genleri varyantları ile *GSTM1* ve *GSTT1* genleri delesyon polimorfizmlerinin mesane kanseriyle ilişkisini araştırmayı amaçladık. Bu çalışmada 135 mesane kanserli hastada ve kontrol olarak kullanılan benzer yaştaki 128 sağlıklı kişide bu polimorfimlerin dağılımlarını araştırdık. Polimorfizmler, polimeraz zincir reaksiyonu-restriksiyon parçacığı uzunluk polimorfizmi ve multipleks polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile belirlendi. Genotip ve allel sıklıkları hesaplandı. Genotip ve allellerin mesane kanseri riski, demografik faktörler, sigara ve tümör derecesiyle olan ilişkisi değerlendirildi.

Mesane kanserli hastalarda *GSTT1* null genotip görülme oranı %23'tü, kontrollerde ise bu oran %7 idi (OR, 0.254, %95 CI, 0.115-0558, p=0.001). *CYP1A2*, *CYP2D6*, *GSTM1* ve *GSTP1* genleri polimorfizmleri ile mesane kanseri arasında herhangi bir ilişki bulunmadı.

Bu veriler çalışılan Türk popülasyonunda *GSTT1* null genotipiyle mesane kanseri arasında bir ilişki olabileceğini göstermektedir. Mesane tümörüne duyarlılığın belirlenmesinde rol oynayan değişkenleri açıklayabilmek için ileriki çalışmalara ihtiyaç vardır.

**ABSTRACT**  
**THE ASSOCIATION OF *CYP1A2*, *CYP2D6*, *GSTM1*, *GSTP1* AND *GSTT1***  
**GENE POLYMORPHISM IN BLADDER CANCER**

**Dr. Ertan ALTAYLI, Ph. D. Thesis**  
**Ondokuz Mayıs University Samsun, July-2007**

Bladder cancer is one of most important urinary tract cancer in developed countries. Although the etiology of bladder cancer largely is unknown, both genetic and environmental factors may be involved. CYP and GST are xenobiotic metabolism enzymes that have function in detoxification of carcinogens. Thus, these enzymes may play an important role in the etiopathogenesis of bladder cancer. Polymorphism of most of the enzymes in xenobiotic metabolism leads to changes in levels of in vivo enzyme expression.

The aim of this study was to investigate the relationship between bladder tumor and variants of *CYP1A2* (C734A), *CYP2D6* (G1934A), *GSTP1* (I105V), *GSTM1* null, and *GSTT1* null which play an important role in xenobiotic metabolism. In this study, we investigated the distribution of these polymorphisms in 135 bladder cancer patients and 128 age-matched healthy individuals as controls. The polymorphisms were analyzed using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism assay and multiplex PCR method. Genotype and allele frequencies were calculated, and their associations with bladder cancer risk are assayed, and association with bladder cancer risk or demographic factors, smoking status, and tumor stage was investigated.

The prevalence of *GSTT1* null genotype in cases were 23%, compared to 7% in the control group (OR, 0.254, %95 CI, 0.115-0558, p=0.001). No association was observed between *CYP1A2*, *CYP2D6*, *GSTM1*, and *GSTP1* genes polymorphisms and bladder cancer.

These data demonstrate that *GSTT1* gene polymorphism may be associated with bladder cancer in a Turkish population studied and further studies will be needed to clarify the role of such variation in determining susceptibility to bladder cancer.

## İÇİNDEKİLER

<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>3</b>
2.1. Mesane Kanseri (MK) Epidemiyolojisi .....	3
2.2. MK Etiyolojisi.....	3
2.3. MK Moleküler Biyolojisi ve Patogenezi .....	4
2.3.1. Onkogenler.....	8
2.3.1.1. <i>ErbB</i> .....	8
2.3.1.2. <i>H-ras</i> .....	9
2.3.1.3. <i>c-myc</i> .....	10
2.3.2. Tümör Baskılayıcı Genler .....	10
2.3.2.1. <i>Rb</i> .....	10
2.3.2.2. <i>p53</i> .....	11
2.3.3. Kanser İlerlemesi.....	13
2.3.3.1. Anjiogenez Gelişimi.....	14
2.3.3.2. Hücre Dışı Matriks ve Hücre Adezyon Molekülleri.....	15
2.3.4. Kromozom 9 Değişiklikleri.....	16
2.3.5. Mikrosatellit Kararsızlığı.....	17
2.3.6. Epigenetik Faktörler.....	17
2.4. CYP ve GST Metabolizma Enzimleri, Genleri ve Fenotip-Genotip ilişkisi.....	18
2.4.1. <i>CYP1A2</i> ve <i>CYP2D6</i> .....	21
2.4.2. <i>GSTM1</i> , <i>GSTT1</i> ve <i>GSTP1</i> .....	28
2.5. MK Patolojisi.....	36
2.6. MK Kliniği.....	37
2.7. MK Tanı Yöntemleri .....	38
2.8. MK Biyolojik Tümör Belirteçleri.....	38
2.9. MK Tedavisi.....	39

<b>3. MATERYAL VE METOT</b> .....	42
3.1. Çalışma Populasyonunun oluşturulması, Kan Örneklerinin ve Epidemiyolojik Verilerin Toplanması .....	42
3.2. Kullanılan Cihazlar ve Kimyasal Maddeler.....	42
3.3. Kullanılan Solüsyonların Hazırlanması.....	44
3.4. DNA İzolasyonu.....	45
3.5. DNA Konsantrasyonunun Hesaplanması.....	47
3.6. <i>CYP1A2</i> Geninin PZR/RPUP Yöntemi ile Genotiplemesi.....	48
3.7. <i>CYP2D6</i> Geninin PZR/RPUP Yöntemi ile Genotiplemesi.....	49
3.8. <i>GSTM1</i> ve <i>GSTT1</i> Genlerinin Multipleks PZR Yöntemi ile Genotiplemesi.....	50
3.9. <i>GSTP1</i> Geninin PZR/RPUP Yöntemi ile Genotiplemesi.....	50
3.10. İstatistik Değerlendirme.....	51
<b>4. BULGULAR</b> .....	52
4.1. Çalışma grubu ile ilgili demografik verilerin değerlendirilmesi.....	52
4.2. <i>CYP1A2</i> geni polimorfizmiyle ilgili bulgular.....	53
4.3. <i>CYP2D6</i> geni polimorfizmiyle ilgili bulgular.....	53
4.4. <i>GSTM1</i> ve <i>GSTT1</i> genleri polimorfizmiyle ilgili bulgular.....	54
4.5. <i>GSTP1</i> geni polimorfizmiyle ilgili bulgular.....	55
<b>5. TARTIŞMA</b> .....	66
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER</b> .....	70
<b>7. KAYNAKLAR</b>	
<b>8. EKLER</b>	
<b>9. ÖZGEÇMİŞ</b>	



## 1. GİRİŞ

Batı ülkelerinde yapılan çalışmalara göre, mesane tümörleri, sıklık sıralamasında erkeklerde 4. sırada yer almakta ve tüm kanserlerin % 5-10'unu, kadınlardaki kanser sıralamasında 8. sırada yer almakta ve tüm kanserlerin % 4'ünü oluşturmaktadır (Sanyal ve ark., 2004). Türkiye'de yapılan bir çalışmada ise mesane kanseri ülke genelinde ölüme neden olan hastalıklar arasında, 60 yaş üzeri erkeklerde 10. (%1.6), aynı yaş grubundaki kadınlarda ise 19. (%0.4) sırada yer almaktadır. Karadeniz bölgesinde aynı yaş grubundaki erkeklerde ölüm nedenleri arasında 9. (%1.7) sırada yer almakta ve kadınlarda ise ilk 20 hastalık içerisinde girememektedir (T.C. Sağlık Bakanlığı, 2000).

Mesane kanserlerinin % 90-95'i ürotelyal kanserlerdir ve normal transizyonel hücrelerin kontrolsüz bir şekilde çoğalarak "malign" veya "kötü huylu" fenotip kazanması sonucu gelişirler (Kumar ve ark., 2005). Mesane kanserinin etiolojisinde; sigara, mesleki karsinogenler, şistozomiyazis, kronik sistit, tedavi amaçlı siklofosfamid kullanımı, pelvik radyoterapi, genetik faktörler, cinsiyet, ırk ve yaş önemli yer tutmaktadır (Jung, 2000). Patogeneizde tümör baskılayıcı genler ve onkogenler önemli rol oynamakla birlikte; çeşitli metabolizma enzimlerinin polimorfizmlerinin mesane kanseri ile ilişkisini ortaya koyan birçok araştırma yapılmıştır. Normal ürotelyal hücrenin malign hücreye dönüşümü ve sonrasında metastazı, içerisinde birçok farklı genin, proteinin ve diğer moleküllerin etkileşiminin rol oynadığı yolların yer aldığı kompleks bir mekanizmadır (Knowles, 1999; Quek ve ark., 2003). Metabolizma enzimlerinin bir kısmının polimorfizmlerinin, enzimlerin "in vivo" ifade seviyelerinde ve dolayısıyla ksenobiyotik metabolizmasında oluşan değişikliklere bağlı olarak, hastalık gelişiminde, kişisel risk farklılıklarına neden olduğu bildirilmektedir (Autrup, 2000; Miller ve ark., 2001; Antona ve Sundberg, 2006).

Sitokrom p450 ve glutatyon s-transferaz genlerinin polimorfizmleri, endojen metabolitlerin ve ksenobiyotiklerin metabolizmasındaki bireyler arasındaki farklılıktan sorumlu olması nedeniyle çeşitli kanser araştırmalarında moleküler epidemiyoloji çalışmalarının ilgi odağı olmuştur. Şimdiye kadar sitokrom p450, aile 1, alt aile A, polipeptit 2 (*CYP1A2*); sitokrom p450, aile 2, alt aile D polipeptit 6 (*CYP2D6*); glutatyon s-transferaz, aile M, alt aile 1 (*GSTM1*); glutatyon s-transferaz, aile P, alt aile 1 (*GSTP1*) ve glutatyon s-transferaz, aile T, alt aile 1 (*GSTT1*) genleri varyantlarının,

ayrı veya kısmen birlikte, mesane tümörüyle ilişkisinin incelendiği çeşitli çalışmalar yapılmıştır. *CYP1A2* ve *CYP2D6*'nın mesane kanseri (Romkes-Sparks ve ark., 1994; Branch ve ark., 1995; Gago-Dominguez ve ark., 2003; Sobti ve ark., 2005) ve çeşitli kanserlerle (Sobti ve ark., 2003; Stefano Landia ve ark., 2005; Li ve ark. 2006) ilişkisini inceleyen çalışmalar yapılmıştır. Aynı şekilde GST enzimlerinden *GSTM1*, *GSTP1* ve *GSTT1* genlerinin polimorfizmlerinin mesane kanseri (Srivastava ve ark., 2005; Karagas ve ark., 2005), diğer kanserler (Gönlüğü ve ark., 2006; Ateş ve ark., 2005), p53 mutasyonu (Ryk ve ark., 2005) ve DNA onarım genleriyle (Sanyal ve ark.2004) ilişkisini inceleyen araştırmalar yapılmıştır. Bu çalışmaların birçoğunda çelişkili sonuçlar alındığı görülmüştür. Çalışmada çoğunluğu Orta Karadeniz Bölgesi'nde yaşayan insanlarda *CYP1A2*, *CYP2D6*, *GSTM1*, *GSTP1* ve *GSTT1* genleri varyantlarının mesane tümörü ile ilişkisinin olup olmadığını belirlemek amaçlandı. Ayrıca mesane tümörü ile araştırdığımız genler arasında cinsiyet, yaş, patoloji sonuçları, sigara ve alkol kullanımı, aile öyküsü gibi faktörlerin etkisinin olup olmadığını belirleme çalıştık. Populasyonumuzun (çalışma ve kontrol) allel ve genotip frekanslarını hesaplayarak diğer etnik gruplarla (benzer çalışma gruplarını içerenler) karşılaştırmayı amaçladık.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Mesane Kanseri (MK) Epidemiyolojisi:

Mesane kanseri batı ülkelerinde erkeklerde karşılaşılan dördüncü en sık kanser türüdür (Ryk ve ark., 2005). Kadınlarda görülme sıklığı ise yaklaşık 3 kat daha fazladır ve hastalık büyük oranda yaşlılarda görülmektedir. Mesane kanserinin görülmesindeki cinsiyet farklılıklarının, çevresel karsinojenlere ve sigaraya maruz kalmadaki farklılıklara bağlı olduğu bildirilmektedir. Genel olarak erkekler işyerlerinde mesleki karsinojenlere ve sigara dumanına daha fazla maruz kalmaktadır. Ancak son çeyrek yüzyılda gelişmiş batı ülkelerinde kadınların da iş hayatına büyük oranda katılmasıyla kadınlarda da mesane kanseri sıklığında artış olduğu tespit edilmiştir. Mesane tümörleri nadiren 40 yaş altında görülmektedir ve bu hastalarda daha iyi bir histolojik yapıya ve prognoza sahiptir (Jung, 2000). Sağlık Bakanlığı verilerine göre ülkemizdeki mesane kanseri insidansı dünya ortalamasının üzerindedir. Nitekim 2000 yılında yapılan istatistiklere göre, ülkemizde görülen kanserler arasında sıklık sıralamasında 4. sırada yer almıştır.

### 2.2. MK Etiyolojisi:

Mesane kanseri gelişiminde rol oynadığı ortaya konan etiyolojik faktörler şunlardır: sigara, mesleki karsinojenler, tekrarlayan ve kronik üriner sistem enfeksiyonları, şistozomiyazis, ürolitiazis, uzun süreli üriner kateterizasyon, sitotoksik kemoterapi, pelvik radyoterapi, bazı analjezikler, çeşitli gıdalar ve genetik faktörler (Jung, 2000; Kumar ve ark., 2005).

Mesane kanserinin sigarayla olan ilişkisi yapılan çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Sigara mesane kanserlerinin bilinen en önemli etiyolojik faktörüdür (Jung, 2000). Sigara içenlerde mesane tümörü gelişme riski ortalama 3-7 kat artmaktadır (Kumar ve ark., 2005). Mesane tümörünün etiyopatogenezinde tütünde yer alan benzo(a)piren, polisiklik aromatik hidrokarbonlar ve aromatik aminlerin (2-naftilamin, 4-aminobifenil) önemli rol oynadığı belirlenmiştir (Cao ve ark., 2005).

Mesane kanserleri etiyolojisinde mesleki karsinojenler ikinci sıradadır. Boya, lastik, deri, kağıt, kozmetik ve petrol sanayiinde çalışanların maruz kaldıkları mesleki karsinojenler arasında; anilin boyaları, 2-naftilamin, 4-aminobifenil ve benzidin yer almaktadır (Stadler,

1993). Mesane kanserinin, endüstriyel karsinojenlere uzun yıllar maruz kalımdan sonra ve uzun bir latent periyottan sonra gelişebileceği değerlendirilmektedir ( Jung, 2000).

Bakteriyel enfeksiyon ve uzun süre kalıcı üriner kateter takılması gibi çeşitli nedenlerle oluşan kronik inflamasyonların etkisiyle, salgılanan nitrit ve nitrozaminlerin çeşitli genetik mekanizmaları etkileyerek hücre proliferasyonunu artırdığı bilinmektedir (Badawi, 1996; Stonehill ve ark., 1996). Bu tür etkilere bağlı gelişen maligniteler daha çok skuamoz hücreli karsinom şeklinde olmaktadır (Tamir ve Tannenbaum, 1996).

Yapılan çeşitli çalışmalarda pelvise uygulanan radyoterapinin mesane kanseri gelişme riski ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Bu çalışmalarda mesane kanserinin, alınan radyoterapinin dozu ile orantılı olarak 5-10 yıl sonra gelişme eğiliminde olduğu ve tümörün genellikle yüksek evre gösterdiği ortaya konmuştur (Kaldor ve ark., 1995; Neugut ve ark., 1997). Ayrıca radyoterapinin mesane kanserleri insidansını yaklaşık 1.5-4 kat artırdığı gösterilmiştir. Yüksek doz radyoterapinin kemoterapi ile birlikte verilmesi bu riski artırmaktadır. Mesane kanseri gelişiminde, myeloproliferatif ve lenfoproliferatif malignitelerde kullanılan ve bir alkilleyici ajan olan siklofosfamid alımının, 9 kat risk artışına neden olduğu gösterilmiştir (Tuttle ve ark., 1988). Bu risk artışı, alınan toplam siklofosfamid dozu ile ilişkili bulunmuştur (Travis ve ark., 1995).

Ailesel mesane kanserleri, tüm mesane kanserlerinin çok az bir kısmını oluşturmaktadır. Ailesel mesane kanserlerinin daha çok genç insanlarda görülmesi, kanser gelişimindeki genetik komponentin varlığını desteklemektedir (Kiemeny ve Schoenberg, 1996). Ancak bu konuda tutarlı sonuçlar yoktur; nitekim yapılan bazı çalışmalarda pozitif aile hikayesi olanlarda mesane kanseri riskinin 1.5-2 kez arttığı gösterilirken (Kramer ve ark., 1991; Goldgar ve ark., 1994), diğer bazı çalışmalarda mesane kanseri riski, ikinci derece akrabalarda, birinci derece akrabalarından daha fazla bulunmuştur (Kiemeny ve ark., 1997).

### **2.3. MK Moleküler Biyolojisi ve Patogenezi:**

Kanser genel olarak genetik bir hastalıktır. Kanserinin temelinde, hücre döngüsünde rol oynayan genetik mekanizmalarda meydana gelen değişiklikler yatmaktadır. Söz konusu genetik mekanizmalarda meydana gelen değişikliklerden en önemlisi, genlerin ifadesini değiştiren mutasyonlardır (Hanahan ve Weinberg, 2000). Kanserlerin birçoğunda mutasyonlar somatik hücrelerde meydana gelir ve bu mutasyonlar gamet hücreleri aracılığıyla

gelecek nesillere aktarılmaz. Kanser patogenezi ile ilgili olarak, yalnızca bir somatik hücrede, zaman içerisinde, bir ya da birden fazla genin mutasyona uğraması ve bunu takiben art arda oluşan mutasyonlar sonucunda kontrolsüz hücre çoğalması kavramı oldukça yaygın bir şekilde kabul görmektedir (Nussbaum ve ark., 2005).

Son yıllarda kanserle ilgili yapılan yoğun araştırmalar, hücre çoğalması ve apoptozisi kontrol eden genlerin mutasyonlarının da kanserden sorumlu olduğunu göstermiştir (Knowles, 1999; Jung, 2000; Quek ve ark., 2003). Kanser hücrelerinin genelde iki önemli özelliği vardır. Bunlar kontrolsüz çoğalma ve metastaz yapabilme yeteneğidir. Bu nedenle kanser ile ilgili çalışmalarda özellikle hücre döngüsünün genetik kontrolü ve metastaz genetiği ile ilgili konular araştırılmaktadır. Hücre döngüsünün G1, S, G2 ve mitoz bölünme safhaları sırasında meydana gelen olaylar kanser biyolojisi ile yakından ilgilidir. Bu konuda değişik organizmalarda yapılan çalışmalar sonrasında, her ne kadar mekanizmalar tam olarak aydınlatılamasa da, ortak bazı sonuçlara ulaşılmıştır. Buna göre, hücre döngüsü üç farklı noktada kontrol edilmektedir. Bu üç farklı kontrol noktasının ayrı ayrı olmak üzere; G1/S, G2/M ve M içerisinde yer aldığı düşünülmektedir. Tüm bu kontrol noktalarında döngünün ilerlemesine veya durmasına karar verilmektedir. Sözü edilen bu yollarda özellikle iki sınıf protein rol oynamaktadır. Bunlar protein kinazlar ve siklinlerdir. Örneğin; CDK (cyclin-dependent kinase) 1/siklin B kompleksi; G2'den M'ye geçiş sırasında, kromatinin kromozomları oluşturmak üzere yoğunlaşmasını, çekirdek zarının parçalanmasını ve hücre iskeletinin yeniden yapılandırılmasını sağlar. G1'den S'ye geçiş sırasında ise CDK1 ile birlikte siklin C, D ve E rol oynamaktadır (Klug ve Cummings, 2000).

Hücre döngüsü ile ilişkili olarak kanser gelişiminde rol oynayan genler başlıca iki gruba ayrılmaktadır: protoonkogenler ve tümör baskılayıcı genler. Birinci grupta bulunan protoonkogenler çoğunlukla normal hücrelerde de bulunan, hücre siklusu ve proliferasyonu ile ilgili normal hücreyel olaylardan sorumlu olan genlerdir. Protoonkogenler, gen amplifikasyonu, kromozomal translokasyon ve nokta mutasyonu gibi çeşitli mutasyonlara bağlı olarak anormal yapıdaki onkogenlere dönüşürler (Hanahan ve Weinberg, 2000). Onkogenler aşırı ifade edilmesi veya mutant onkoproteinlerin üretimi yolu ile kanser gelişimi ve ilerlemesine yol açarlar. Onkogenler hücreyel seviyede dominant etkiye sahip genlerdir; yani aktive edildiklerinde veya ifade seviyeleri arttığında tek bir mutant allel bir hücreyi normalden malign fenotipe dönüştürebilir. Ancak neoplastik transformasyonun

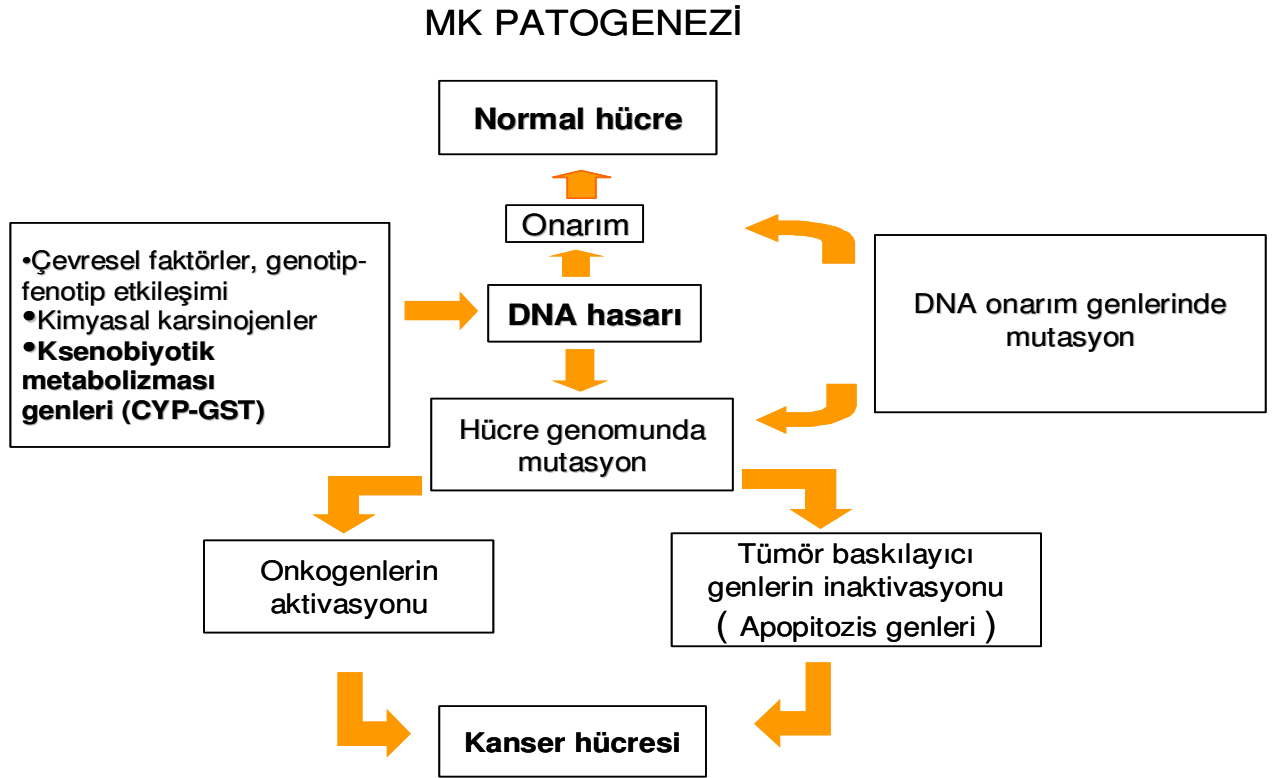
ortaya çıkması için genellikle çok sayıda onkogenin ifade edilmesi gereklidir (Klug ve Cummings, 2000).

Mesane kanseri ile ilişkili en iyi bilinen onkogenler *H-ras*, *erb-B2* ve *c-myc*'dir. Onkogenlerle ilgili yapılan çalışmalarda 1, 3, 6, 8, 10, 12 ve 20. kromozomlarda da mesane kanseri ile ilişkili onkogenler olabileceği gösterilmiştir (Knowles, 1999).

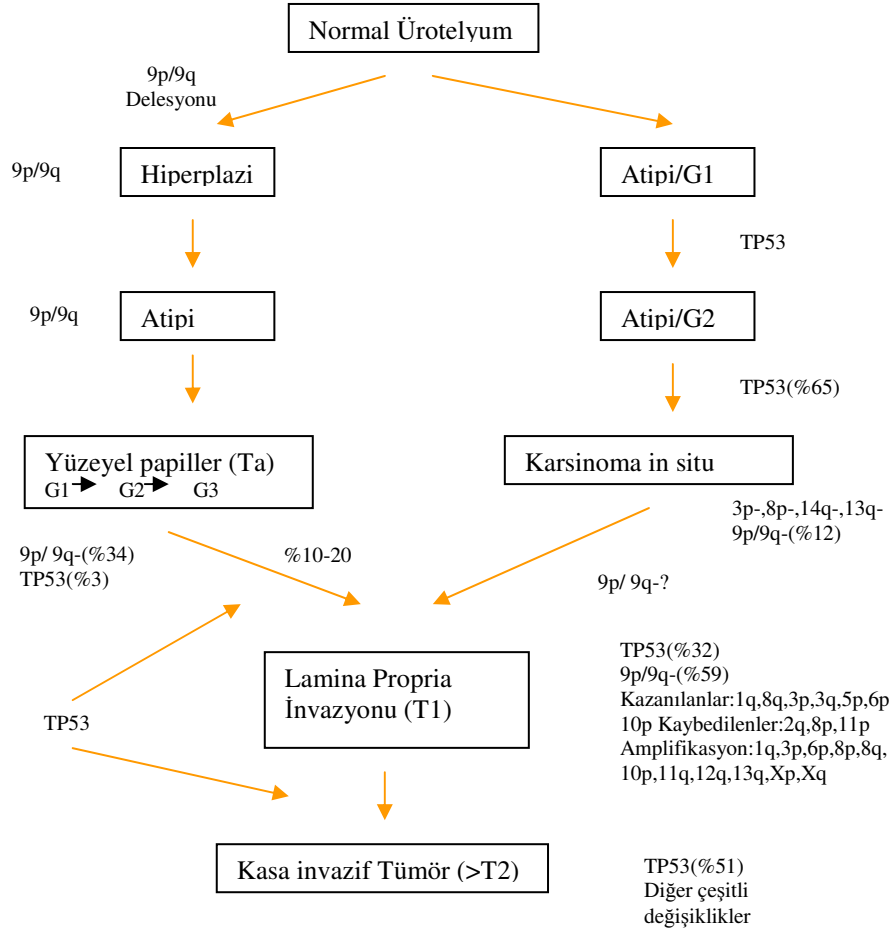
İkinci grupta bulunan tümör baskılayıcı genler ise onkogenlerin tersine hücre çoğalmasını inhibe edici özellikte olan genlerdir. Bu genler kanser gelişimine etkileri bakımından resesif özelliktedirler. Yani tümör baskılayıcı genlerin kanser gelişiminde etkili olabilmeleri için her iki allelinin birden mutasyonlar sonucu fonksiyonunu yitirmesi gerekir (çift vuruş hipotezi) (Knudson, 1971). Tümör baskılayıcı genler son derece heterojendirler; hücre büyümesini doğrudan düzenleyebilecekleri gibi DNA hasarını tamirde ve genomik bütünlüğü sağlamada rol alarak dolaylı yoldan da etkili olabilirler. Ayrıca, apoptozisi bloke eden genler de tümör baskılayıcı genler arasında sayılmaktadır. Sıklıkla kromozom delesyonları, nokta mutasyonları ve insersiyonlar sonucu bu genlerin fonksiyonlarının bozulmasına bağlı olarak hücre proliferasyonunun kontrolü ortadan kalkarak karsinogenez için uygun koşullar ortaya çıkmaktadır (Quek ve ark., 2003).

Polimorfik belirteçler kullanılarak yapılan heterozigote kaybı analizi ve karşılaştırmalı genomik hibridizasyon yöntemi ile yapılan çalışmalar; birçok mesane kanserinde spesifik allelik delesyonlar olduğunu ortaya koymuştur ki bunlar normal dokuların DNA'sında gösterilememiştir (Cairns ve ark., 1993). Belirli bazı genlerin özgül bölgelerdeki delesyon ya da inaktivasyonlar kanser gelişimine neden olabilmektedir. Birçok değişik kanserlerde benzer delesyonlu bölgeler sıklıkla gözlenir ve bunlar malign değişim ve hastalığın ilerlemesinde temel role sahiptir. Genellikle bu tip genler hücre bölünmesini, programlı hücre ölümünü veya genetik mutasyonların yayılmasını önleyen ya da düzenleyen proteinleri kodlamaktadır. Kromozom 13q'daki retinoblastoma geni (*Rb*) ve kromozom 17p'deki *p53* geni en iyi çalışılmış tümör baskılayıcı genlerdir. Mesane kanserinin başlangıcında ve ilerlemesinde de bu genlerin önemli rol oynadıkları gösterilmiştir. Mesane kanseri ile ilgili yapılan çalışmalarda özellikle kromozom 9'da delesyon bulunması bu kromozom üzerinde daha başka tümör baskılayıcı genlerin olduğu şüphesi olduğunu düşündürmektedir (Louhelainen ve ark, 2000). Mesane kanserli hastalarda tümör baskılayıcı genlerle ilgili yapılan çalışmalarda ayrıca; 3, 4, 8, 11 ve 14. kromozomlarda da tümör baskılayıcı genlerin olabileceği

gösterilmiştir (Knowles, 1999). Mesane kanserinin patogenezi Şekil 1’de özetlenmiştir. Mesane kanserinin ilerlemesinde yer alan histopatolojik değişimler ve moleküler bilgiler Şekil 2’de verilmiştir.



**Şekil 1.** Mesane kanseri patogenezi.



**Şekil 2.** Mesane kanserinde ortaya çıkan histopatolojik-genetik değişiklikler (Spruck ve ark., 1994; Knowles, 1999).

### 2.3.1. Onkogenler:

#### 2.3.1.1. *ErbB* (Epidermal growth factor receptor B)

*ErbB* gen ailesi, tirozin kinaz reseptörleri süper ailesine ait olan transmembran reseptör proteinleri kodlar. Bunlar normal hücrelerin çoğalmasında ve farklılaşmasında önemli rol oynarlar. *ErbB* reseptör gen ailesinin dört tane üyesi vardır: *ErbB1* (*EGFR*: epidermal growth factor receptor), *ErbB2* (*HER2*:human epidermal growth factor receptor), *ErbB3* ve *ErbB4* (Amsellem-Ouazana ve ark., 2006). Mesane kanserinin başlangıç ve ilerlemesinde *ErbB* sinyal regülasyonundaki değişikliklerin reseptörün



kendisiyle ve/veya onun ligandıyla ilgili olabileceği yönünde şüpheler vardır (Thogersen ve ark., 2001). Mesane tümörlü hastalarda yapılan çalışmalarda *ErbB2*'nin aşırı ifade edilmesi ile tümör derece ve evresi (grade-stage) arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (Gorgoulis ve ark., 1995; Moriyama ve ark., 1991; Coombs ve ark., 1991). Ancak bu sonuç diğer bazı çalışmalarda doğrulanamamıştır (Lipponen ve Eskelinen, 1994; Mellon ve ark., 1996). Sistoskopik olarak normal ürotelyumlu kişilerde EGFR'nin anormal seviyede ifade edilmesinin, EGFR'nin mesane kanseri tümörögenезisinin erken belirleyicisi olabileceğini düşündürmektedir (Rao ve ark., 1993; Theodorescu ve ark., 1998). Bu konuda tartışmalı sonuçlar alınmış olsa da *ErbB* reseptörleri malign transformasyonda önemli rol oynamakta ve mesane kanserinde tespit edilmesi prognostik açıdan değer taşımaktadır (Habuchi ve ark., 2005).

Büyüme faktörü reseptörlerinin anormal ekspresyonları ve anormal fonksiyonları malign hücrelerin proliferatif kapasitesini arttırabilir. EGF'nin biyolojik olarak aktif formu, insan idrarında yüksek konsantrasyonda bulunan potent bir mitojendir (Hirata ve Orth, 1979). Yapılan çalışmalarda EGF, mesane kanserli hastaların idrarında düşük konsantrasyonda bulunmuş ve bu durumun; mesane kanserli hastaların ürotelyumunda ligant bağlayan EGFR'lerdeki artmaya karşı refleks olarak gelişmiş olabileceği değerlendirilmiştir (Messing ve Murphy, 1994).

Ayrıca EGFR'lere bağlanan ligantlar yalnızca mitojeniteyi uyarmakla kalmaz aynı zamanda hücrel motiliteyi ve EGFR'lerin stimülasyonunu da uyararak transepitelyal motiliteyi ve tümör invazyonunu da sağlamaktadırlar (Messing, 1990).

### **2.3.1.2. *H-ras* (Human retrovirus-associated DNA sequences)**

*H-ras* geni, hücre zarının sitoplazmik kısmına yapışan ve sinyal aktarımında görev alan bir proteini kodlamaktadır. Mesane kanserli hastalarda yapılan çalışmalarda, bu genin kanser gelişiminde önemli rol oynadığı ve *H-ras* mutasyonlarının mesane kanserlerinin %36'sında bulunduğu gösterilmiştir (Czerniak ve ark., 1990). Mutasyonların büyük kısmı 12. kodondaki nokta mutasyonları (G→A) olmakla birlikte, 13. kodonda (G→T) ve 61. kodonda (A→T) da çeşitli nokta mutasyonları bulunmuştur (Kroft ve Oyasu, 1994; Nagata ve ark., 1990). Bu konuda yapılan çalışmaların bir kısmında yüzeysel mesane kanserlerinde *H-ras*'in aşırı ifade edilmesi ve hastalığın erken tekrarlama arasında ilişki olduğu gösterilirken (Fontana ve ark., 1996), bazı

çalışmalarda bu ilişki gösterilememiştir (Bittard ve ark., 1996; Olderooy ve ark., 1998). Ancak H-ras aktivitesi mesane kanserinin takibinde kullanılan, hastalığın ilerlemesini gösteren belirteçlerden birisidir (Habuchi ve ark., 2005).

### 2.3.1.3. *c-myc* (Cellular-myelocytomatosis)

*myc* gen ailesi, DNA'ya bağlanma aktivitesi gösteren ve hücrel proliferasyonun düzenlenmesinde önemli rol oynayan çeşitli çekirdek fosfoproteinleri kodlar. *C-myc* gen ailesinde, kromozomal translokasyon ve gen amplifikasyonu nedeniyle oluşan mutasyonlar, hücre çoğalmasındaki kontrolün bozulmasına neden olmaktadır (Watt ve ark., 1985). *C-myc* aktivitesi; Max (myc-associated factor X) ve Mad (max dimerization protein) adlı diğer bazı proteinlerle birleşerek heterodimerik bir kompleks oluşması ile sağlanır (Amati ve Land, 1994; Vastrik ve ark., 1995; Hurlin ve ark., 1995). *C-myc*'nin aşırı ifade edilmesi, yapılan çalışmaların bir kısmında mesane kanserini de içeren bir çok kanserle ilişkili bulunurken (Kotake ve ark., 1990; Berns ve ark., 1992); bir kısmında da ilişkisiz bulunmuştur (Lipponen, 1995). Mesane kanserinde *c-myc* gen ailesi ile ilgili veriler tartışmalı olsa da prognostik belirteç olarak kullanılmaktadır (Habuchi ve ark., 2005).

## 2.3.2. Tümör Baskılayıcı Genler

### 2.3.2.1. *Rb* (Retinoblastoma Geni)

*Rb* geni kromozom 13q14'de lokalizedir ve nükleer bir fosfoprotein olan pRb'yi kodlar. pRb'nin regülasyonu, hücre döngüsünün G1/S kısmında önemli bir kontrol noktası oluşturur (Bookstein ve ark., 1988; Mihara ve ark., 1989). Defosforile haldeki pRb'nin, hücre döngüsündeki fonksiyonu, bir transkripsiyon faktörü olan E2F adlı proteine bağlanarak hücre döngüsünü durdurmaktadır. pRb, siklin/CDK kompleksi tarafından fosforile edildiğinde E2F-1 salınarak timidin sentetaz gibi genlerin transkripsiyonunu sağlar. Böylece hücre döngüsünde DNA sentez fazını (S) yürütecek olan ürünler üretilir. pRb proteininin *Rb* geninin mutasyonu ya da delesyonları nedeniyle azalması, pRb'nin ifade yokluğu olarak tanımlanır. *Rb* lokusundaki heterozigotluk kaybı ile pRb'nin ifadesinin olmaması arasında kuvvetli bir ilişkili vardır. Mesane kanserlerinin yaklaşık olarak %30'unda *Rb* geni mutasyonları

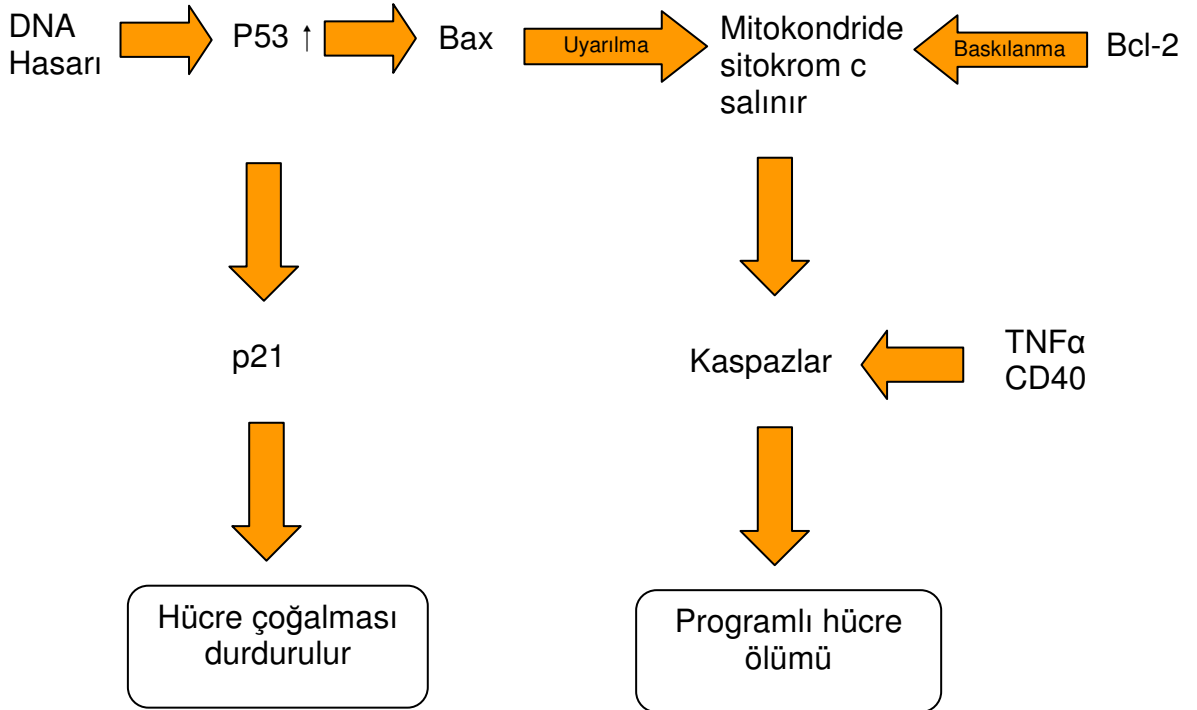
görülmüştür (Cordon ve ark., 1992). Özellikle kasa invaze tümörlerde pRb'nin immünohistokimyasal olarak tespit edilememesi tümör derece ve evresinin artmasıyla ilişkili bulunmuştur (Grossman ve ark., 1998; Cote ve ark., 1998).

### 2.3.2.2. *p53*

*p53* geni kromozom 17p13'te lokalizedir ve hücre döngüsünün durdurulmasında hayati önemi olan bir protein kodlamaktadır (Agarwal ve ark., 1998). *p53* geni tarafından kodlanan ve bir transkripsiyon faktörü olan p53 proteini, DNA onarımında ve apoptoziste önemli bir role sahiptir. Genomu zarar görmüş hücrelerin hayatta kalmalarının uzaması ve apoptozise direnç gelişmesi; tümör dokusunun genişlemesine ve hücre proliferasyonunun artmasına neden olan kanserin altın kriterlerinden birisidir (Bryan ve ark., 2005a). Apoptotik yolak DNA hasarına cevap olarak aktive edilir ve onkogen aktivasyonu ile hipoksi gibi faktörler bu dengeyi bozar (Hanahan ve Weinberg, 2000). P53 apoptozisi ve DNA onarımını uyarır bu nedenle genomun gardiyanı olarak tanımlanır (Kelly ve ark., 1999; Lane, 1992). DNA hasarından sonra *p53* proteini seviyesi artarak p21'in transkripsiyonel aktivasyonunun artmasına neden olur. Böylece hücre döngüsü durdurulur. Sonuçta preapoptotik sinyal mitokondride sitokrom c'nin salınmasına neden olur ve böylece apoptozisi yöneten kaspazların aktivasyonu sağlanır (Green ve Reed, 1998). Bcl-2 (B-cell CLL/lymphoma 2) protein ailesi, sitokrom c ve kaspazların salınımını kontrol ederek apoptozisin regülasyonunu sağlar. Bax (Bcl2 associated protein X), Bak (Bcl2 homologous antagonist/killer), Bid (Bcl2 interacting domain death agonist) ve Bim (Bcl2 interacting mediator of cell death) proapoptotik proteinlerdir. Bcl-2, Bcl-XL ve Bcl-W ise antiapoptotik proteinlerdir (Bryan ve ark., 2005a). Şekil 3'te apoptoz yolağı ve komponentleri gösterilmektedir. Mutant p53 proteinin yarılanma ömrü yabancıl tip p53 proteininden daha uzun olduğundan, mutant p53 proteini immünohistokimyasal olarak kolaylıkla tanımlanabilir. Kasa invaze transizyonel hücreli karsinomların yaklaşık olarak %50'sinde *p53*'ün çekirdekte aşırı ifade edilmesine bağlı oluşan mutant proteinin varlığı gösterilmiştir. Mutant proteinin varlığı tümör dokusunun derecesinin ve klinik evresinin artması ile ilişkili bulunmuştur (Habuchi ve ark., 1992). Yüzeysel hastalıkta mutant *p53*'ün ifade edilmesi daha azdır ve p53 proteini seviyelerindeki değişiklikler, hastalığın prognozu ve

sağ kalımın tahmin edilmesi ile ilişkili bulunmuştur (Esrig ve ark., 1994; Sarkis ve ark., 1993; Lacombe ve ark., 1996).

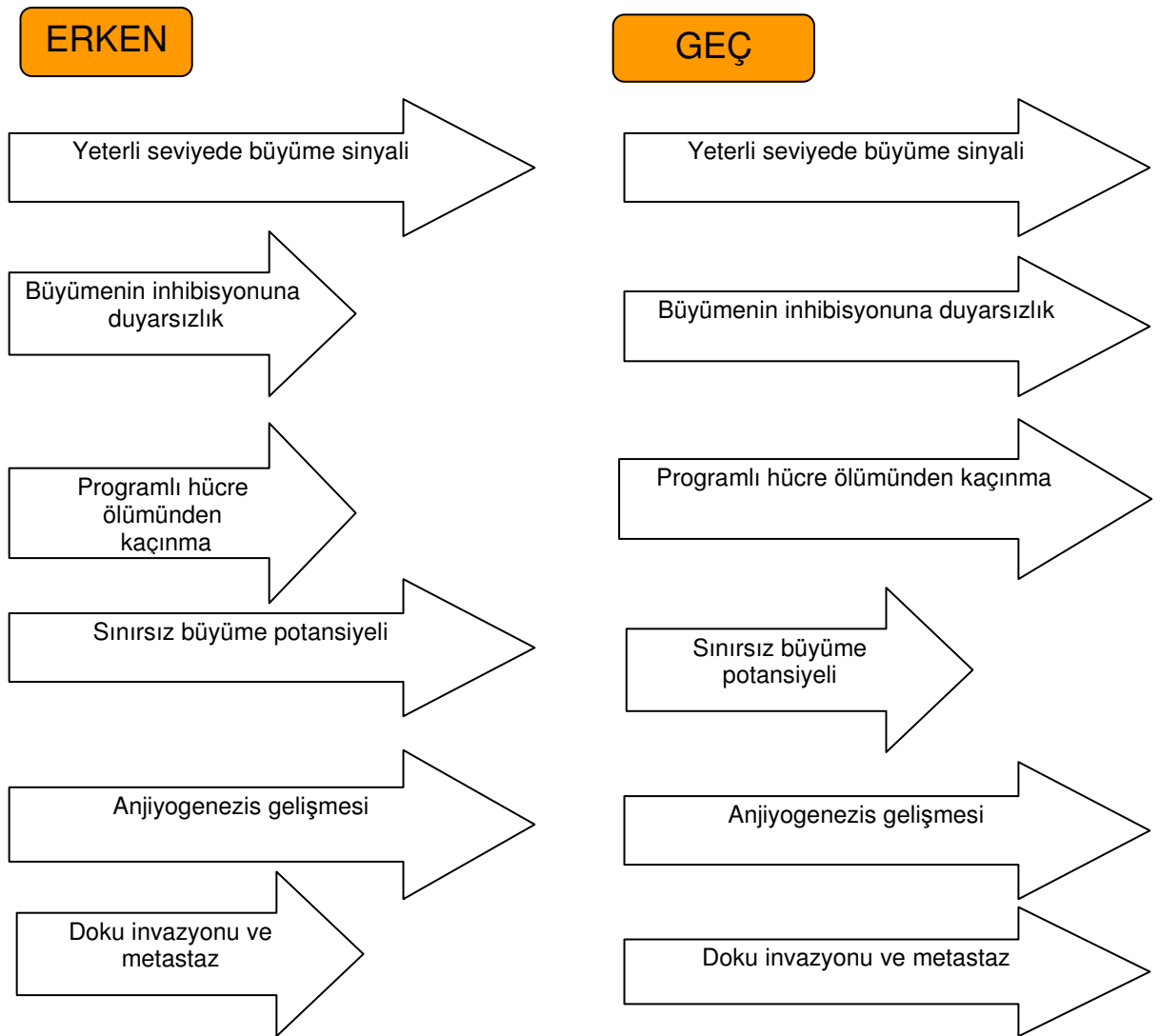
Mesane kanserinin tekrarlamasında ve ilerlemesinde *p53*'ün yanında *p21* de önemli rol oynamaktadır (Cordon, 1995; Agarwal ve ark., 1998). *p53*, hücre döngüsünü, *p21*'in ifade edilmesini düzenlemek yoluyla da etkilemektedir. *P53* değişiklikleri, *p21* ifadesinin azalmasına ve sonuçta hücre bölünmesinin düzenlenme mekanizmasının bozulmasına neden olmaktadır (Parker ve ark., 1995; Stein ve ark., 1998). Bu konuda çalışma yapan araştırmacıların bir kısmı *p21*'in ekspresyonunun azalmasını, hastalığın tekrarlama hızında artışla ve hayatta kalımın azalması ile ilişkili bulurken (Stein ve ark., 1998) diğer bazıları, bu konuda yeterince açıklık olmadığını belirtmişlerdir (Lipponen ve ark., 1998; Liukkonen ve ark., 2000).



**Şekil 3.** Apoptozis yolağı ve bileşenleri (Bryan ve ark., 2005a).

### 2.3.3. Kanserin İlerlemesi

Mesane kanserinin ilerlemesi ve malign fenotip gelişmesi sırasında, hücreler normal hücrelerde olmayan belirli bazı özellikler daha kazanırlar. Bunlar, hücre hareketlilik, anjiyogenezis gelişmesi, invazyon ve metastazdır. Malign fenotip göstergesi kriterlerin karsinogenezisin hangi evrelerinde ne seviyede ortaya çıktığı Şekil 4'te özetlenmiştir. Bu özellikler, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve çeşitli hücre adezyon moleküllerinin ifade seviyesinin artması ya da azalmasıyla ve anjiyogenik faktörlerin aşırı üretilmesiyle kazanılmaktadır (Bryan ve ark., 2005b).



**Şekil 4.** Tümör gelişiminde rol oynayan belirli mekanizmaların ortaya çıkma zamanları (Bryan ve ark., 2005b).

### 2.3.3.1. Anjiyogenez gelişimi

Tümör büyümesi ve metastaz “neovaskülarizasyon” veya “anjiyogenez” olarak da ifade edilebilen “yeni damar oluşumu”nu gerektirmektedir. Tümör dokusunun hızlı klonal genişlemesi ve makroskopik olarak büyümesi tümörün anjiyogenez ve neovaskülarizasyon yeteneğine bağlıdır. Anjiyogenezin gelişimi anjiyogenezi uyaran ve engelleyen faktörlerin arasındaki dengeye bağlıdır (Hanahan ve Weinberg, 2000; Streeter ve Haris, 2002). Anjiyogenezi uyaran faktörler arasında VEGF, asidik fibroblast büyüme faktörü (FGF1) ve temel fibroblast büyüme faktörü (FGF2) vardır (Veikkola ve Alitalo, 1999). Yine yapılan bir çalışmada yüksek VEGF serum seviyelerinin; yüksek tümör derece ve evresi ile, vasküler invazyonla, karsinoma insitu, metastaz ve kötü sağ kalımla önemli derecede ilişkili olduğu gösterilmiştir (Bernardini ve ark., 2001). Aynı şekilde trombospondin-1 seviyesindeki düşmelerin hastalığın artan tekrarlama hızıyla, sağ kalım süresinin kısalmasıyla ve p53’ün ifadesinin azalmasıyla ilişkili bulunmuştur (Bochner ve ark., 1995).

Ayrıca diğer anjiyogenik faktörler olan Otokrin Hareketlilik Faktörü (Autocrine motility factor: AMF) (Guirguis ve ark., 1998), AMF reseptörü (Korman ve ark., 1996), siklooksijenaz-2 (COX-2), hyalüronik asit ve bunların parçalanma ürünlerinin (Lockeshwar ve ark., 1997) üriner salınımı mesane kanserli hastalarda artmaktadır. Bu nedenle sözü edilen bu faktörlerin tespit edilmesinin, tümörün takibinde önemli olacağını düşündürmektedir. Aynı zamanda, bekleneceği gibi, anjiyogenezin potent inhibitörü olan Trombospondin-1’in mesane kanserli hastalarda düşük olduğu görülmüştür. Trombospondin-1 aynı zamanda p53 proteini tarafından pozitif olarak düzenlenir ve normal p53 fonksiyonunun kaybı anjiyogenezin inhibisyonunun ortadan kalkmasına neden olur. Bu konuda yapılan bir çalışmada mesane kanserinde, anjiyogenezin normal ürotelyuma göre daha fazla uyarıldığı, mikrodamar yoğunluğunun arttığı ve bu durumun hastalığın ilerlemesiyle ilgili önemli bir belirleyici olduğu gösterilmiştir (Chaudhary ve ark., 1999). Yapılan bir çalışmada trombospondin-1’in mesane kanserli hastaların mesanesinde düşük bulunması hastalığın yüksek tekrarlama hızı ve kısa hayatta kalma süresi ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Grossfeld ve ark., 1997).

Hipoksi ilişkili protein olan karbonik anhidraz IX (carbonic anhydrase : CA IX) doku pH’sını düzenler ve mesane kanserinde hipoksi belirteci olarak kullanılır. CA

IX'un ifadesi, mesane kanserinde VEGF'nin ifadesi ile ilişkilidir ve Ta/T1 tümörlerde kasa invaze tümörlerden önemli derecede daha fazladır. Ancak yine de CA IX'un önemli bir prognostik değeri yoktur (Turner ve ark., 2002; Hussain ve ark., 2004).

### **2.3.3.2. Hücre dışı matriks ve hücre adezyon molekülleri**

Hücre dışı matriks ve hücre adezyon molekülleri, dokularda normalde var olan ve tümör hücrelerinin metastazını önleyen bir çeşit doğal bariyer olarak tanımlanabilir. Hücre adezyon molekülleri ve diğer hücre dışı matriks komponentleri, ürotelyal hücreler ile bazal laminayı birbirine bağladığından, buradaki anormallikler hücrel kümelenmeye ve lokal motilitede değişikliklere neden olabilir. Ayrıca hücreler arası haberleşmede yer alan birçok molekül, hücre döngüsünün düzenlenmesinde rol oynayan büyüme faktörü reseptörlerinin ifade edilmesini ve işlevlerini etkileyerek ürotelyal karsinogeneziste önemli bir yer tutmaktadır (Jung, 2000). Matriks metalloproteinler (MMP)'in, hücre dışı matriksin ve bazal membranın proteolitik olarak parçalanmasını sağlayan ve insan tümörlerinde genellikle fazla ifade edilen bir protein ailesidir. Yapılan çeşitli çalışmalarda mesane kanserlerinde MMP-2 ve MMP-9 ifadesinin, tümörün artan derece ve evresiyle birlikte arttığı gösterilmiştir (Kanayama, 2001; Vihinen ve Kahari, 2002). CD44, ras aracılığıyla hyalüronik asit cevabı oluşturarak sinyal iletiminde ve hücre-hücre, hücre-matriks etkileşiminde rol oynayan ve hücre yüzeyinde yaygın olarak ifade edilen bir adezyon molekülüdür (Naot ve ark., 1997). CD44 ifadesi yüzeysel mesane kanserlerinde yüksek olmasına rağmen tümör kasa invaze olduğunda CD44 seviyesinin düştüğü görülmüş ve bunun sprints varyasyonuna bağlı olduğu değerlendirilmiştir (Takada ve ark., 1996). Son verilere göre CD44v6-10 (sprints varyantları)'un standart CD44'e oranının, ürotelyal kanserlerde, açık olarak tümör progresyonu ile ilişkili olduğu görülmüştür (Matsumura ve ark., 1995; Takada ve ark., 1996; Miyake ve ark., 2002).

Kaderinler transmembran glikoprotein ailesidir ve kalsiyuma bağımlı hücre adezyonunda görev yaparlar. Kaderinler epitel dokuda hücre-hücre adezyonunda önemli rol oynamaktadır. Kaderinler hücreler arası bağlantı ve desmozomların her ikisinin de yapısında yer alır (Takeichi, 1991). Hücreler arasındaki birleşme hücre dışında yer alan E, P ve N kaderinler arasında gerçekleştirilir (Shapiro ve ark., 1995). E-kaderin bir tümör baskılayıcıdır ve genel olarak epitelyal tümörlerde ifadesi azalmaktadır. E-

kaderinin ifadesinin gerilemesi, mesane kanserli hastaların tamamında; yaşam süresinin kısalması, tümörün tekrarlama riskinin artması ve invazyon yeteneğinin artması ile ilişkili bulunmuştur (Popov ve ark., 2000; Byrne ve ark., 2001). Bazı mesane kanserli hastalarda, E-kaderin genindeki mutasyon ve hipermetilasyona bağlı olarak E-kaderin ekspresyonunun azaldığı görülmüştür (Ribeiro-Filho ve ark., 2002). Hücre iskeletinde kaderinlere yapışan; alfa, beta ve gama kaderinler adlı protein moleküllerinin kaybı da tümörün evre ve derecesinin artması ile ilişkili bulunmuştur (Shimazui ve ark., 1996).

İntegrinler, heterodimerik transmembran bir protein ailesidir ve reseptör fonksiyonu görürler. İntegrinler de tıpkı laminin, fibronektin ve kollajen gibi ekstrasellüler matriks komponentleridir (Jung, 2000). Alfa-6 beta-4 integrin, normalde ürotelyumun alt membranında yer alır ve hücre göçünde etkili bir bariyer oluşturan hemidesmozomal yapışma kompleksindeki kollojen VII ile ilişkilidir. Mesane tümörü hücrelerinde kollajen VII ile alfa-6 beta-4 integrin ilişkisinin kaybolması belki de kanser dokusunda görülen ürotelyal bariyer fonksiyonun kaybolmasını açıklamaktadır (Liebert ve ark., 1994).

#### **2.3.4. Kromozom 9 Değişiklikleri**

Kromozom 9 delesyonları, mesane kanserlerinin tüm derece ve klinik evrelendirmelerinde %60'tan fazla oranda görülmektedir. Kromozom 9 aberasyonları, yapılan moleküler ve sitogenetik çalışmalara göre hastalığın başlangıcında da vardır ve hastalığın erken yaşta görülmesi ile ilişkilidir (Tsai ve ark., 1990).

Yalnız başına kromozom 9 delesyonları, hastalığın ilerlemesi ile nadiren; fakat tekrarlama ile sıklıkla ilişkilidir. Mesane kanserli hastalarda yapılan çalışmalarda kromozom 9'un uzun kolunda, en azından bir bölgenin delesyonlu olduğunun bulunması, bu bölgede başka tümör baskılayıcı genler olabileceğini düşündürmektedir (Jung, 2000). Çeşitli kanserlerde kromozom 9p21 bölgesinin, mutasyona uğramış olması bir tümör baskılayıcı genin varlığı görüşünü desteklemektedir (Keen ve Knowles, 1994). Eldeki veriler bu kromozom üzerindeki siklin bağımlı kinaz 2 (cyclin dependent kinase 2: CDKN2) ya da p16 lokusuna işaret etmektedir ve bu lokuslarda siklin bağımlı kinaz inhibitör proteinleri kodlanmaktadır (Kamb ve ark., 1994). Bunlar pRb'nin fosforilasyonunu önleyerek pRb'nin aktif kalmasını ve hücre döngüsünün G1 fazından çıkışını bloke etmektedir. pRb fosforilasyonu ile birlikte p16'nın fonksiyon kaybı



hücrenin S fazına geçmesini sağlayarak hücre büyümesindeki düzenlenmenin bozulması ile sonuçlanmaktadır. Ayrıca mesane kanserli hastalarda 9p21'de yer alan INK4A (inhibitör kinaz 4A)/ARF (alternate reading frame) ve INK4B lokuslarında da delesyon olduğu gösterilmiştir. Bu kompleks genomik bölge hücre döngüsünün negatif kontrolünde görev yapan p16, p14 ARF ve p15 adlı üç farklı proteini kodlamaktadır (Gonzalzo ve ark., 1998; Quelle ve ark., 1995; Cairns ve ark., 1994; Devlin ve ark., 1994).

### **2.3.5. Mikrosatellit Kararsızlığı**

Mikrosatellit kararsızlığı, genom içerisinde normalde var olan farklı sayılardaki küçük tekrarlayan nükleotit dizilerinin sayılarındaki anormal değişikliklere denir. Mikrosatellit dizilerindeki bireyden bireye olan değişiklikler, kalıtımla sonraki nesillere aktarılabilir ve bireyin tüm hücrelerinde tanımlanabilir. Mesane kanserinin de dahil olduğu birçok kanser tipinde genom içerisinde yer alan 1-4 baz uzunluğundaki nükleotit tekrar dizilerinin sayıları genellikle artmıştır. Kanser hücrelerinde birçok dizide sıklıkla var olan mikrosatellit değişiklikleri DNA replikasyon hatalarına neden olmaktadır. Mikrosatellit kararsızlığının neden olduğu DNA replikasyon hatalarının, ekzonların içinde olması halinde, tümör baskılayıcı genlerde ve onkogenlerde meydana gelen değişiklikler nedeniyle tümör gelişiminde ve ilerlemesinde etkili olduğu düşünülmektedir (Jung, 2000).

Mikrosatellit kararsızlığının mesane kanserleri ile ilişkisini ortaya koymak amacıyla çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Mao ve arkadaşları mesane kanseri tanısı konan 20 hastanın 19'unda idrar sedimentlerinde mikrosatellit kararsızlığını tanımlamışlardır. Aynı çalışmada 15 hastada yapılan tümör biopsisi sonucunda da mikrosatellit kararsızlığı tespit edilmiştir (Mao ve ark., 1996).

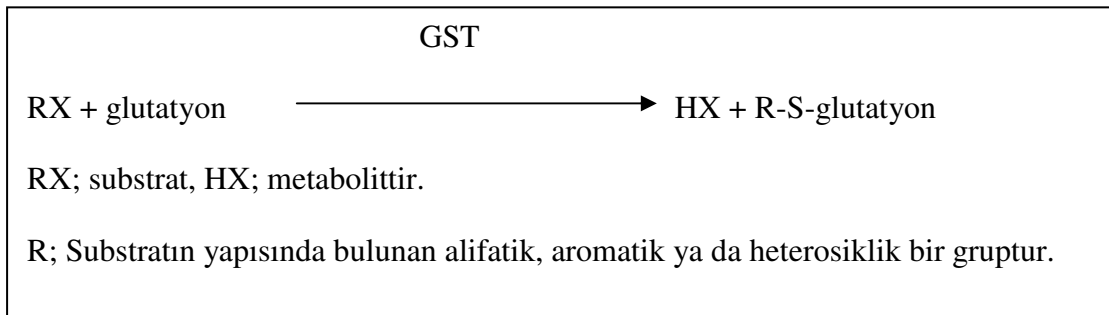
### **2.3.6. Epigenetik faktörler**

Aynı gen ve aynı genom dizisine sahip kişilerin hücrelerinin, farklı yapı ve fonksiyon göstermeleri olarak tanımlanan epigenetik düzenlenmeler, hücrede gen fonksiyonlarının seçici olarak aktif ya da inaktif edilmeleri ile gerçekleştirilir. Epigenetik değişiklikler gen ifadesiyle ilgili kalıtılabilir değişiklikler olarak tanımlanmaktadır. DNA metilasyonunun ve histon asetilasyonunun düzenlenmesi,

kromatin ve kromozomların düzenlenmesi ve transkripsiyonun kontrol edilmesi epigenetik kontrol mekanizmaları olarak kabul edilmektedir. Bu mekanizmaların bileşenleri yeni ortaya çıkarılmıştır. Bunlar, DNA metil transferazlar, metil-CpG bağlayan proteinler, histon modifiye eden enzimler, kromatin modelleyen faktörler, transkripsiyon faktörleri ve onların düzenleyicileri ile çeşitli kromozomal proteinlerdir (Nakao, 2001).

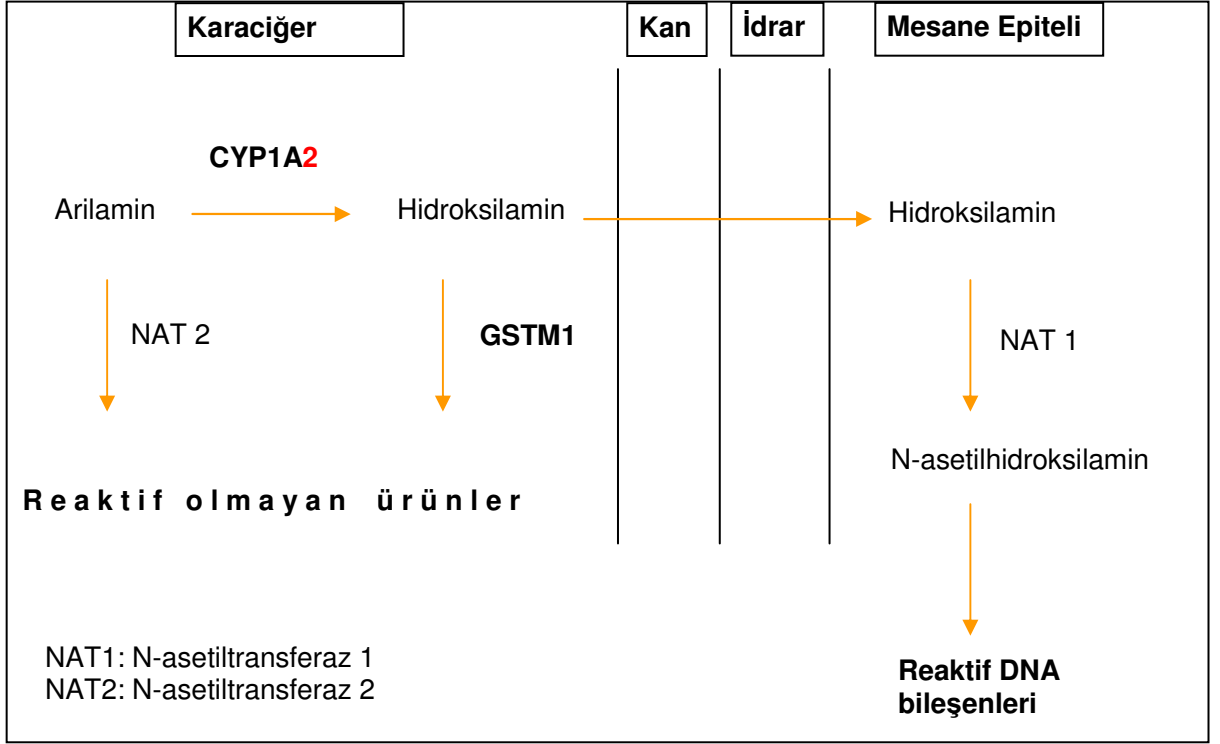
#### 2.4. CYP ve GST Metabolizma Enzimleri, Genleri ve Fenotip-Genotip ilişkisi

Ksenobiyotikler ve ilaçlar vücutta çeşitli enzimatik olaylar sonucu metabolize edilerek biyotransformasyona ve biyoinaktivasyona uğrayarak vücuttan atılırlar. Bu enzimatik olaylar; CYP enzimleri tarafından gerçekleştirilen sıklıkla oksidasyon ve nadiren redüksiyon reaksiyonlarından oluşan faz I reaksiyonları ile genellikle konjugasyon reaksiyonlarından oluşan faz II reaksiyonlarıdır. Genellikle karaciğerde meydana gelen oksidasyon reaksiyonları sonucu toksik ya da karsinojen daha polar moleküller meydana gelir (Antona ve Sundberg, 2006). Epoksit bu reaksiyonlar sonucu oluşan ara metabolitlerin en önemlilerinden birisidir ve karsinojendir. Epoksidin en önemli fizikokimyasal özelliği lipofilik ve elektrofilik olmasıdır. Oluşan epoksid normalde dokularda yer alan nükleofilik endojen bileşiklerle (glutatyon gibi) konjüge edilerek inaktif duruma getirilir. Oluşan glutatyon konjüгатları; glutatyonun (glutatyon, glisin-sistein-glutamat'tan oluşan bir tripeptittir) peptit bağlarının hidrolizi ile glutatyon molekülünden glisin ve glutamik asitin kopması sonucu sistein konjüгатı haline geçer. Epoksidlerin glutatyonla birleşmesi glutatyon s-transferazlar tarafından katalizlenir ve oluşan konjüгат böbreklerden atılır. Glutatyon s-transferaz enzimleri tarafından katalizlenen reaksiyon aşağıda şematize edilmiştir.



Glutasyon molekülündeki sülfidril grubu güçlü nükleofilik özelliktedir ve bazı toksik bileşiklerin elektrofilik merkezlerine bağlanarak enzim aracılığı olmaksızın da onları nötralize edebilir.

Epoksidler DNA, RNA ve çeşitli enzimlerle kovalent bağ yaparak onları ariller veya alkiller ve böylece DNA hasarı meydana getirebilirler. Faz II reaksiyonları arasında yer alan konjügasyon ise esas itibariyle bir sentez reaksiyonudur. Faz II reaksiyonları genellikle faz I reaksiyonlarını takiben, molekülün değişen kısmı üzerinde olur. Bazı ksenobiyotikler ve ilaçlar sadece faz I reaksiyonu sonrasında vücuttan atılırken ksenobiyotiklerin çoğu peş peşe faz I ve faz II reaksiyonları sonrasında detoksifiye edilirler (Kayaalp, 2005). Mesane tümörü karsinogenezisinde rol oynayan arilaminin metabolizma yolağı Şekil 5'te gösterilmektedir. Arilaminler karaciğerde ifade edilen NAT2 tarafından yapılan N-asetilasyon ile reaktif olmayan ürünlere dönüőür. Arilaminler aynı yolda alternatif olarak CYP1A2 tarafından N-hidroksilasyona uğratılabilirler. Bu şekilde oluşan hidroksilamin mesaneye taşınır ve mesane epitelini tarafından hücre içine alınır. Mesane epitelini içine giren hidroksilamin NAT1 tarafından O-asetilasyona uğratılır. Bunun sonucunda ortaya çıkan N-asetilhidroksilamin son derece reaktif ve bu ürünler DNA'ya bağlanarak mutasyona neden olabilirler. Bu yolda yer alan CYP1A2 aktivitesindeki değişiklikler DNA hasarı ile ilişkili görülmektedir (Jung, 2000).



**Şekil 5.** Mesane tümörü karsinogenezisinde arilamin yolu (Jung, 2000).

Ksenobiyotik metabolizmasında görev yapan faz I metabolizma enzimleri olan CYP'ler karsinojenleri inaktive edebilir ya da bileşenleri aktive ederek sonunda karsinojen hale dönüştürebilir. Faz II konjugasyon enzimleri olan GST'ler ise reaktif kimyasal karsinojenleri detoksifiye ettiklerinden genel olarak koruyucu özelliktedir. Kansere karşı duyarlılığın; genetik faktörler ile çevresel kimyasal karsinojenler arasında etkileşime bağlı olduğu düşünüldüğünden, CYP ve GST enzimlerinin polimorfizmlerinin bu etkileşimde önemli rol oynadığı düşünülmektedir (Srivastava ve ark., 2005; Antona ve Sundberg, 2006).

Ayrıca sitokrom p450 enzimlerinin bir kısmının indüklenebilir enzimler olması nedeniyle etkilerinin ortaya çıkmasında mikrozomal enzim indüksiyonu da önemli rol oynar. Mikrozomal enzim indüksiyonu; mikrozomal bir enzimin, substratı olan bir madde tarafından, çeşitli mekanizmalarla sentezinin artırılması ya da enzimin yıkımının yavaşlatılması sonucu enzimin dokudaki miktarının dolayısıyla etkinliğinin artmasına denir. P450 enzimlerinin bir kısmı çeşitli ilaçlar ve ksenobiyotikler tarafından sıklıkla indüksiyona uğratılırlar. CYP1A2 özellikle sigara, polisiklik aromatik hidrokarbonlar ve fenitoin tarafından indüksiyona uğratılabilirken CYP2D6 indüklenebilir değildir. Olası

indüklenme mekanizmaları; enzime ait genin ifadesinin artırılması, mRNA'nın yıkımının düzenlenmesi, endojen indükleyiciyi yıkan bir mikrozomal oksidazın inhibe edilmesi veya karaciğer ve bağırsakta hücre membranında ilacın taşınmasını sağlayan p-glikoproteininin indüklenmesidir (Kayaalp, 2005).

#### **2.4.1. CYP1A2 ve CYP2D6:**

Sitokrom p450 enzimleri; yağ asitleri, steroidler, ilaçlar ve ksenobiyotiklerin metabolizmasında yer alan faz I reaksiyonlarında önemli rol oynayan bir enzim süper ailesidir. CYP'ler en fazla karaciğerde ifade edilmekle birlikte diğer tüm dokularda da belli oranlarda ifade edilmektedirler. Faz I reaksiyonlarının büyük kısmı oksidasyon reaksiyonlarıdır. CYP metabolizması sırasında oluşan ara ürünler genellikle toksik ve karsinojendir. Fakat bunlar metabolizma sırasında genellikle hemen faz II enzimleri tarafından, başta konjugasyon olmak üzere, çeşitli reaksiyonlarla inaktif polar ürünlere dönüştürülerek böbreklerden atılırlar. Faz II reaksiyonları sırasında daha zararlı ürünlerin oluştuğu istisnalar vardır, fakat bunlar sık değildir. Birçok farklı sitotoksik ilaç CYP enzimleri tarafından inaktive edilerek kanser tedavisinde sitotoksik ve etkin olması sağlanmaktadır. CYP enzimleri, karsinojenlerin ve özellikle antikanser ilaçların biyoaktivasyon ve inaktivasyonunda önemli rol oynadıkları için kanserin etiyolojisinde ve tedavisinin belirlenmesinde önemli yer tutmaktadır (Antona ve Sundberg, 2006).

İnsanda çok sayıda aktif p450 geni ve psödogeni bulunmaktadır ve bunların büyük kısmı polimorfiktir (Antona ve Sundberg, 2006). Ksenobiyotik metabolizmasında rol oynayan CYP enzimlerinin polimorfizmlerinin bir kısmının fonksiyonel sonuçları vardır. En fazla polimorfizm gösteren CYP'ler; *CYP2B6* (48 allel), *CYP2C9* (32 allel), *CYP2D6* (92 allel) ve *CYP3A4* (34 allel). En fazla işlevsel polimorfizm gösterenler ise *CYP2A6*, *CYP2B6*, *CYP2C9*, *CYP2C19* ve *CYP2D6*'dır (Antona ve Sundberg, 2006).

CYP enzimleri kanser oluşumunda ve tedavisinde anahtar rol oynayan enzimlerdir. Ksenobiyotikleri metabolize eden CYP'ler polimorfik olduklarından, spesifik CYP allel varyantları ile çeşitli tiplerdeki kanser riski arasındaki ilişkinin araştırılması önemlidir. CYP'ler ayrıca birçok antikanser ilacın metabolizmasına katıldıklarından kanser tedavisinin takibinde de önemlidirler. Fakat bu konuda henüz tutarlı görüşler yoktur (Antona ve Sundberg, 2006). Bu durum prekarsinojenlerin

aktivasyonunda görev yapan CYP'lerin genellikle fonksiyonel bir polimorfizm göstermemesi ile açıklanabilir.

CYP genlerindeki çeşitli nedenlere bağlı allel farklılıkları; enzimin yokluğuna, enzimin ifadesinin azalmasına, enzimin substrat özgülüğünün değişmesine ya da enzimin ifadesinin artmasına neden olabilir. Temelde allel kompozisyonu, etkilenen bireylerde 4 major fenotipe ayrılabilir: bunlar iki fonksiyonel olmayan gene sahip olan zayıf metabolize ediciler (PM: poor metabolizers); allelerden birinde eksiklik olan ara metabolize ediciler (IM: intermediate metabolizers); genin normal iki kopyasını taşıyan yaygın metabolize ediciler (EM: extensive metabolizers) ve üç ya da daha fazla fonksiyonel gen taşıyan çok hızlı metabolize ediciler (UM: ultrarapid metabolizers)'dir (Antona ve Sundberg, 2006). CYP gen ailesinde en etkili genetik değişiklikler; delesyon, yanlış anlamlı mutasyonlar, splay defektleri ve prematür durdurma kodonlarının neden olduğu mutasyonlardır. Bunların dışında nadiren 5' ya da 3' transle edilmeyen (okunmayan) düzenlenme bölgelerindeki mutasyonlar CYP fenotipini etkilemektedir. Buna rağmen literatürde çok fazla miktarda bildirilen ilişkilendirme çalışmalarında; penetransı az, düşük etkili polimorfizmler ile içlerinde değişik tip kanserlerin de olduğu bir çok hastalık arasında bağlantı araştırmaları yapılmaktadır (Antona ve Sundberg, 2006).

Ksenobiyotik metabolizmasında görev yapan CYP enzim aileleri; CYP1, CYP2 ve CYP3'tür (Autrup, 2000). Bu CYP enzim aileleri polimorfizm göstermeleri bakımından iki ana gruba ayrılabilir. Bunlardan birinci grupta; CYP1A1, CYP1A2, CYP2E1 ve CYP3A4 yer alır. Bu enzimler evrimsel süreçte iyi korunmuştur ve önemli fonksiyonel polimorfizm göstermezler. Prekarsinojenlerin ve ilaçların metabolizmasında görev yaparlar. İkinci grupta; CYP2B6, CYP2C9, CYP2C19 ve CYP2D6 yer almaktadır. Bu gruptaki enzimler çok fazla polimorfizm gösterirler ve ilaç metabolizmasında aktiftirler. Prekarsinojen metabolizmasında etkileri yoktur (Antona ve Sundberg, 2006).

Kanser insidansı ile CYP polimorfizmlerinin ilişkilendirilmesiyle ilgili bir çok çalışmada, prekarsinojenlerin metabolik aktivasyonunda önemli rol oynayan CYP enzimlerinin belirli bir kanser tipine yatkınlık gösteren genetik varyantların bulunması amaçlanmıştır. Özünde bu ilişkilendirme çalışmalarında önemli bir sonuç bulunamamıştır. Çok sayıda olumsuz çalışmada göreceli olarak küçük risk faktörleri

elde edilmiştir. Ayrıca bu konuda yapılan çalışmalarda şaşırtıcı faktörlerle karşılaşılması durumunda uygun kontrollerin bulunmaması ve çalışılan varyant alleller arasında penetransı düşük, küçük ya da önemsiz fonksiyonel değişiklikler bulunması bu konuda yapılan çalışmalarla ilgili soru işaretleri oluşturmuştur (Antona ve Sundberg, 2006).

CYP1A2 esas olarak karaciğerde ifade edilir ve düzenlenmesinde aril hidrokarbon reseptörlerinin (AhR) uyarılması önemli rol oynar (Antona ve Sundberg, 2006). CYP1A2 enzimleri çok sayıda çevresel polisiklik aromatik hidrokarbonları (PAH), arilaminleri, nitrozaminleri, özellikle sigara dumanında ve ızgarada yapılan yiyeceklerde bulunan aromatik ve heterosiklik aminleri aktive ya da detoksifiye edebilirler. CYP aktivitesindeki polimorfik dağılım çoğunlukla kafein metabolitlerinin ölçümü yoluyla ortaya konmuştur, ancak bu farklılığın genetik temeli henüz tanımlanmamıştır. CYP1A2 enzimi yüksek derecede uyarılabilir bir enzimdir. CYP 1A2 enzim aktivitesinde, karsinojenlere maruz kalınmaya bağlı olarak enzim indüksiyonu yoluyla uyarılma; genin polimorfizmi nedeniyle enzimin ekspresyonunda meydana gelen değişikliklerden daha fazla etkilidir. Bu noktada sigaranın CYP 1A2'nin iyi bilinen bir uyarıcısı olduğunu söylemek gerekir (Autrup, 2000). Buna karşılık CYP1A2 aktivitesinde bireyler arasında farklılıkların genetik temeli ile ilgili de bir çok araştırma yapılmıştır (Antona ve Sundberg, 2006). CYP1A2 aktivitesindeki bireyler arası farklılıklar kişilerin kansere duyarlılığındaki riski etkileyebilir. Konuyla ilgili çeşitli çalışmalar aşağıda anlatılmıştır.

CYP1A2 aktivitesi ile ilgili yapılan ikiz çalışmalarında da genetik farklılıklarla birlikte sigara gibi çevresel uyarıların enzim aktivitesinde etkili olduğu gösterilmiştir (Antona ve Sundberg, 2006).

ABD'de yapılan bir çalışmada, kalıcı saç boyası kullanan 159 mesane kanserli ve 164 kontrol grubundan oluşan kadınlarda enzim aktivitesinin etkilendiği *CYP1A2* polimorfizmi ile mesane kanseri arasındaki ilişki incelenmiştir (Gago-Dominguez ve ark., 2003). Bu çalışmada yavaş *CYP1A2* aktivitesi gösteren bireyler, hızlı enzim aktivitesi gösterenlerle karşılaştırıldığında kalıcı saç boyası kullanımı ile mesane kanseri arasında daha kuvvetli bir ilişki bulunmuştur [Olasılıklar oranı (Odds Ratio: OR), OR, 2.5; %95 güven aralığı (confidence interval: CI), CI, 1.04-6.10].

İspanya'da 117 tekstil işçisi ve 117 sağlıklı kontrolde yapılan bir çalışmada boyaya maruz kalan tekstil işçilerinde *CYP1A2* aktivitesinin üriner mutajeniteyi etkilemediği gösterilmiştir ( $r=0.04$  ve  $r=0.01$ ) (Fanlo ve ark., 2004). Çalışmada üriner mutajenite, 24 saatlik idrarda TA98 *Salmonella typhimurium* soylarında, S9 ile mikrozomal aktivasyon ya da beta-glukuronidaz ile inkübasyon yoluyla tespit edilmiştir.

*CYP1A2* geni polimorfizmi ile mesane kanseri riski arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmaların daha az sayıda olması ve kanserlerin genel olarak etiyopatogenezlerinin benzer olması nedeniyle, burada *CYP1A2* geninin diğer bazı kanserlerle arasındaki ilişkiye de yer verilmiştir. Japon popülasyonunda yapılan 315 kişilik olgu-kontrol çalışmasında *CYP1A1*, *CYP1A2*, *CYP2E1*, *GSTM1* ve *GSTT1* genleri polimorfizmleri ile prostat kanseri arasındaki ilişkisi incelenmiştir (Murata ve ark., 2001). Çalışmada yalnızca *CYP1A1* polimorfizmi ile ilgili bir risk artışı tespit edilirken (OR, 2.4; %95 CI, 1.01-5.57), *CYP1A2* ve diğer gen polimorfizmleri ile prostat kanseri arasında bir ilişki gösterilememiştir.

Hollanda'da 94 kolorektal kanserli hasta üzerinde yapılan bir çalışmada *CYP1A2* A164C polimorfizmi ile kolorektal kanser riski arasındaki ilişki incelenmiştir (Moonen ve ark., 2005). Yapılan bu çalışmada *CYP1A2* A164C polimorfizmi ile kolorektal kanser riski arasında önemli derecede bir ilişki olduğu ortaya konmuştur (OR, 3.7; %95 CI, 1.3-10.7).

Çinlilerde, 431 hepatosellüler kanserli ve 550 kanser hastası olmayan kontrol grubunda yapılan bir çalışmada (Chen ve ark., 2006), *CYP1A2* geninin üç farklı polimorfizmini homozigot taşıyanların tüm çalışma popülasyonuna göre önemli derecede risk artışı gösterdiği bulunmuştur (OR, 1.65; %95 CI, 1.11-2.46;  $p=0.014$ ). Aynı çalışmada HBsAg seronegatif bireylerde (OR, 2.69; %95 CI, 1.43-5.06;  $p=0.002$ ) ve çok sigara içenlerde (OR, 2.14; %95 CI, 1.21-3.80;  $p=0.009$ ) risk artışının anlamlı derecede daha fazla olduğu görülmüştür.

*CYP1A2* aktivitesi ile ilgili fonksiyonel olarak önemli etkisi olan polimorfizmler sık değildir. Nadir görülen iki genetik varyant *CYP1A2\*7* ve *CYP1A2\*11* ile nispeten daha sık görülen *CYP1A2\*1F* ve *CYP1A2\*1K*'dir (Antona ve Sundberg, 2006).

*CYP2D6* aktivitesi bireyler arasında büyük farklılık göstermektedir. *CYP2D6* G1934A polimorfizmi genin 3. intronu ile 4. ekzonunun birleşim yerinde bulunmakta ve splay alanı defektine neden olmaktadır. Bu değişiklik enzim aktivitesinde azaltmakta



ya da ortadan kaldırmaktadır (Topic ve ark., 2000). CYP2D6 büyük ölçüde antiaritmik, antidepresan ve nöroleptik gibi ilaçların metabolizmasında rol oynamakla birlikte ksenobiyotik metabolizmasında da görev yapmaktadır. CYP2D6, CYP'ler içerisinde en fazla çalışılan ve en iyi bilinen polimorfizmlerden biridir. Fenotip-genotip ilişkisi değişik ilaç çalışmalarında ayrıntılı olarak incelenmiş ve enzimin aktivite farklılıklarının moleküler temeli oldukça iyi anlaşılmıştır. Bu konuda yapılan çeşitli çalışmalar aşağıda anlatılmıştır.

*CYP2D6* G1934A polimorfizmi ile mesane kanseri arasındaki ilişki daha önce, Kuzey Hindistan'da mesane kanserli 100 hasta ve 76 kontrol grubu kullanılarak araştırılmıştır (Sobti ve ark., 2005). Çalışmada *CYP2D6* G1934A polimorfizmi ile mesane kanseri arasında belirli bir ilişki bulunamamıştır (OR, 1.00; %95 CI, 0.46-2.16). AA genotipini taşıyan zayıf metabolize edicilerde ise istatistiksel olarak anlamlı olmayan, küçük derecede risk artışı görülmüştür (OR, 1.55; %95 CI, 0.14-17.49). Aynı çalışmada GG genotipli kuvvetli metabolize edicilerle grade II mesane kanseri (OR, 3.54; %95 CI, 0.89-13.98), grade III mesane kanseri (OR, 3.3; %95 CI, 0.12-20.6) ve grade IV mesane kanseri (OR, 1.67; %95 CI, 0.15-18.45) arasında istatistiksel olarak anlamlı olmayan hafif derecede bir ilişki bulunmuştur. Yine bu çalışmada sigara ile mesane kanseri arasında istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir ilişki bulunmuştur (OR, 2.13; %95 CI, 0.71-6.43).

Çinlilerde yapılan bir çalışmada *CYP2D6*\*10 polimorfizmi ile meme kanseri arasındaki ilişki incelenmiştir (Li ve ark., 2006). Meme kanserli 286 kadın ile 305 sağlıklı kadının karşılaştırıldığı bu çalışmada 188 T/T genotipini taşıyanlarda meme kanseri için istatistiksel olarak anlamlı olmamakla beraber hafif derecede risk artışı olduğu bulunmuştur (OR, 1.36; %95 CI, 0.89-2.10). Postmenapozal kadınlarda bu risk artışının biraz daha fazla olduğu görülmüştür (OR, 1.49; %95 CI, 0.8-2.76).

Türkiye'de 260 lösemi hastası ve 140 sağlıklı kontrol üzerinde *CYP2D6*\*3 polimorfizmi ile akut lösemi arasındaki ilişki incelenmiştir (Aydın ve ark., 2006). Bu çalışmada *CYP2D6*\*3 polimorfizminin varyant alleli ile akut lösemi arasında negatif bir risk bağlantısı olduğu gösterilmiştir (p=0.03).

Polonya'da 289 laringeal squamoz hücreli kanser hastası ve kanser öyküsü olmayan 316 kontrol grubu arasında yapılan çalışmada, *CYP2D6* \*4 polimorfizmi ile laringeal squamoz hücreli kanser arasındaki ilişki incelenmiştir (Gajicka ve ark., 2005).

Çalışmada \*4/\*4 genotipi (OR, 2.36; p= 0.045) ve \*4 alleli (OR, 1.32; p= 0.04) ile hastalık arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur.

Polimorfizmi ırklar arasında enzim defekti ve aktivite azalması bakımından büyük farklılık göstermektedir. Aktivite artması; gen duplikasyonu, amplifikasyon ve enzimin 13 işlevsel kopyasından bir alleli taşıyan bireylerde görülmektedir (Antona ve Sundberg, 2006). Defektif CYP2D6 allelik varyantı ise dur kodonu ya da splay defektleri taşıyanlarda görülür. Sık karşılaşılan ve işlevsel değişiklik gösteren varyantlar; CYP2D6\*4 (beyaz ırkta %15-21), CYP2D6\*5 (farklı popülasyonlarda %3-6), CYP2D6\*10 (Asyalılarda %38-70, Afrikalılarda %3-9) ve CYP2D6\*17 (Afrikalılarda %20-34)'dir. CYP2D6 klinikte kullanılan ilaçların %20-25'inin metabolizmasında yer almasına rağmen CYP2D6'nın prekarsinojen metabolizmasındaki rolü küçüktür ve enzim polimorfizmi kansere duyarlılıkta önemsiz görünmektedir. CYP2D6 özellikle tamoksifen metabolizmasında önemli rol oynamaktadır (Antona ve Sundberg, 2006).

CYP'ler prekarsinojenlerin ve antikanser ilaçların aktivasyon ve inaktivasyonunda önemli rol oynamaktadır. P450 metabolizmasındaki bireyler arası farklılık çevresel ve genetik faktörlerin her ikisine de bağlıdır. CYP'leri kodlayan genler, evrimsel olarak büyük oranda korunmuştur ve prekarsinojenlerin aktivasyonuna katılmaktadır. Sitokrom P450 enzimlerinin sigara ve alkol gibi faktörlerle uyarılması enzim aktivitesinin değişmesinde genetik faktörlerden daha etkili faktörler gibi görünmektedir (Antona ve Sundberg, 2006).

CYP1A2 ve CYP2D6 genlerinin polimorfizmleri ile ilgili bilgiler Tablo 1'de verilmiştir.

**Tablo 1.** *CYP1A2* ve *CYP2D6* genleri ile ilgili bilgiler

	<b>CYP1A2</b>	<b>CYP2D6</b>
<b>Kromozomal Lokalizasyon</b>	15q24	22q13.1
<b>Genin Diğer Adları</b>	CP12, P3-450, P450(PA)	RP4-669P10.2, CPD6, CYP2D, CYP2D@, CYP2DL1, MGC120389, MGC120390, P450-DB1, P450C2D
<b>Gen Numarası</b>	1544	1565
<b>Genin uzunluğu</b>	7.8 kb	9.4 kb
<b>Ekzon sayısı</b>	6	9
<b>Polimorfizm</b>	C734A polimorfizmi	G1934A polimorfizmi
<b>rs (ref. SNP) numarası</b>	762551	2267448
<b>Enzim aktivitesi</b>	Bir miktar değişir.	Önemli ölçüde değişir.
<b>Substrat</b>	Monohalojenli benzen türevleri, ariller ve heterosiklik aminler, N-nitrozodimetilamin, 4-aminobifenil, 2-asetilaminofloren, aflatoksin B1	İlaç metabolizmasında, steroid ve kolesterol sentezinde
<b>Avrupalılardaki allel frekansı</b>	A %69, C %31 <sup>1</sup>	G %79, A %21 <sup>2</sup>
<b>Afrikan Amerikalılarda allel frekansı</b>	A %54, C %46 <sup>1</sup>	G %92, A %8 <sup>2</sup>
<b>Asyalılardaki allel frekansı</b>	A %61, C %39 <sup>1</sup>	G %99, A %1 <sup>2</sup>
<b>Türklerde</b>	A %51, C %49 <sup>3</sup>	G %85, A %15 <sup>2</sup>

(<sup>1</sup>[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp\\_ref.cgi?rs=762551](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?rs=762551); <sup>2</sup>Aydın ve ark., 2005;

<sup>3</sup>Böke ve ark., 2007)

#### 2.4.2. *GSTM1*, *GSTT1* ve *GSTP1*

*GST*'lar, oksidatif stres ve elektrofilik metabolizma ürünlerine karşı koruyucu rol oynayan faz II metabolizma enzimleridir. *GST*'ler glutatyonla konjugasyon yoluyla vücutta bulunan değişik karsinojenik bileşiklerin atılımını sağlarlar (Autrup, 2000; Miller ve ark., 2001). *GST*'lerin insanda sekiz farklı gen ailesi tanımlanmıştır: alfa (A, kromozom 6'da), mü (M, kromozom 1'de), pi (P, kromozom 11'de), teta (T, kromozom 22'de), zeta (Z kromozom 14'te), sigma (S, kromozom 4'te), kappa (K, kromozom lokalizasyonu bilinmiyor) ve omega (O, kromozom 10'da) (Strange ve ark., 2001). Bu sınıfların da değişik alt sınıfları vardır (Eaton ve Bammler, 1999). Çeşitli polimorfizmleri tespit edilen *GST*'ler; *M1*, *M3*, *P1*, *T1*, *T2* ve *Z1*'dir (Ali-Osman ve ark., 1997; Watson ve ark., 1998). Polimorfizmler arasında enzim fonksiyonunun azaldığı ya da kaybolduğu allel delesyonları da vardır. Bu şekilde *GSTM1* ve *GSTT1* genlerinde görülen ve genin her iki alelinin delesyonlu olduğu genotipler "null": negatif (yokluğu, olmaması) genotip olarak tanımlanırken, allellerden en az birisinin var olduğu ve enzim aktivitesinin fazla etkilenmediği genotipler o enzim için "pozitif" genotip olarak tanımlanmaktadır (Seidegard ve ark., 1988; Pemble ve ark., 1994).

*GSTM1*'in beş tane alt sınıf enzimi tanımlanmıştır ve bu enzimlerin genleri kromozom 1q13'te lokalizedir. *GSTM1* büyük oranda karaciğerde ifade edilmektedir. *GSTM1* allel frekansı büyük etnik varyasyon göstermektedir. *GSTM1*'in en önemli substratları arasında; aril oksid, aflotoksin B-1, aflotoksin B1 7,8 epoksid yer almaktadır (Scarpato ve ark., 1996; Autrup, 2000). Enzim, bu karsinojenleri, glutatyon ile konjüge ederek detoksifiye etmektedir. *GSTM1* null bireyler teorik olarak daha fazla seviyede karsinojen-DNA bileşenlerine sahip olduğu söylene (Hemminki ve ark., 1997) de bu konuda çelişkili sonuçlar vardır (Motykiewicz ve ark., 1998). Mesane kanseri ile ilgili yapılan epidemiyolojik çalışmalarda, *GSTM1* null genotipinin kansere olan duyarlılığında çelişkili sonuçlar alındığı görülmüştür. Yapılan bazı çalışmalarda *GSTM1* ile mesane kanseri arasında önemli bir ilişki bulunurken (Salagovic ve ark., 1998; Abdel ve ark., 1998; Steinhoff ve ark., 2000) diğer bazı çalışmalarda bu ilişki gösterilememiştir (Kim ve ark., 2002; Srivastava ve ark., 2005).

*GSTT1* geni 22q11.23'te lokalizedir. Enzim büyük miktarda karaciğerde ifade edilse de diğer bazı dokularda (eritrosit, akciğer, böbrek, beyin) da az miktarda ifade edilmektedir (Juronen ve ark., 1996a; Juronen ve ark., 1996b; Landi, 2000). Enziminin

substratları arasında diklormetan (DCM), etilendibromid (EDB), p-nitrobenzil klorid (PNBC), p-nitrofenetil bromid (PNPB), metilklorid (MeC), metiliodid (MeI) ve değişik halojenize metan ve etanlar bulunmaktadır (Whittington ve ark., 1999; Landi, 2000). Enzim detoksifikasyon ve aktivasyon reaksiyonlarında görev yaptığından polimorfizmin biyolojik sonuçlarını tahmin etmek oldukça zordur. Bu konuda yapılan bir *in vitro* çalışmada; kültüre edilmiş lenfositlerde, 1,3-epoksi-3-buten'in uyarılan kardeş kromatid değişimi (sister-chromatid Exchange: SCE) sıklığını artırdığı gösterilirken (Bernardini ve ark., 1998) bununla ilgili bir diğer çalışmada ise SCE sıklığının benzer olduğu gösterilmiştir (Landi ve ark., 1999a; Landi ve ark., 1999b). Kromozomal aberasyonlar 1,3-butadine maruz kalanlar *GSTT1* null kişilerde önemli derecede yüksek bulunmuştur (Sorsa ve ark., 1996). *GSTT1* null sigara içenlerde ise, *GSTT1* pozitif sigara içenlere göre, daha fazla kromozomal aberasyon olduğu tespit edilmiştir (El-Zein ve ark., 1997). Yapılan çalışmalarda *GSTT1* pozitif kişilerin, genler üzerindeki olası toksik etkiye, *GSTT1* yolağındaki halojenize bileşiklerin metabolizması nedeniyle, null olanlara göre daha az duyarlı olduğu düşünülmektedir. Ancak bu hipotezi doğrulayacak deliller yetersizdir. Bu konuda yapılan epidemiyolojik çalışmalarda da *GSTT1* null genotiple kanser gelişimi arasında açık bir ilişki gösterilememiştir (Lee ve ark., 2002; Margaret ve ark., 2005).

*GSTP1* kromozom 11q13'te lokalizedir ve insanda epitelyal dokuda yaygın olarak ifade edilmektedir. Enzim özellikle akciğer, özefagus ve plasentada bol miktarda bulunmaktadır. Başlıca substratları polisiklik aromatik hidrokarbonlardır (Maa ve ark., 2003). *GSTP1* aktivitesinde, 1-kloro-2,4-dinitrobenzenin metabolizmasına bağlı olarak, bireyler arasında büyük varyasyon olduğu gösterilmiştir. Ekzon 5 ve 6'da yer alan iki polimorfizm amino asit değişikliğine neden olmaktadır (Hu ve ark., 1997; Sundberg ve ark., 1998). Ancak bunlardan yalnızca ekzon 5'teki polimorfizme bağlı gelişen İzolösin-Valin değişikliği enzim aktivitesini etkilemektedir (Ryk ve ark., 2005). Oluşan iki varyantın enzim kinetiği ve substrat spesifikliği farklıdır. 105Ile varyantı, 105Val varyantından daha aktiftir. Bu nedenle 105Val varyantının düşük detoksifikasyon hızı nedeniyle çeşitli kanserler için risk faktörü oluşturduğu düşünülmektedir. Ancak bu konuda yapılan çalışmalarda çelişkili sonuçlar ortaya çıkmıştır. Yapılan bir çalışmada farinks ve larinks kanserli kişiler, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında *GSTP1* 105Ile/105Ile sıklığı düşük bulunmuştur (Matthias ve ark., 1998). Cao ve arkadaşları

yaptıkları çalışmada 105 ile varyantı mesane kanseri arasında ilişki olduğunu göstermişlerdir (Cao ve ark., 2005).

*GSTM1*, *GSTT1* ve *GSTP1* genlerinin polimorfizmlerinin çeşitli kanserlerle ilişkisini inceleyen çalışmaların bir kısmında alınan sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

Türk toplumunda, 121 mesane kanserli ve 121 kişilik kontrol grubu üzerinde yapılan bir çalışmada *GSTM1*, *GSTT1* ve *GSTP1* 313 AG polimorfizminin mesane kanseriyle ilişkisi incelenmiştir (Toruner ve ark., 2001). Bu çalışmada *GSTM1* null genotip (OR, 1.94; %95 CI, 1.15-3.26) ve *GSTP1* 313 AG ya da GG genotipi (OR, 1.75; %95 CI, 1.03-2.99) mesane kanseriyle ilişkili bulunmuştur. Aynı çalışmada risk tespit edilen *GSTM1* null genotip (OR, 2.81; CI, %95 1.23-6.35) ve *GSTP1* 313 AG ya da GG genotipleri (OR, 2.38; CI, %95 1.12-4.95) ile sigara içme durumları birlikte değerlendirildiğinde risk katsayısı da artmıştır.

Slovak Cumhuriyeti'nde yapılan bir çalışmada 76 mesane kanserli hasta ile 248 kişiden oluşan kontrol grubunda *GSTM1* ve *GSTT1* genleri delesyon polimorfizmi ile mesane kanseri arasındaki ilişki incelenmiştir (Salagovic ve ark., 1999). Bu çalışmada hasta grubundaki *GSTM1* null genotip oranı (%52.6) ile kontrol grubundaki *GSTM1* null genotip oranı (%49.6) benzer çıkmıştır. Aynı çalışmada *GSTT1* null genotipi ile mesane kanseri riski arasında istatistiksel olarak önemli derecede ilişki olduğu ortaya konmuştur (OR, 1.87; %95 CI, 1.03-3.42). *GSTM1* null genotipli, sigara içen bireylerde ise mesane kanserlileri gelişme riski anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (OR, 2.44; %95 CI, 1.10-5.30). Yine aynı çalışmada *GSTT1* null genotipli bireylerde sigara ile mesane kanseri arasında herhangi bir bağlantı kurulamamıştır.

Türkiye'de yapılan bir çalışmada 61 yüzeysel mesane kanserli hasta, 42 invazif mesane kanserli hasta ve aile öyküsünde kanser hikayesi olmayan 202 kişiden oluşan kontrol grubunda *GSTM1* geni polimorfizmi ile mesane kanseri arasındaki ilişki incelenmiştir (Aktas ve ark., 2001). Bu çalışmada *GSTM1* null genotip taşıyıcılarında mesane kanseri gelişme riski anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (OR, 2.246; %95 CI, 1.384-3.645; p=0.00094). Ayrıca invazif mesane kanserli hastalarda *GSTM1* null genotip sıklığı %64.3 bulunmuştur (OR, 0.294; %95 CI, 0.147-0.590; p=0.0003). Benzer bir ilişki yüzeysel mesane kanserli hastalarda gösterilememiştir.

İspanya'da *GSTM1* null genotipiyle mesane kanseri riski arasındaki ilişkiyi inceleyen bir meta analiz çalışmasında 1150 mesane kanserli hasta ile 1149 kontrol

grubu değerlendirilmiştir (Garcia-Closas ve ark., 2005). Bu çalışma sonucuna göre *GSTM1* genini bir ya da iki kopyasının delesyonlu olmasına göre mesane kanseri için sıra ile 1.2 kat (%95 CI, 0.8-1.7) ve 1.9 kat (%95 CI, 1.4-2.7) risk artışı olduğu tespit edilmiştir.

Arjantin'de 106 mesane kanserli hasta ve 109 kişilik kontrol grubunda yapılan bir çalışmada *GSTM1* ve *GSTT1* genleri null genotipleri ile mesane kanseri riski arasındaki ilişki incelenmiştir (Moore ve ark., 2004). Bu çalışmada *GSTM1* null genotiplilerle (OR, 1.27; %95 CI, 0.74-2.24), *GSTT1* null genotiplilerde (OR, 1.54; %95 CI, 0.71-3.41) mesane kanseri riski istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte hafif derecede yüksek olduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada, sigara içenlerde, mesane kanseri riski ile *GSTM1* null genotip (OR, 1.59; %95 CI, 0.80-3.14) ve *GSTT1* null genotip (OR, 1.79; %95 CI, 0.68-4.73) arasında istatistiksel olarak anlamlı olmamakla beraber hafif derecede ilişki olduğu gösterilmiştir.

Korelilerde yapılan bir çalışmada 126 mesane kanserli hastada ve 204 kişilik kontrol grubunda *GSTM1/GSTT1* genleri polimorfizmleri ve sigara ile mesane kanseri riski arasındaki ilişki incelenmiştir (Jeong ve ark., 2003). Bu çalışmada sigara içenlerde mesane kanseri gelişme riski yüksek derecede anlamlı bulunmuştur (OR, 4.8; %95 CI, 2.9-8.0). Hastalar arasında *GSTM1* null genotipi sıklığı kontrol grubundan yüksek bulunmuş ancak bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür. Aynı çalışmada düşük derece mesane kanserlilerde, *GSTM1* null genotip sıklığı anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur (OR, 2.3; %95 CI, 1.1-5.5).

ABD'de yapılan bir çalışmada 354 mesane kanserli ve 542 kişilik kontrol grubu üzerinde; cinsiyet, sigara, *GSTM1* ve *GSTT1* genleri polimorfizmi ile mesane kanseri riski arasındaki ilişki incelenmiştir (Karagas ve ark., 2005). Bu çalışmada *GSTM1* null genotipli kadınlar arasında mesane kanseri riski artışı olduğu gösterilirken (OR, 1.7; %95 CI, 1.0-3.0), benzer ilişki erkeklerde gösterilememiştir (OR, 0.9; %95 CI, 0.7-1.3). Kadınlar arasında *GSTM1* null genotip ile mesane kanseri arasındaki ilişkinin sigara içenlerde arasında daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (OR, 2.3; %95 CI, 1.1-4.5). Erkekler ve kadınlar arasında *GSTT1* null genotip ile mesane kanseri arasında belirgin bir ilişki gösterilememiştir.

Almanya'da yapılan bir çalışmada 270 mesane kanserli hasta ve 122 kişilik kontrol grubunda *GSTT1* gen polimorfizmi ile mesane kanseri arasındaki ilişki

incelenmiştir (Sanyal ve ark., 2004). Bu çalışmada *GSTT1* null genotiplilerle mesane kanseri arasında pozitif bir ilişki olduğu ortaya konmuştur (OR, 2.54; %95 CI, 1.32-4.98; p= 0.003).

Avrupa'da yapılan bir çalışmada 45 mesane kanserli hastada p53 mutasyon sıklığı ile *GSTP1* polimorfizmi arasındaki ilişki incelenmiştir (Martone ve ark., 2000). Bu çalışmada p53 mutasyon sıklığının yabancı tip *GSTP1*'lilerde, düşük aktiviteli *GSTP1*'lilere göre 3.5 kat fazla olduğu bulunmuştur (p=0.03).

ABD'de yapılan bir çalışmada 145 mesane kanserli hasta ve 170 kanser öyküsü olmayan kontrol grubu üzerinde, sigara ve *GSTP1* I105V polimorfizmi ile mesane tümörü arasındaki ilişki incelenmiştir. Bu çalışmada sigara içenlerde mesane kanseri gelişme riski anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (OR, 3.1; %95 CI, 1.7-5.9). Yine bu çalışmada Val/Val genotipi ile karşılaştırıldığında; Iso/Val genotiplilerde (OR, 7.6; %95 CI, 1.18-49.51) ve Iso/Iso genotiplilerde (OR, 6.5; %95 CI, 1.01-41.56) mesane kanseri riski anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Aynı çalışmada en az bir tane *GSTP1* Iso alleli taşıyan ve sigara içenlerde de risk artışı olduğu bulunmuştur (OR, 11.42; %95 CI, 0.53-248.15)(Cao ve ark., 2005).

Avrupa'da yapılan bir çalışmada 327 mesane kanserli hastada *GSTM1*, *GSTT1* ve *GSTP1* polimorfizmlerinin, tümörlerde görülen p53 mutasyonlarına etkisi araştırılmıştır (Ryk ve ark., 2005). Bu çalışmada *GSTP1* Val alleli ile tümör evresi arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (OR, 2.0; %95 CI, 1.14-3.52). *GSTM1* negatif kişiler, *GSTM1* pozitif kişilerle karşılaştırıldığında p53'teki transversiyon mutasyonlarının önemli derecede daha sık olduğu gösterilmiştir (OR, 5.18; %95 CI, 1.07-25.07). Sigara içenlerde transversiyonların tamamının, transizyonların ise 13'te 2'sinin *GSTP1* varyant allel taşıdıkları ve *GSTP1* varyant allellerden en az birini taşıyanların, yabancı tiptekilere göre, CpG adacıklarında daha fazla transizyona sahip oldukları gösterilmiştir (OR, 4.61; %95 CI, 0.82-26.04). Bu çalışmanın sonucunda GST'lerin, kanser gelişiminde kritik role sahip genlerdeki mutasyon spektrumunu etkileyebileceği değerlendirilmiştir.

Hindistan'da yapılan bir çalışmada 106 mesane kanserli hastada ve 370 kişilik kontrol grubu üzerinde *GSTM1*, *GSTT1* ve *GSTP1* A1313G polimorfizmi ile mesane kanseri riski arasındaki ilişki incelenmiştir (Srivastava ve ark., 2005). Bu çalışmada *GSTM1* null genotipi (OR, 0.12; %95 CI, 0.72-1.74) ve *GSTT1* null genotipi (OR, 1.45;



%95 CI, 0.89-2.37) ile mesane kanseri riski arasında herhangi bir ilişki gösterilememiştir. Ancak *GSTP1* G/G genotipi ile hastalık arasında önemli bir ilişki olduğu gösterilmiştir (OR, 7.12; %95 CI, 3.14-16.16).

İtalya’da yapılan bir çalışmada 201 mesane kanserli hasta ve 214 kişilik kontrol grubunda *GSTM1*, *GSTT1* ve *GSTP1* polimorfizmlerinin mesane kanseri riski ile ilişkisi incelenmiştir (Hung ve ark., 2004). Bu çalışmada *GSTM1* null (OR, 1.69; %95 CI, 1.11-2.56) ve *GSTT1* null genotiplilerde (OR, 1.74; %95 CI, 1.02-2.95) mesane kanseri gelişme riski anlamlı derecede ilişkili bulunmuştur. *GSTM1* ve *GSTT1* genlerinin her ikisi de null genotiplilerle mesane kanseri riski arasındaki ilişki daha da kuvvetli bulunmuştur (OR, 2.58; %95 CI, 1.27-5.23). Bu çalışmada *GSTM1* ve *GSTT1* genleri null polimorfizminin mesane kanserine duyarlılığı etkilediği sonucuna varılmıştır.

ABD’de yapılan bir çalışmada 697 yeni tanı konan mesane kanserli hasta ve 708 sağlıklı kontrol üzerinde diyet ile izotiyosiyonat (ITC) alımı, *GSTM1*, *GSTT1*, *NAT2* polimorfizmleri ile mesane kanseri arasındaki ilişki incelenmiştir. ITC turpgillerde bulunan ve antikanserojen özellikte bir maddedir. CYP enzim seviyesini düşürmekte ve faz II enzimlerini ise aktive etmektedir. Bu çalışmada yüksek miktarda ITC alımının %29 oranında mesane kanseri riskini azalttığı bulunmuştur (OR, 0.71; %95 CI, 0.57-0.89). ITC’nin koruyucu etkisinin yaşlılarda, hiç sigara içmeyenlerde ve çok sigara içenlerde daha fazla olduğu bulunmuştur. *NAT2* hızlı asetilleyciler, *NAT2* yavaş asetilleycilerle karşılaştırıldığında mesane kanseri riskinin arttığı bulunmuştur (OR, 1.31; %95 CI, 1.02-1.69). *GSTM1* ya da *GSTT1* genotipleri ile mesane kanseri arasında temel bir ilişki bulunamamıştır. Çalışma sonucunda ITC’nin koruyucu etkisinin *GSTM1*, *GSTT1* ve *NAT2* genotipleri ile ilişkili olmadığı sonucuna varılmıştır (Zhao ve ark., 2007).

Türkiye’de yapılan bir çalışmada 51 mesane kanserli hasta ve 53 kontrolde *GSTT1*, *GSTM1* ve süperoksit dismutaz (SOD) polimorfizminin mesane kanseri ile ilişkisi incelenmiştir. Bu çalışmada *GSTT1* ve SOD polimorfizmi arasında herhangi bir ilişki bulunamamıştır. Ancak *GSTM1* null genotiplilerde mesane kanseri riskinin artmış olduğu bulunmuştur (OR, 1.755; %95 CI, 1.119-2.751) (Cengiz ve ark., 2007).

Arjantin’de yapılan bir çalışmada arseniğe maruz kalınan bir bölgede 170 kişi üzerinde metylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) 677 ve 1298, *GSTM1* ve *GSTT1* polimorfizmlerinin arsenik metabolizmasına etkisi incelenmiştir. Bunun

sonucunda GSTM1 null genotipli kadınların GSTM1 pozitif genotipli kadınlara göre önemli derecede daha fazla monometil arsenat adlı arsenik metabolitini idrara çıkarttıkları bulunmuştur. GSTT1 polimorfizmi ile arsenik metilasyonu arasında herhangi bir ilişki bulunamamıştır. Sonuç olarak bu çalışmayı yapanlar arseniğin uyardığı kanser gelişiminde önemli rol oynayan arsenik metilasyonuna etkisi nedeniyle GSTM1 ve MTHFR polimorfizminin kansere duyarlılıkta etkili olabileceği belirtmişlerdir (Steinmaus ve ark., 2007).

Belçika'da yapılan bir çalışmada 200 mesane kanserli hastada ve 385 kontrolde polisiklik aromatik hidrokarbonların (PAH) ve mazotun mesane kanseri ile ilişkisine sigara ve metabolik enzimlerin polimorfizminin etkisi incelenmiştir. Bu çalışmada aromatik aminlere maruz kalanlarda 5.75 kata varan (OR,5.75; %95 CI, 2.09-15.83) mesane kanseri riski artışı tespit edilmiştir ve aromatik aminlere maruz kalanlarda artan mesane kanseri riski doğrulanmıştır (Kellen ve ark., 2007a).

Yine Belçika'da yapılan bir meta analizde GSTP1 I105V polimorfizmi ile mesane kanseri arasındaki ilişki 4273 hasta ve 5081 kontrol üzerinde meta analiz yöntemi ile incelenmiştir. GSTP1 I/V ve V/V, I/I ile karşılaştırıldığında sırasıyla I/V genotiplilerde 1.54 kat (OR, 1.54; %95 CI, 1.21-1.99) ve V/V genotiplilerde 2.17 kat (OR,2.17; %95 CI, 1.27-3.71) risk artışı olduğu bulunmuştur. Mesane kanseri ile polimorfizm arasındaki ilişki Asya ülkelerinde belirginken Avrupalılarda bu ilişki azalmaktadır. Sonuç olarak GSTP1 I105V polimorfizmi ile mesane kanseri arasında ılımlı bir risk artışı olduğu bildirilmiştir (Kellen ve ark., 2007b).

ABD'de yapılan bir çalışmada daha önce yayımlanmış çeşitli çalışmalardaki genetik polimorfizmlerle mesane kanseri arasındaki ilişkiler incelenmiştir. Bu çalışmada genetik polimorfizmleri, karsinojen metabolizması, DNA onarımı, hücre döngüsünün kontrolü, inflamasyon, apoptozis, metilasyon ve hücre adezyon işlevlerinde oynadıkları role göre gruplara ayırmışlardır. Çalışmanın sonucunda mesane kanseri patogenezi anlamak için moleküler epidemiyoloji çalışmalarının yararlı bir kaynak olduğunu bildirmişlerdir (Wu ve ark., 2007).

*GSTM1*, *GSTT1* ve *GSTP1* genlerinin polimorfizmleri ile ilgili diğer bilgiler Tablo 2'de verilmiştir.

**Tablo 2.** *GSTM1*, *GSTT1* ve *GSTP1* genleri ile ilgili bilgiler (<sup>1</sup>Garte ve ark., 2001; <sup>2</sup>[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp\\_ref.cgi?rs=1695](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?rs=1695); <sup>3</sup>Srivastava ve ark., 2005; <sup>4</sup>Ateş ve ark., 2005).

	<b>GSTM1</b>	<b>GSTP1</b>	<b>GSTT1</b>
<b>Kromozomal lokalizasyon</b>	1p13.3	11q13.3	22q11.23
<b>Genin Diğer Adları</b>	GST1, GSTM1-1, GSTM1a-1a, GSTM1b-1b, GTH4, GTM1, H-B, MGC26563, MU, MU-1	DFN7, FAEES3, GST3, PI	-
<b>Gen Numarası</b>	2944	2950	2952
<b>Genin uzunluğu</b>	5.92 kb	2.84 kb	8.09 kb
<b>Ekzon sayısı</b>	8	7	5
<b>Polimorfizm</b>	Delesyon (null/ pozitif)	A105G (Ile105Val)	Delesyon (null/pozitif)
<b>rs (ref. SNP) numarası</b>	-	1695	-
<b>Enzim aktivitesi</b>	Tamamen kaybolmakta	Azalmakta.	Tamamen kaybolmakta
<b>Substrat</b>	Polisiklik aromatik hidrokarbonlar, aflatoksin	Polisiklik aromatik hidrokarbonlar, N-asetilbenzoquinon imin,4-nitroquinolin-1-oksit	Hidroksialkinler, butadien, mono- & dihaloalkanlar
<b>Avrupalı sağlıklı bireylerde genotip/allel frekansı dağılımı.</b>	Null % 51 <sup>1</sup> , Pozitif %49	A %69, G %31 <sup>2</sup>	Null % 23 <sup>1</sup> , Pozitif %77
<b>Amerikalı sağlıklı bireylerde genotip/allel frekansı dağılımı.</b>	Null % 54 <sup>1</sup> , Pozitif %56	A %59, G %41 <sup>2</sup>	Null % 27 <sup>1</sup> , Pozitif %73
<b>Asyalı sağlıklı bireylerde genotip/allel frekansı dağılımı.</b>	Null % 62 <sup>3</sup> , Pozitif %38	A %82, G %18 <sup>2</sup>	Null % 21 <sup>3</sup> , Pozitif %79
<b>Türklerde genotip/allel frekansı dağılımı.</b>	Null %42 <sup>4</sup> , Pozitif %58,	A %75, G %25 <sup>4</sup>	Null % 23 <sup>4</sup> , Pozitif %77,

## 2.5. MK Patolojisi:

Mesane tümörlerinin yaklaşık %95'ini epitelyal orjinli kanserler oluştururken geri kalanı ise mezenşimal tümörler oluşturmaktadır. Epitelyal tümörlerin büyük kısmını transizyonel ya da ürotelyal tip hücreli oluşturur. Ürotelyal hücreli kanserler mesane tümörlerinin %90 kadarını oluşturur ve genel olarak iki farklı hastalık antitesi oluşturur. Bu tümörlerin birinci grubunu oluşturan tümörlerin yaklaşık %80'i yüzeysel papiller tümörlerdir ve bunların yalnızca %10-15'i mesane duvarına invaze olur. Bu tip tümörlerde, yeni tümör oluşumu ya da tümörün tekrarlama riski sıklıkla uzun yıllar içerisinde gerçekleşir. Ürotelyal hücreli kanserlerin %20 oranla ikinci grubunu kasa invaze olan daha kötü prognoz gösteren tümörler oluşturmaktadır (Kumar ve ark., 2005).

**Tablo 3.** Ürotelyal Tümörlerin Derecelendirilmesi (Kumar ve ark., 2005).

<p><b>WHO/ISUP Derecelendirilmesi<sup>1</sup></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Ürotelyal papillom</li> <li>-Düşük malignite potansiyelli ürotelyal neoplazm</li> <li>-Papiller Ürotelyal karsinom, düşük dereceli</li> <li>-Papiller Ürotelyal karsinom, yüksek dereceli</li> </ul>
<p><b>WHO Derecelendirilmesi<sup>2</sup></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Ürotelyal papillom</li> <li>-Düşük malignite potansiyelli ürotelyal neoplazm</li> <li>-Papiller Ürotelyal karsinom, Evre 1</li> <li>-Papiller Ürotelyal karsinom, Evre 2</li> <li>-Papiller Ürotelyal karsinom, Evre 3</li> </ul>

<sup>1</sup> 2004'te WHO tarafından kabul edilmiştir.

<sup>2</sup> 1973 WHO derecelendirilmesi.

WHO: "World Health Organization"; ISUP: "International Society of Urological Pathology"

WHO tarafında 1973'te yapılan ürotelyal tümörlerin derecelendirilmesi ile ilgili sınıflandırma, ISUP tarafından 1998'te yapılan bir konferansta tekrar değerlendirilerek ortak bir sistem oluşturulmuştur (Epstein ve ark., 1998). Bu sistem 2004 yılında WHO tarafından

da kabul edilmiştir. Mesane tümörlerinin derecelendirilmesi ile ilgili geçerli olan en son sınıflandırma sistemi Tablo 3'te; evreleme ile ilgili sıklıkla kullanılan sınıflandırma ise Tablo 4'te verilmiştir.

**Tablo 4.** Mesane Tümörlerinde, Primer Tümör Evreleme Sistemi (Kumar ve ark., 2005).

AJCC/UICC	İnvazyon Derinliği
Noninvaziv, Papiller	Ta
Karsinoma in situ (noninvazif, düz)	Tis
Lamina Propriya invazyonu	T1
Muskülaris Propria İnvazyon	T2
Mikroskopik Ekstravazikal İnvazyon	T3a
Yaygın Belirgin Ekstravezikal İnvazyon	T3b
<i>Bitişik Dokulara İnvazyon</i>	T4

**AJCC/UICC** : “American Joint Commission on Cancer/Union Internationale Contre le Cancer”

## 2.6. MK Kliniği

Mesane tümörlerinin ilk ve en önemli klinik belirtisi hematüridir. Hematüri makroskopik veya mikroskopik olabilir ve tüm olguların %85'inde vardır. Hematüri genellikle sürekli değildir ve belirli aralıklarla ortaya çıkar. Özellikle 50 yaş üzerindeki erkek hastalarda ağrısız belirgin hematüri akla öncelikle mesane tümörünü getirmelidir. Ancak gastrointestinal sistem veya mesanenin yaygın olarak tutulduğu infiltratif tümörlerde, hastalar ilk olarak disüri ve pollaküri gibi mesane irritasyonu semptomları gösterebilirler. Mesane tümürlü hastaların genellikle tipik bir muayene bulgusu yoktur. Eğer çok büyük invazif bir tümör varsa suprapubik bölgede palpe edilebilir. Özellikle şüpheli hastalarda rektal muayene mutlaka yapılmalıdır. Özellikle infiltratif tümörü olan hastalarda prostatın endürasyonu, mesane ile prostat arasının silinmesi ve mesane tabanındaki sertleşme ve fiksasyon palpe edilebilir. Mesane kanserli hastalar öncelikle tüm hastalarda olduğu gibi sistemik bir hastalık olabileceği düşüncesiyle, ayrıca; metastatik hastalık endişesi ile genel

fizik muayeneden geçirilmelidir. Muayene sırasında hastalar, özellikle hepatomegali, supraklaviküler ve inguinal lenfadenopati yönünde incelenmelidir (Anafarta ve ark., 2007).

## 2.7. MK Tanı Yöntemleri

İntra venöz ürografi (İVÜ)'nin tanı koydurucu değeri düşük olduğundan rutin olarak yapıp yapılmaması ile ilgili tereddütler vardır. Ultrasonografi (US), kontrast madde kullanılmaması avantajı yanında tanı açısından duyarlı bir görüntüleme yöntemi olduğundan giderek artarak kullanılmaktadır. İVÜ, direkt batın filmi ile birlikte hematüri nedeninin ortaya konmasında ve mesane kanserinin tespitinde de önemli bilgiler sağlamaktadır (Oosterlinck, 2001).

Yüzeysel mesane kanseri tespit edildiğinde sitoloji tetkiki mutlaka yapılmalıdır. Vakaların büyük kısmında düşük derece tümörlerde sitoloji negatiftir. İdrar sitolojisi in situ tümörlerin tespit edilmesinde özellikle yararlıdır. Papiller tümör varlığında idrar sitolojisi pozitif ise rastgele mesane biyopsisi yapılmalıdır. Biyopsinin erkeklerde özellikle prostatik üretradan alınması, tümörün "in situ" (Tis) aşamasında tespitinde daha önemlidir (Solsona ve ark., 1997). İdrar sitolojisi testi; noninvaziv ve ucuz olması, karsinoma insitu ve yüksek dereceli tümörlerde duyarlılığının yüksek olması nedeniyle mesane kanserinin tanısında önemli bir yer tutmaktadır. Ancak sitoloji; iyi farklılaşmış tümör hücrelerini, normal hücrelerden her zaman ayırt edemez ve o nedenle düşük dereceli tümörlerde duyarlılık daha azdır (Oosterlinck, 2001).

Sistoskopi, mesane tümörlerinin kesin tanısında altın standart değerinde bir yöntemdir. Sistoskopi yüzeysel tümörlerde tanının yanında, rezeksiyon ile birlikte tedavi imkanını da vermektedir. Ayrıca hastalığın prognozunun takibinde de sistoskopi önemli bir yöntemdir (Oosterlinck, 2004).

## 2.8. MK Biyolojik Tümör Belirteçleri

Mesane tümörleri; invazyon, metastaz ve tekrarlama sıklığı açısından heterojenite gösterir. Bu durum hastalığın tanısında ve tedavisinde hastaları ve klinisyeni oldukça zor durumda bırakmaktadır. Yeni tanı konan mesane kanserlerinin büyük kısmında, tanı konulduğunda, hastada zaten hematüri veya idrar irritasyonu şikayetleri ortaya çıkmış durumdadır. Bu şekilde yeni tanı konan mesane tümörlerinin %15-30'u yüksek derece mesane tümörü vakalarıdır. Mesane kanserli hastalar 3-6 ayda bir hastalığın takibi ve

tekrarlaması açısından özellikle sistoskopi ile takip edilmektedir. Bu maksatla yapılan sistoskopi invazif ve göreceli olarak pahalı bir yöntem olmasına rağmen hala hastalığın tanı, takip ve aynı zamanda tedavisinde altın standart bir yöntemdir. İdrar sitolojisi noninvazif bir belirteçtir ve yüksek derecede tümöre özgüdür. Ayrıca düşük derecelerde olmasa da yüksek derece tümörlerde duyarlılığı da yüksektir (Vinata ve ark., 2005).

Mesane kanserinin tespitinde, derecesinin değerlendirilmesinde, hastalığın tekrarlama durumunun takibinde ve prognoz tahmin edilmesinde noninvazif testler olarak tümör belirteçleri de kullanılmaktadır. Bu testler mesane kanserinin prognostik değerlendirmesinde henüz sistoskopinin ve sitolojinin yerini alamamışlardır. Ancak birçok tümör belirtecinin sistoskopi ve idrar sitolojisi ile birlikte kullanılmasının yararlı olabileceği değerlendirilmektedir. Bu alanda kullanılan prognostik tümör belirteçleri altı grupta toplanmaktadır: Bunlar; mikrosatellitlerle ilişkili belirteçler, protoonkogenler ve onkogenler, tümör baskılayıcı genler, hücre döngüsü düzenleyicileri, angiogenezle ilişkili belirteçler ve ekstrasellüler matriks adezyon molekülleridir (Habuchi ve ark., 2005).

Prognoz belirlenmesinde kullanılan biyolojik tümör belirteçlerine daha çok doku örneklerinden bakılmaktadır. İdeal bir tümör belirteci; kanser dokusuna özel olmalı, tümör meydana geldiği zaman serumda veya diğer vücut sıvılarında belirlenebilmeli, kullanılan test tekniği kolay uygulanabilir ve güvenilir olmalı, serum düzeyleri tümörün derecesi ve hacmiyle orantılı olmalı ve tedavi sonrası prognozu tahmin edebilmelidir. Bu gün mesane tümörü için organa özgül bir tümör belirteci yoktur. Ancak mesane tümörlerinde kullanılmasında yarar görülen tümör belirteçleri Tablo 5'te gösterilmiştir.

## **2.9. MK Tedavisi:**

Mesane tümörlerinin derece ve evresi farklılık gösterdiğinden tedavi protokolleri de çok çeşitlidir. Bu açıdan tedavi planı hazırlanırken hastalar yüzeysel (Ta, T1, Tis), lokal infiltratif (T2, T3a, T3b T4a) ve metastatik (T4b, N+, M+) olmak üzere üç ayrı grupta değerlendirilerek; her bir grup için transuretral rezeksiyon (TUR), intrakaviter adjuvan tedavi, intravezikal immünoterapi, parsiyel sistektomi, radikal sistektomi ve kemoterapi seçeneklerinden uygun olanı/olanları kullanılmalıdır (Duque ve Loughlin, 2000; Gschwend ve ark., 2000; Newling ve ark., 2001; Meijden ve Sylevester, 2003).

**Tablo 5.** Mesane Tümörlerinin Tespit ve Takibinde Kullanılan Tümör Belirteçleri (Vınata ve ark., 2005).

TEST	TESPİT EDİLEN BELİRTEÇ	DUYARLILIK (%)	ÖZGÜLLÜK (%)
Sitoloji	Tümör Hücreleri	11-76	>90
Hematüri Tespiti	Kırmızı Kan Hücresi	~100	~100
NMP-22 <sup>1</sup>	Nükleer mitotik protein cisimciği	47-100	55-80
Survivin	Apopitozis gen ailesinin inhibitör bir üyesi	100	87-100
UBC <sup>2</sup>	Sitokeratin 8 ve 18	36-79	88-92
Sitokeratin 20	Sitoskeletal protein	82-87	55-70
HA-HAaz	Hyalüronik asit ve hyalüronidaz	88-94	63-71
Mikrosatellit DNA Testi	Kromozomlardaki mikrosatellit belirteçler	72-97	>95
<i>Telomeraz (TRAP<sup>3</sup> yöntemi)</i>	<i>Enzim aktivitesi</i>	<i>70-90</i>	<i>60-70</i>

<sup>1</sup>NMP: Nuclear matrix protein.

<sup>2</sup>UBC: Urinary Bladder Cancer.

<sup>3</sup>TRAP: Telomeric Repeat Amplification Protocol.

Buraya kadar mesane kanseriyle ilgili genel bilgilerden anlaşılacağı üzere mesane kanserinin gelişiminde ve ilerlemesinde ksenobiyotikler ve onların vücuttaki metabolizması önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle biz ksenobiyotik metabolizmasında temel rol oynayan *CYP1A2*, *CYP2D6*, *GSTM1*, *GSTP1* ve *GSTT1* genleri varyantlarının mesane kanseri ile ilişkisini ortaya koymaya çalıştık. Bunu yaparken kullandığımız materyal,



izlediğimiz metot, elde ettiğimiz bilgiler, tartıştığımız konular ve sonuçlarımız tezin ilerleyen bölümlerinde yazılmıştır.

### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Çalışma Populasyonunun Oluşturulması, Kan Örneklerinin ve Epidemiyolojik Verilerin Toplanması

Bu çalışmaya, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Üroloji A.D. ve GATA Üroloji A.D.'nda Ocak 2005 ve Mayıs 2007 tarihleri arasında klinik ve patolojik olarak mesane kanseri tanısı konan toplam 135 hasta katıldı. Hastaların 109 tanesi OMÜ'de, 26 tanesi GATA'da tanı konan ve tedavi edilen hastalardı. GATA'da tanı konan ve tedavi edilenlerin 8'i Karadeniz bölgesindedi. Kontrol grubu da benzer demografik özellikler gösteren ve hastalarla ve kendi aralarında akrabalık bağlantısı göstermeyen 128 kişi tarafından oluşturuldu. Böylece çalışma grubunu %87'si Karadeniz Bölgesinde yaşayan kişiler tarafından oluşturuldu. Çalışmaya katılan tüm hastalar ve kontrol grubunu oluşturan kişiler, çalışma ile ilgili olarak bilgilendirilerek aydınlatıldı ve kendileri ya da yasal vasileri tarafından, örneği Ek-A'da yer alan "Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formları" imzalandı. Daha sonra hasta ve kontrol grubunu oluşturan kişilerden 5'er ml periferik venöz kan alındı. Çalışmaya katılan kişilerin tamamının hastalıkla ilgili aile öyküsü, daha önce geçirilen hastalıkları, sigara ve alkol kullanım durumları ayrıntılı olarak sorgulanarak bunlarla ilgili örneği Ek-B'de yer alan "Hasta Bilgi Formu" dolduruldu. Hasta ve kontrol grubunu oluşturanların mesane kanseri ve diğer bazı hastalıklarla (diğer kanserler, hipertansiyon ve kalp hastalığı) ilgili özgeçmiş ve soy geçmişi sorgulanarak Hasta Bilgi Formuna kaydedildi.

Tez çalışmalarına başlamadan önce Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Başkanlığı'ndan yazılı olarak izin alındı.

DNA izolasyonu 'tuz çöktürme' yöntemi kullanılarak yapıldı (Miller ve ark., 1988).

#### 3.2 Kullanılan Cihazlar ve Kimyasal Maddeler

##### Cihazlar;

- Termal döngü cihazı (Biolab, İngiltere, ABI/PRISM Applied Biosystems, U.S.A)
- Yatay elektroforez sistemi (Scie-Plas, İngiltere)
- Elektroforez güç kaynağı (Waaltec, Tayvan)
- UV transillumunator (Vilber Laurmat, Fransa)

- UV görüntü analiz sistemi (Biolab, İngiltere)
- Soğutmalı santrifüj (Nüve, Türkiye)
- Soğutmalı mikrosantrifüj (Hettich, Almanya)
- Su banyosu ( Nüve, Türkiye)
- Hassas terazi (Mettler AJ 100, Almanya)
- pH metre (Hanna, Almanya)
- Pastör fırını (Heraus, Almanya)
- Isıtıcı (Hotplate, Almanya)
- Otomatik pipetler (Eppendorf, Almanya; Capp, Danimarka)
- Vorteks (Nüve, Türkiye)
- Etüv (Dedeoğlu, Türkiye)
- İnkübasyon cihazı (Innogenetics, Avusturya)

### **Kimyasal Maddeler;**

- Agaroz (Sigma)
- Sükroz (Merck)
- Tris (Merck)
- EDTA, sodyum tuzu (Merck)
- SDS, Sodyumdodesilsülfat (Sigma)
- Etil alkol (Sigma)
- NaCl (Merck)
- Sodyum hidroksit (Merck)
- Magnezyum klorür (Merck)
- Borik asit (Sigma)
- Triton X-100 (Sigma)
- Etidyum bromür (Sigma)
- Proteinaz-K (Sigma)
- Taq DNA polimeraz enzimi (Promega ve Fermentas)
- Restriksiyon enzimleri (Takara ve Fermentas)
- 10 X PCR buffer (Bioron, Takara ve Fermentas)
- Deoksisiribonükleosid trifosfatlar (dNTPs, Promega)
- PCR Primerleri (Iontek ve Fermentas)

### 3.3. Kullanılan Solüsyonların Hazırlanması

#### 0.5M EDTA, pH 8.0:

- 18.61 g disodyum EDTA.
- 80 ml bidistile H<sub>2</sub>O içinde çözülür.
- Solüsyona 2 g NaOH tableti atılarak eritilir.
- pH 8'e ulaştığında bidistile H<sub>2</sub>O ile 100 ml'ye tamamlanır.
- Otoklavda steril edilir.
- Oda ısısında saklanır.

#### Doymuş NaCl (6M) Solüsyonu:

- 7 gr NaCl.
- 20 ml bidistile H<sub>2</sub>O içinde çözülür.
- Otoklavda steril edilir.
- Oda ısısında saklanır.

#### 1M Tris pH 7.5:

- 12.11 g Tris-bazı.
- 80 ml bidistile H<sub>2</sub>O içinde çözülür.
- pH HCl ile 7.5'a ayarlanır.
- Bidistile H<sub>2</sub>O ile 100 ml'ye tamamlanır.
- Otoklavda steril edilir.
- Oda ısısında saklanır.

#### 10X TBE (Stok solüsyon):

- 108 g Tris-bazı (0.9M).
- 55 g Borik asit (0.9M).
- 40 ml 0.5M EDTA, pH 8.0 (20 mM).
- Tris-base ve borik asit 700 ml bidistile H<sub>2</sub>O içinde çözülür.
- EDTA eklenir.
- Bidistile H<sub>2</sub>O ile 1000 ml'ye tamamlanır.
- Oda ısısında saklanır.

**1X TBE (Çalışma solüsyonu):**

- 100 ml 10X TBE stoktan.
- 900 ml bidistile H<sub>2</sub>O eklenir.

**Etidyum bromür solüsyonu (10 mg/ml):**

- 1 g etidyum bromür.
- 10 ml bidistile H<sub>2</sub>O içinde çözülür.
- Işık almayan bir şişe içinde +4 °C'de saklanır.
- Stok solüsyondan, çalışma solüsyonu 0.5 mg/ml olacak şekilde hazırlanır.

**3.4. DNA İzolasyonu**

DNA izolasyonunda kullanılan solüsyonlar ve içerikleri aşağıda anlatılmıştır.

**Lizis Tamponu:**

- 320 mM Sükroz (Merck)
- 10 mM Tris (Merck) pH 7.5
- 4 mM MgCl<sub>2</sub> (Merck)
- %1 Triton X 100 (Sigma)
- Distile suyla 1000 ml'ye tamamlanır. Solüsyon hazırlandıktan sonra otoklavlanır.

**TEN tamponu :**

- 10 mM Tris (Merck) pH 8
  - 2 mM EDTA (Merck)
  - 400 mM NaCl (Merck)
- Distile suyla 50 ml'ye tamamlanır. Solüsyon hazırlandıktan sonra otoklavlanır.

**Proteinaz K (Sigma) Solüsyonu :**

10 ml 500 mM'luk Tris (pH 8) solüsyonu içine 100 mM'luk CaCl<sub>2</sub>'den 0.1 ml ilave edilir ve 100 mg proteinaz K solüsyona eklenir. Bu şekilde 10 mg/ml proteinaz K solüsyonları hazırlanır.

**% 10 SDS (Sodyum Dodesil Sülfat) (Sigma):**

10 gr SDS alınır ve 100 ml distile su içinde çözülür.

**Doymuş NaCl Solüsyonu (6M) :**

7 gr tartılıp, distile su ile 20 ml'ye tamamlandıktan sonra otoklavlanır.

**%70 Etil alkol:**

70 ml %99.5 etil alkol alınır ve 30 ml bidistile H<sub>2</sub>O eklenir ve -20 °C'de saklanır.

**TE Solüsyonu :**

-10 mM Tris pH 7.5

-1mM EDTA

-Hazırlamak için 500 mM Tris pH 7.5 stok solüsyonundan 1 ml, 100 mM EDTA stok solüsyonundan 0.5 ml alınır distile su ile 50 ml'ye tamamlanır.

**İki gün süren DNA izolasyonu işlemleri sırasında izlenen yöntem aşağıda anlatılmıştır.**

**1. Gün:**

1-5 ml EDTA'lı tam kanlar 50 ml'lik polipropilen tüplere döküldü.

2-Kan örneklerinin üzerine, 15'er ml. lizis tamponu konularak kapakları kapatıldı ve 2-3 saniye kadar çalkalandı.

3-Örnekler 2200 rpm'de, 4°C'de, 15 dakika santrifüj yapıldı. Tüpün üzerindeki süpernatant pastör pipeti ile atıldı.

4-Lizis tamponu ile yapılan işlem iki kez daha tekrarlandı.

5-Lizis tamponu ile son olarak yapılan üçüncü işlemde sonra, dipte kalan temiz çökelti üzerine 3'er ml TEN tamponu konularak, 2-3 saniye çalkalandı.

6-Örneklerin üzerine 200'er µl %10'luk SDS ve 50'şer µl Proteinaz K ilave edilerek, tüpler elle çalkalanarak nazik bir şekilde karıştırıldı.

7- Birinci gün işlemleri bu şekilde bitirildikten sonra 50 ml'lik propilen tüpler içerisindeki örnekler, bir gece, 37°C'deki inkübatörde hafif çalkalanarak inkübe edildi.

## 2. Gün:

- 1-İkinci gün örneklerin üzerine 1'er ml 6 M'lık NaCl solüsyonundan konuldu ve 2-3 saniye vortekslendi
- 2-2600-2700 rpm'de 15 dakika santrifüj yapıldı.
- 3-Üstteki süpernatantlar 15 ml'lik başka tüplere alındı, tekrar 3300 rpm'de oda ısısında 30 dakika santrifüj edildi.
- 4-Süpernatantlar 15 ml'lik başka tüplere alındı.
- 5-Her bir örnekte süpernatantın iki katı hacimde saf etil alkol ilave edilerek DNA çöktürüldü.
- 6- Her bir örnek için elde edilen DNA'lar, pipet ucu ile alınarak, ayrı ayrı içlerinde 1'er ml % 70'lik etil alkol bulunan ependorf tüplerinin içine konuldu.
- 7-İçlerinde DNA bulunan 1.5 ml.'lik tüpler, 10 dakika 13000 devirde santrifüj yapıldıktan sonra, üstteki alkol ince uçlu pastör pipeti ile çekilerek atıldı. Çöktürülen DNA, tüplerin ağzı açık bırakılarak 37°C'de etüvde 20 dakika bekletilerek alkolün uçarak tamamen uzaklaşması sağlandı.
- 8-DNA örneklerinin üzerine 150'şer µl TE tamponu ilave edilerek ve tüplerin ağzı kapatıldıktan sonra 37°C'de etüvde çözünmesi için 2-3 saat bekletildi.
- 9-Son olarak örnekler çözüldükten sonra, 10 µl stok DNA örneği, içinde 1 ml distile su bulunan 1.5 ml.'lik tüplere alındı. Karışım vortekslendikten sonra spektrofotometrede 260 nm ve 280 nm'de optik yoğunluk ölçülerek DNA'nın miktarı ve saflığı tayin edildi.
- 10-Elde edilen stok DNA örnekleri -20°C'de saklanmaktadır.

### 3.5. DNA Konsantrasyonunun Hesaplanması

DNA konsantrasyonu hesap edilirken sıra ile aşağıdaki işlemler yapıldı.

- 1-Her örnek için ayrı ayrı 990'ar µl saf su, daha önceden üzerleri etiketlenerek hazırlanmış 1.5 ml.'lik tüplere konuldu.
- 2-Üzerlerine her örnekten ayrı ayrı 10'ar µl stok DNA eklendi.
- 3-Örnekler vortekslendi.

4-Örneklere santrifüjde 2-3 sn. döndürme işlemi yapıldı.

5- Konsantrasyon ölçümü için 1 ml hacimli iki adet quartz tüp kullanıldı. Bunlardan kör olarak kullanılacak olan tüpe 1000 µl saf su, ikinci tüpe ise içerisinde 10 µl genomik DNA ve 990 µl saf su bulunan 1000 µl'lik karışım konuldu. DNA örneklerinin bulunduğu tüplerin, spektrofotometrede 260 nm dalga boyunda ölçülen OD<sub>260</sub> değerleri kaydedildi. Daha sonra, elde edilen bu OD<sub>260</sub> değerlerine göre her örneğin DNA konsantrasyonu aşağıdaki formülle ayrı ayrı hesap edilerek kaydedildi.

$$\text{DNA Konsantrasyonu} = (\text{OD})_{260} \times \text{Sulandırma katsayısı (100)} \times 50 \mu\text{l/ml (çift zincirli DNA'lar için standart)}$$

### 3.6. *CYP1A2* Geninin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)/Restriksiyon Parçacığı Uzunluk Polimorfizmi (RPUP) Yöntemi ile Genotiplenmesi

*CYP1A2*'nin C734A polimorfik bölgesi, PZR-RPUP yöntemi ile belirlendi (Basile ve ark., 2000). 15q24'te lokalize *CYP1A2* geninin 1. intronunda yer alan C734A substitüsyonunu içeren 370 bç'lik segment, PZR ile çoğaltıldı. Amplifikasyon reaksiyonu 25 µl toplam hacim içinde, her reaksiyon için, 1x reaksiyon tamponu [10mM Tris-HCl (pH 8.3), 50 mM KCl, %0.001'lik jelatin], 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 200 µM dNTP, her primerden 0.8 µM, 200 ng genomik DNA ve 1 ünite *Taq polimeraz* (Promega, Madison, WI) eklenerek gerçekleştirildi. PZR reaksiyonları sırasında kontaminasyon olasılığını kontrol etmek için negatif kontroller kullanıldı. Çalışılan negatif kontroller içerisine reaksiyon karışımı konuldu, fakat DNA yerine 2 µl distile su eklendi. Bu çalışmada araştırılan beş gen için kullanılan tüm primerler ve restriksiyon enzimleri Tablo 6'da gösterilmiştir. *Taq polimeraz* enzimi, reaksiyon karışımına eklenmeden önce PZR karışımı 99°C'de 3 dakika başlangıç denatürasyonuna tabi tutuldu. Daha sonra 94°C'de 60 saniye denatürasyon, 57°C'de 60 saniye bağlanma ve 72°C'de 60 saniye olmak üzere uzatma termal döngüleme cihazında 35 döngü PZR uygulandı. PZR ürünleri 37°C'de bir gece *Bsp120I* (MBI, Fermentas, Lithuania) restriksiyon enzimi ile kesildi. On µl PZR ürünü 10 ünite enzim kullanılarak kesildi. Elde edilen ürünler, %2'lik agaroz jelde yürütülerek UV ışığı altında görüntülendi. Jel üzerinde görüntülenen 370 bç'lik parçacıklar AA genotipi; 370 bç, 240 bç ve 130 bç'lik



parçacıklar AC genotipi ve 240 bç ve 130 bç'lik parçacıklar CC genotipi olarak değerlendirildi.

**Tablo 6.** Çalışılan genlerin primerleri ve restriksiyon enzimleri.

<b>GEN</b>	<b>PRİMER</b>	<b>RESTRİKSİYON ENZİMİ</b>
<b><i>CYP1A2</i></b>	(F) 5'-CTA CTC CAG CCC CAG AAG TG-3' (R) 5'-GAA GGG AAC AGA CTG GGA CA-3'	<i>Bsp1201</i>
<b><i>CYP2D6</i></b>	(F) 5'-GCC TTC GCC AAC CAC TCC G-3' (R) 5'-AAA TCC TGC TCT TCC GAG GC -3'	<i>BstNI</i>
<b><i>GSTM1</i></b>	(F) 5'-GAA CTC CCT GAA AAG CTA AAG C-3' (R) 5'-GTT GGG CTC AAA TAT ACG GTG G-3'	-
<b><i>GSTT1</i></b>	(F) 5'-TTC CTT ACT GGT CCT CAG ATC TC-3' (R) 5'- TCA CCG GAT CAT GGC CAG CA-3'	-
<b><i>GSTP1</i></b>	(F) 5'-GCC CTC TGC TAA CAA GTC CTA-3' (R) 5'-GCC CTA AAA AGA AAA TCG CCA ATC -3'	<i>Alw 261</i>

### 3.7. *CYP2D6* Geninin PZR/RPUP Yöntemi ile Genotiplenmesi:

22q13.1'de lokalize *CYP2D6*'nın polimorfik bölgesi, PZR-RPUP yöntemi ile belirlendi (Sobti ve ark., 2005). *CYP2D6* geninin intron 3 ve ekzon 4 birleşim yerindeki G1934A transiyonunu içeren 334 bç'lik segment, PZR ile çoğaltıldı. Amplifikasyon reaksiyonu 25 µl toplam hacim içinde, 1x reaksiyon tamponu [10mM Tris-HCl (pH 8.3), 50 mM KCl, %0.001'lik jelatin ], 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 200 µM dNTP, her primerden 0.5 µM (Tablo 6), 200 ng genomik DNA ve 1.5 ünite *Taq polimeraz* (Promega, Madison, WI) eklenerek gerçekleştirildi. PZR reaksiyonları sırasında kontaminasyon olasılığını kontrol etmek için negatif kontroller kullanıldı. Çalışılan negatif kontroller içerisine reaksiyon karışımı konuldu, fakat DNA yerine 2 µl distile su eklendi. 95°C'de 5 dakika başlangıç denatürasyonunu takiben; 94°C'de 60 saniye denatürasyon, 57°C'de

60 saniye bağlanma ve 72°C'de 60 saniye uzatma olmak üzere termal döngüleme cihazında toplam 35 döngü PZR uygulandı. On µl PZR ürünü 2 ünite *MvaI* (MBI, Fermentas, Lithuania) restriksiyon enzimi 37°C'de bir gece inkübe edilerek kesildi ve elde edilen ürünler, %2'lik agaroz jelde yürütülerek UV ışığı altında görüntülendi. Her örnek için jelde ortaya çıkan 230 ve 104 bç'lik parçacıklar yaygın metabolize edici normal alelleri (GG); 334, 230 ve 104 bç'lik parçacıklar heterozigotları (AG); kesilmeyen 334bç'lik tek bir parçacıklar zayıf metabolize edici varyant alelleri (AA) gösterdi.

### 3.8. *GSTM1* ve *GSTT1* Genlerinin Multipleks PZR Yöntemi ile Genotiplenmesi

1p13.3'te lokalize *GSTM1* ve 22q11.23'te lokalize *GSTT1* genlerinin seçilen bölgeleri üç çift primer kullanılarak multipleks PZR ile çoğaltıldı (Arand ve ark., 1996). *GSTM1* ve *GSTT1* genleri ile birlikte internal kontrol olarak albumin geni kullanıldı. Amplifikasyon reaksiyonu 25 µl'lik toplam hacim içinde, 1x PZR tamponu, 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 200 µM dNTP, her primerden 0.4 µM (Tablo 6), %5 DMSO, 200 ng genomik DNA ve 2.0 ünite *Taq polimeraz* (Promega, Madison, WI) eklenerek gerçekleştirildi. PZR reaksiyonları sırasında kontaminasyon olasılığını kontrol etmek için negatif kontroller kullanıldı. Çalışılan negatif kontroller içerisine reaksiyon karışımı konuldu, fakat DNA yerine 2 µl distile su eklendi. Her PZR'de delesyon olmayan bireye ait pozitif kontrol DNA'sı kullanıldı. İki ünite *Taq DNA polimeraz*, 95°C'de 5 dakika başlangıç denatürasyonunu takiben eklendi. 94°C'de 60 saniye denatürasyon, 59°C'da 60 saniye bağlanma ve 72°C'da 60 saniye uzatma olmak üzere termal döngüleme cihazında 35 döngü PZR uygulandı. Son olarak 72°C'de 5 dakika son sentez basamakları uygulandı. Amplifikasyon reaksiyonu sonrasında oluşan ürünler %2'lik agaroz jelde yürütülerek UV ışığı altında görüntülendi. Jelde ortaya çıkan 480, 215 ve 350 bç'lik bantlar, sırası ile; *GSTM1*, *GSTT1* ve internal kontrol olarak kullanılan albumin genlerini gösterdi.

### 3.9. *GSTP1* Geninin PZR/RPUP Yöntemi ile Genotiplenmesi

11q13.3'te lokalize *GSTP1*'in polimorfik bölgesi ile PZR yöntemi ile çoğaltıldı (Ryk ve ark., 2005). Amplifikasyon reaksiyonu 25 µl'lik toplam hacim içinde; 1x PZR tamponu, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.10 mM dNTP, her primerden 0.35 µM (Tablo 6) ve 200 ng

genomik DNA eklenerek gerçekleştirildi. 1.5 ünite *Taq DNA polimeraz*, 95°C'de 5 dakika başlangıç denatürasyonunu takiben eklendi. PZR reaksiyonları sırasında kontaminasyon olasılığını kontrol etmek için negatif kontroller kullanıldı. Çalışılan negatif kontroller içerisine reaksiyon karışımı konuldu, fakat DNA yerine 2 µl distile su eklendi. 94°C'da 15 saniye denatürasyon, 58°C'da 30 saniye bağlanma ve 72°C'de 30 saniye uzatma olmak üzere termal döngüleme cihazında toplam 35 döngü PZR uygulandı. Son olarak 72°C'de 5 dakika son sentez basamakları uygulandı. On µl PZR ürünü 5 ünite Alw261 (MBI, Fermentas, Lithuania) restriksiyon enzimi ile 37°C'de bir gece kesildi. Elde edilen ürünler %2'lik agaroz jelde yürütülerek UV ışığı altında görüntülendi. Jel görüntüsüne göre her bir örnekte; 294 bç uzunluğundaki parçacıklar 105Ile/105Ile genotipini; 234 ve 60 bç'lik parçacıklar 105Val/105Val genotipini; 294, 234 ve 60 bç'lik parçacıklar ise 105Val/105Ile genotipini gösterdi.

### **3.10. İstatistik Değerlendirme**

Bu çalışmada araştırılan Mendeliyen kalıtım gösteren genlerin, hesap edilen genotip ve allel frekanslarının, Hardy-Weinberg eşitliğine uygunluğu ki-kare testi ile kontrol edildi. Tanımlayıcı istatistikler kesikli veriler için sayı/yüzde, sürekli veriler için ortalama  $\pm$  standart sapma olarak gösterildi. Gruplar arası karşılaştırmalarda ki-kare testi kullanıldı. Risk hesaplamalarında lojistik regresyon analizi kullanıldı ve olasılıklar oranı ve %95 güven aralığı hesaplanarak değerlendirme yapıldı. Yaş, cinsiyet, sigara ve alkol içme durumları ile ilgili değerlendirmeler çok değişkenli lojistik regresyon analizine göre yapıldı. İstatistik yöntemlerde "Fisher Exact" test kullanıldı. Verilerin istatistiksel analizinde SPSS 11.5 paket programı kullanıldı.

## 4. BULGULAR

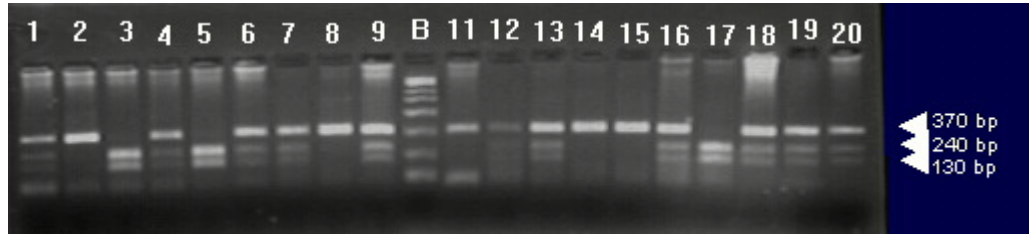
### 4.1. Çalışma grubu ile ilgili demografik verilerin değerlendirilmesi

Bu çalışmaya, 135'i mesane kanserli hasta ve 128'i kendisinde ve ailesinde mesane kanseri olmayan toplam 263 kişi katıldı. Çalışmaya katılanların ayrıntılı demografik verileri ile sigara ve alkol hikayeleri Tablo 7'de verilmiştir. Çalışmaya katılan hasta grubunun %90.4'ü erkeklerden ve % 9.6'sı kadınlardan oluşuyordu. Buna karşılık kontrol grubunu oluşturanların %83.6'sı erkeklerden ve %16.4'ü kadınlardan oluşuyordu. Çalışma grubunun yaşları incelendiğinde hastaların %89.8'inin, kontrol grubunun ise %79.3'ünün yaşları 51 ve üzerinde idi.

Tablo 7'de cinsiyet, yaş, sigara ve alkol kullanımı ile mesane kanseri arasındaki risk bağlantısı ortaya konmaktadır. Risk hesaplamaları yapılırken, tabloda yer alan her bir değişkenin riski diğer değişkenlere göre düzeltilerek analiz yapıldı (multivariate). Çalışmamızda mesane kanserine yakalanma riski 51-70 yaş arası kişilerde istatistiksel anlamlılık sınırına yakın bulundu. Bulgumuz mesane kanserinin bir yaşlı hastalığı olduğunu desteklemektedir. Ayrıca günde 1 paketten az sigara içenlerde mesane kanserine yakalanma riski anlamlık sınırına yakın bulundu. Günde yaklaşık bir paket sigara içenlerde ise mesane kanseri gelişme riskinin yaklaşık 2 kat arttığı belirlendi (OR, 1.974 %95 CI, 1.055-3.472). Günde iki paketten fazla sigara içenlerde ise mesane kanseri riski açısından istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte yaklaşık 2 katlık bir risk artışı belirlendi. İstatistiksel olarak anlamsız sonuç bulunmasının nedeni günde iki paketten fazla sigara içen hasta ve kontrol bireylerinin sayısının az olmasına bağlanabilir. Her gün alkol içenlerde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yaklaşık iki kat mesane kanserine karşı koruyucu bir etki tespit edildi. Ancak hasta ve kontrol grubunun yetersiz olması ve toplumumuzda alkol kullanımıyla ilgili sorularla kişilerin gerçek alkol kullanım miktarlarının tam olarak belirlenememesi bu sonuçların güvenilirliğini düşürmektedir. Ayrıca Tablo7'ye göre cinsiyet, 71 yaş üzeri bireyler ve her gün alkol kullananlar dışında alkol alanlar ile mesane kanseri geliştirme riski arasında ilişki kurulamadı.

#### 4.2. *CYP1A2* geni polimorfizmiyle ilgili bulgular

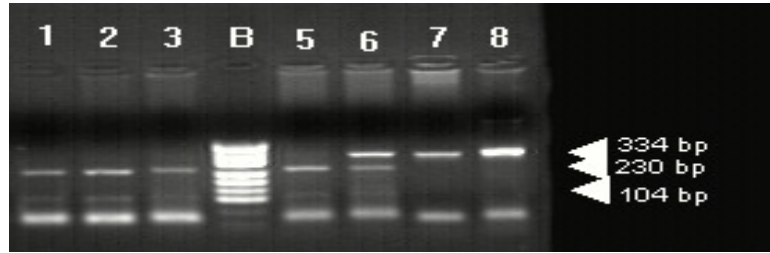
Çalışma ve kontrol grubunda *CYP1A2* geninin C734A bölgesi genotipleri belirlendi. Çalışılan örneklerin bir kısmına ait agaroz jel elektroforez görüntüsü Şekil 6'da gösterilmiştir. Şekil 6'da *Bsp*120I ile kesim sonrasında enzimin tanıma bölgesi olup olmamasına göre ortaya çıkan 130, 240 ve 370 bç'lik parçacıklara ait bantlar görülmektedir. Restriksiyon enzimi ile kesim sonrasında elde edilen ürünleri tanımlayabilmek maksadıyla belirteç kullanılmıştır.



**Şekil 6.** Fotoğraftaki agaroz jelde 19 adet örneğe ait *CYP1A2* geninin PZR/RPUP yöntemi ile oluşan DNA bant görüntüleri yer almaktadır. Bu bant görüntülerine göre AA genotipini gösteren kuyular 2, 8, 11, 14 ve 15. kuyulardır. AC genotipini gösteren kuyular 1, 4, 6, 7, 9, 13, 16, 18, 19 ve 20. kuyulardır. CC genotipini gösteren kuyular 3, 5 ve 17. kuyulardır. Bant görüntüsü net olmayan 12. kuyudaki örnek tekrar çalışılmıştır. Belirteç olarak yüklenen 100 bç'lik belirteç 10. kuyuda yer almaktadır. Bu belirteç 11 tane parçacık içermektedir ve parçacık uzunlukları 1031 bç, 900 bç, 800 bç, 700 bç, 600 bç, 500 bç, 400 bç, 300 bç, 200 bç, 100 bç ve 80 bç.

### 4.3. *CYP2D6* geni polimorfizmiyle ilgili bulgular

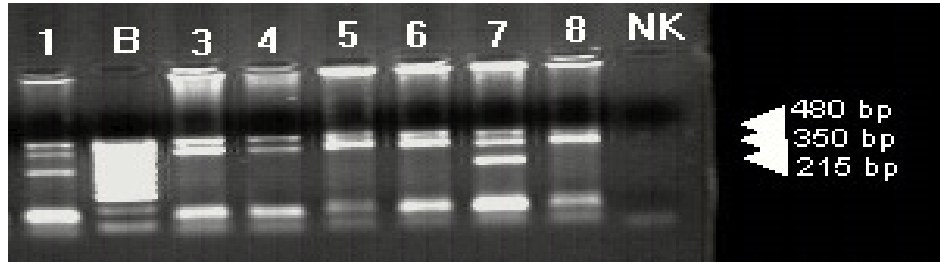
Çalışma ve kontrol grubunda *CYP2D6* geninin G1934A polimorfik bölgesi genotipleri belirlendi. Çalışılan örneklerin bir kısmına ait agaroz jel elektroforez görüntüsü Şekil 7'de gösterilmiştir. Şekil 7'de *Mva* I ile kesim sonrasında enzimin tanıma bölgesi olup olmamasına göre ortaya çıkan 104, 230 ve 334 bç'lik parçacıklara ait bantlar görülmektedir. Restriksiyon enzimi ile kesim sonrasında elde edilen ürünleri tanımlayabilmek maksadıyla belirteç kullanılmıştır.



**Şekil 7.** Fotoğraftaki agaroz jelde 7 adet örneğe ait *CYP2D6* geninin PZR/RPUP yöntemi ile oluşan DNA bant görüntüleri yer almaktadır. Bu bant görüntülerine göre AA genotipini gösteren kuyular 7 ve 8. kuyulardır. AG genotipini gösteren kuyu 6. kuyudur. GG genotipini gösteren kuyular ise 1, 2, 3, ve 5. kuyulardır. Belirteç olarak yüklenen pUC / *Msp*I adlı DNA belirteci 4. kuyuda yer almaktadır. Bu belirteç 12 tane parçacık içermektedir ve parçacık uzunlukları 501 bç, 489 bç, 404 bç, 331 bç, 242 bç, 190 bç, 147 bç, 111 bç, 110 bç, 67 bç, 34 bç ve 26 bç'dir.

#### 4.4. *GSTM1* ve *GSTT1* genleri polimorfizmiyle ilgili bulgular

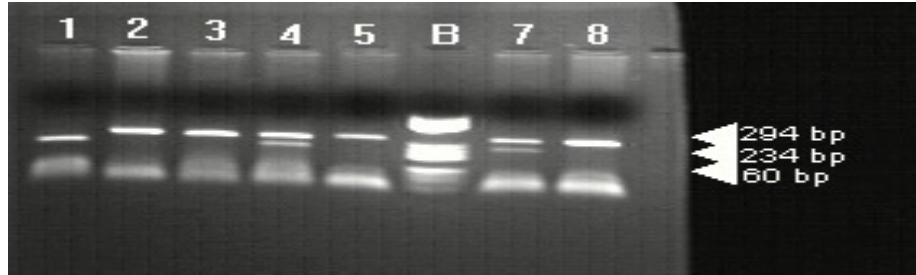
*GSTM1* ve *GSTT1* genleri, delesyon polimorfizmi gösterdiklerinden örneklerin genotiplenmesi restriksiyon enzimi kullanılmadan, multipleks PZR yöntemi ile yapıldı. Genotiplenmenin doğru bir şekilde yapılabilmesi için internal kontrol olarak albumin geni, belirteç ve kontaminasyon riskine karşı negatif kontrol kullanıldı. Çalışılan örneklerle ait agaroz jel elektroforez görüntüsü Şekil 8’de gösterilmiştir. İnternal kontrol olarak kullanılan albumin geninin çoğaltılan kısmının uzunluğu 350 bç’dir. Jelde 215 ve 480 bç’lik bantların varlığı (pozitif) ya da yokluğu (null) sırasıyla *GSTM1* ve *GSTT1* genlerinin genotipini göstermektedir.



**Şekil 8.** Fotoğraftaki agaroz jelde 7 adet örneğe ait *GSTM1* ve *GSTT1* genlerinin ve internal kontrol olarak kullanılan albumin geninin multipleks PZR yöntemi ile ortaya konan DNA bant görüntüleri yer almaktadır. Jelde yer alan kuyulardan 1. ve 7. kuyular *GSTM1* (+) / *GSTT1* (+) genotiplerini; 3, 4, 5 ve 6. kuyular *GSTM1* (0) / *GSTT1* (+) genotiplerini; 8. kuyu ise *GSTM1* (0) / *GSTT1* (0) genotiplerini göstermektedir. Negatif kontrol 9. kuyuya yüklenmiştir. Belirteç olarak yüklenen pUC/MspI adlı DNA belirteci 2. kuyuda yer almaktadır. Bu belirteç 12 tane parçacık içermektedir ve parçacık uzunlukları 501 bç, 489 bç, 404 bç, 331 bç, 242 bç, 190 bç, 147 bç, 111 bç, 110 bç, 67 bç, 34 bç ve 26 bç’dir.

#### 4.5. *GSTP1* geni polimorfizmiyle ilgili bulgular

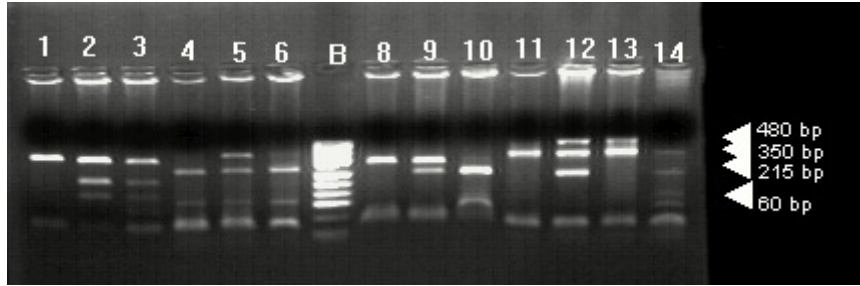
Çalışma grubunda *GSTP1* geninin polimorfik bölgesi ve genotipler PZR/RPUP yöntemi ile belirlendi. Çalışılan örneklerin bir kısmına ait agaroz jel elektroforez görüntüsü Şekil 9'da gösterilmiştir. Şekil 9'da, *Alw* 26I ile kesim sonrasında enzimin tanıma bölgesi olup olmamasına göre ortaya çıkan 60, 234 ve 294 bç'lik parçacıklara ait bantlar görülmektedir. Restriksiyon enzimi ile kesim sonrasında elde edilen ürünleri tanımlayabilmek maksadıyla belirteç kullanılmıştır.



**Şekil 9.** Fotoğraftaki agaroz jelde 7 adet örneğe ait *GSTP1* geninin PZR/RPUP yöntemi ile oluşan DNA bant görüntüleri yer almaktadır. Bu bant görüntülerine göre II genotipini gösteren kuyular 2, 3, 5 ve 8. kuyulardır. IV genotipini gösteren kuyular 4 ve 7. kuyulardır. VV genotipi ise yalnızca 1. kuyuda yer almaktadır. Belirteç olarak yüklenen pUC/MspI adlı DNA belirteci 6. kuyuda yer almaktadır. Bu belirteç 12 tane parçacık içermektedir ve parçacık uzunlukları 501 bç, 489 bç, 404 bç, 331 bç, 242 bç, 190 bç, 147 bç, 111 bç, 110 bç, 67 bç, 34 bç ve 26 bç'dir.



Bu çalışmada yer alan tüm genlerin daha önce genotipleme yapılan ve farklı genotiplere ait örnekleri birlikte göstermek amacıyla hepsi bir agaroz jel üzerinde görüntülenmiştir ve bu fotoğraf Şekil 10’da verilmiştir.



**Şekil 10.** Fotoğraftaki agaroz jeldeki ilk üç kuyudaki bantlar *CYP1A2*'ye ait sırasıyla AA, AC ve AC genotiplerini göstermektedir. 4, 5, 6. kuyudaki bantlar *CYP2D6*'ya ait sırasıyla GG, AG ve GG genotiplerini göstermektedir. *GSTP1*'e ait sırasıyla II, IV ve VV genotiplerine ait bantlar 8, 9 ve 10. kuyularda yer almaktadır. 11, 12, 13 ve 14. kuyulardaki bantlar ise sırasıyla *GSTM1* (0) / *GSTT1* (0), *GSTM1* (+) / *GSTT1* (+), *GSTM1* (0) / *GSTT1* (+) ve *GSTM1* (+) / *GSTT1* (0) genotipleri göstermektedir. 7. kuyuya pUC/MspI adlı DNA belirteci yüklenmiştir. Bu belirteç 12 tane parçacık içermektedir ve parçacık uzunlukları 501 bç, 489 bç, 404 bç, 331 bç, 242 bç, 190 bç, 147 bç, 111 bç, 110 bç, 67 bç, 34 bç ve 26 bç'dir.

Çalışmamızda incelenen beş genin genotip ve allel frekanslarının hasta ve kontrol grubundaki dağılımı detaylı olarak Tablo 8 ve Tablo 9'da gösterilmiştir. Yapılan istatistiksel analizlere göre yalnızca *GSTT1* null genotip ile mesane kanseri arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (OR, 0.254; %95 CI, 0.115-0.558) (Tablo 9). Bu sonuca göre *GSTT1* null genotipli kişilerin yaklaşık dört kat fazla mesane kanseri geliştirme riskine sahip oldukları söylenebilir. Bu ilişkiyi diğer bir şekilde ifade edecek olursak *GSTT1* pozitif genotipinin, mesane kanseri için koruyucu faktör olduğu söylenebilir. Ayrıca istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte *CYP1A2* CC genotipli (OR,

1.735; %95 CI, 0.874-3.443) ve GSTP1 VV genotipli (OR, 1,736; %95 CI, 0,702-4,288) kişilerde hafif derecede artmış bir mesane kanseri riski belirlendi. Çalışılan diğer genlere ait genotip ve allel frekansları ile mesane kanseri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı.

Tablo10'da hasta ve kontrol grubunda, incelenen genlere ait genotip dağılımları ile sigara arasındaki ilişki ortaya konmaktadır. Tablo 10 incelendiğinde *CYP1A2* CC genotipli sigara içicilerinde mesane kanseri riskinin anlamlı bir şekilde yükseldiği görülmektedir (OR, 2.550; %95 CI, 1.030-6.316). Benzer ilişki *GSTM1* pozitif genotipli sigara içicilerinde de belirlendi (OR, 2.144; %95 CI, 1.119-4.108). *GSTT1* pozitif (OR, 0.174; %95 CI, 0.049-0.611) genotipli sigara içicilerinin, null genotipli içicilere nazaran mesane kanserine karşı daha az risk taşıdığı bulundu. Diğer bir ifade ile GSTT1 null genotipli sigara içen bireylerin mesane kanserine yakalanma riskinin GSTT1 pozitiflere göre yaklaşık 5.7 kat daha fazla olduğu söylenebilir. Diğer yandan *GSTP1* IV genotipli sigara içicileri GSTP1 II genotipli sigara içicilerine nazaran mesane kanserine karşı daha az risk taşıdığı bulundu (OR, 0.442; %95 CI, 0.223-0.877). Ancak benzer bir risk *GSTP1* VV bireylerde belirlenemedi. Sigara içicilerinde *CYP2D6* genotipleri ile mesane kanseri riski arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki kurulamadı. Ancak istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte *CYP2D6* GG genotipli sigara içicileri, AA genotipli sigara içicileri ile karşılaştırıldığında 1.3 katlık hafif bir risk artışı belirlendi (OR, 1.316; %95 CI, 0.491-1.531).

Tablo 10 ve Tablo 11'de sırasıyla mesane tümörlerinin derecesi ve evresiyle araştırılan genlere ait genotipler karşılaştırılmıştır. Bu tablolarda yer alan verilerle ilgili yapılan inceleme neticesinde mesane tümörlerinin derecesi ve evresi ile hastaların genotipi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki kurulamamıştır.

Tablo 12'de ise, GST genlerine ait genotiplerin, ikili dağılımlarının mesane kanseriyle olan ilişkisi incelenmiştir. Buradan çıkan sonuçlara göre *GSTM1* null genotipi ve *GSTP1* IV/VV genotiplerini birlikte taşıyan kişiler, *GSTM1* null ve *GSTP1* II genotiplerini birlikte taşıyanlarla karşılaştırıldığında mesane kanserine karşı daha az risk taşıdıkları bulundu (OR, 0.335; %95 CI, 0.129-0.871). Tablo 12'de yer alan diğer GST birlikteliklerinin mesane kanseri açısından istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü.

**Tablo 7.** Demografik özellikler açısından mesane kanseri ile kontrol grubu arasında tekli değişken ve çoklu değişken analizi.

ÖZELLİK	KOTROL GRUBU (%)	HASTA GRUBU (%)	Tekli Değişken P, OR (%95 CI)	Çoklu Değişken P, OR (%95 CI)
<b>CİNSİYET</b>				
Erkek	107 (83.6)	122 (90.4)	Referans	
Kadın	21 (16.4)	13 (9,6)	0.119 0.545(0.254-1.168)	0.387 0.601 (0.189-1.908)
<b>YAŞ</b>				
50 yaş ve altı	27 (20.7)	14 (10.2)	Referans	
51-70 yaş	62 (48.3)	83 (61.4)	0.058 2.571 (0.968-6.834)	0.062 2.853 (0.947-8.594)
71 ve üzeri	39(31.0)	38 (28.4)	0.253 1.852 (0.644-5,321)	0.426 1.612 (0.497-5.227)
<b>SİGARA</b>				
Sigara içmemiş	54 (42.7)	37 (27.1)	Referans	
1 Paket /gün' den az	13 (10.0)	20(14.7)	0.056 2.319 (0.980-5.492)	0.879 1.108 (0.297-4.131)
1 Paket/gün	46 (36.4)	59 (44.2)	<b>0,033</b> <b>1.914 (1.055-3.472)</b>	0.354 1.677 (0.561-5.010)
2 Paket/gün ve daha ↑	15 (10.9)	19 (14.0)	0.107 2.014 (0.860-4.720)	0.070 4.728 (0.879-25.438)
<b>ALKOL</b>				
Alkol içmemiş	106 (82.7)	118 (87.6)	Referans	
Yılda 1-2 kez	9 (7.3)	7 (4.7)	0.366 0.604 (0.202-1.803)	0.149 0.392 (0.110-1.398)
Ayda 1-2 kez	5 (3.7)	4 (3.1)	0.764 0.805 (0.196-3.309)	0.378 0.494 (0.103-2.372)
Haftada 1-2 kez	2 (1.8)	3 (2.3)	0.838 1.208 (0.198-7.384)	0.999 0.999 (0.126-7.909)
Her gün	6 (4.5)	3 (2.3)	0.328 0.483 (0.112-3.076)	<b>0.038</b> <b>0.159 (0.028-0.904)</b>

**Not :** İstatistiksel olarak anlamlı çıkan sonuçlar kalın karakterlerle yazılmıştır.

**Tablo 8.** Genel olarak mesane kanserli hastalar ve kontroller arasında CYP genlerine ait genotip ve allel frekanslarının dağılımı.

GEN/GENOTİP	KONTROL SAYISI (%)	HASTA SAYISI (%)	P	OR	%95 CI
<b><i>CYP1A2</i></b>					
AA	33 (25.8)	27 (20.0)	0.263	Referans	
AC	64 (50.0)	64 (47.4)		1.222	0.661-2.262
CC	31 (24.2)	44 (32.6)		1.735	0.874-3.443
AA/AC+CC	33 (25.8)/95 (74.2)	27 (20.0)/108(80.0)	0.265	1.389	0.779-2.478
CC/AC+AA	97 (75.8) / 31 (24.2)	91 (67.4) /44 (32.6)	0.134	1.513	0.880-2.600
Allel					
A	0.51	0.44	0.133	0.661	0.385-1.136
C	0.49	0.56	0.264	0.389	0.779-2.478
<b><i>CYP2D6</i></b>					
AA	13 (10.2)	18 (13.3)	0.210	Referans	
AG	63 (49.2)	52 (38.5)		0.596	0.267-1.330
GG	52 (40.6)	65 (48.2)		0.903	0.405-2.012
AA/AG+GG	13 (10.2) /115 (89.2)	18 (13.3) /117 (86.7)	0.426	1.361	0.637-2.905
GG/AG+AA	76 (59.4) /52 (40.6)	70 (51.9) /65 (48.1)	0.220	1.357	0.833-2.221
Allel					
A	0.35	0.33	0.220	0.735	0.344-1.569
G	0.65	0.67	0.424	0.737	0.452-1.201

**Tablo 9.** Genel olarak mesane kanserli hastalar ve kontroller arasında GST genlerine ait genotip ve allel frekanslarının dağılımı.

GEN/GENOTİP	KONTROL SAYISI (%)	HASTA SAYISI (%)	P	OR	%95 CI
<i>GSTM1</i>					
(0)	65 (50.8)	58 (43.0)	0.204	Referans	
(+)	63 (49.2)	77 (57.0)		1.370	0.842-2.227
<i>GSTT1</i>					
(0)	9 (7.0)	31 (23.0)	0.001	Referans	
(+)	119 (93.0)	104 (77.0)		<b>0.254</b>	<b>0.115-0.558</b>
<i>GSTP1</i>					
II	62 (48.4)	75 (55.6)	0.131	Referans	
IV	58 (45.3)	46 (34.1)		0.656	0.393-1.095
VV	8 (6.3)	14 (10.4)		1.447	0.570-3.672
II/IV+VV	62 (48,4)/66(51,6)	75 (55,6)/60 (44,4)	0,249	0,752	0,463-1,221
VV/IV+II	120 (93,8)/ 8 (6,3)	121 (89,6) / 14 (10,4)	0,232	1,736	0,702-4,288
Allel					
I	0.71	0.73	0.228	0.576	2.233-1.424
V	0.29	0.27	0.248	0.752	0.463-1.221

**Not :** İstatistiksel olarak anlamlı çıkan sonuçlar kalın karakterlerle yazılmıştır.

**Tablo 10.** Sigara içen ve içmeyen gruplarda mesane kanserli ve kontrol grubunu oluşturanlar arasındaki genotip dağılımı.

GENO TİP	SİGARA İÇMEYEN			SİGARA İÇEN		
	KONTROL ( %)	HASTA (%)	OR(%95)	KONTR OL( %)	HASTA ( %)	OR(%95)
<b>CYP1A2</b>						
AA	11 (23.4)	11 (31.4)	Referans	18 (28.6)	16 (17.0)	Referans
AC	22 (46.8)	16 (45.7)	0.727 (0.253-2.089)	30 (47.6)	44 (46.8)	1.650 (0.728-3.738)
CC	14 (29.8)	8 (22.9)	0.571 (0.171-1.908)	15 (23.8)	34 (36.2)	<b>2.550 (1.030-6.316)</b>
<b>CYP2D6</b>						
AA	4 (8.5)	3 (8.6)	Referans	9 (14.3)	14 (14.9)	Referans
AG	20 (42.6)	15 (42.9)	1.000(0.194-5.154)	33 (52.4)	37 (39.4)	0.721(0.276-1.882)
GG	23 (48.9)	17 (48.6)	0.986(0.194-4.94)	21 (33.3)	43 (45.7)	1.316(0.491-1.531)
<b>GSTM1</b>						
(0)	23 (48.9)	15 (42.9)	Referans	38 (60.3)	39 (41.5)	Referans
(+)	24 (51.1)	20 (57.1)	1.278 (0.530-3.082)	25 (39.7)	55 (58.5)	<b>2.144 (1.119-4.108)</b>
<b>GSTT1</b>						
(0)	4 (8.5)	8 (22.9)	Referans	3 (4.8)	21 (22.3)	Referans
(+)	43 (91.5)	27 (77.1)	0.314 (0.086-1.144)	60 (95.2)	73 (77.7)	<b>0.174 (0.049-0.611)</b>
<b>GSTP1</b>						
II	20 (42.6)	11 (31.4)	Referans	29 (46.0)	59 (62.8)	Referans
IV	23 (48.9)	18 (51.4)	1.423 (0.545-3.717)	30 (47.6)	27 (28.7)	<b>0.442 (0.223-0.877)</b>
VV	4 (8.5)	6 (17.1)	2.727 (0.631-11.785)	4 (6.3)	8 (8.5)	0.983 (0.273-3.535)

**Not :** İstatistiksel olarak anlamlı çıkan sonuçlar kalın karakterlerle yazılmıştır.

**Tablo 11.** Çalışılan Genotiplerin Mesane Tümörlerinin Derecesi ile İlişkisi.

<b>GENOTİP</b>	<b>GRADE 1 (%)</b>	<b>GRADE 2 (%)</b>	<b>GRADE 3 (%)</b>	<b>GRADE 4 (%)</b>	<b>P</b>
<b><i>CYP1A2</i></b>					0.114
AA	1 (20.0)	3 (42.9)	18 (21.7)	1 (7.1)	
AC	3 (60.0)	4 (57.1)	36 (43.4)	8 (57.1)	
CC	1 (20.0)	0 (0.0)	29 (34.9)	5 (35.7)	
<b><i>CYP2D6</i></b>					0.370
AA	0 (0.0)	2 (28.6)	5 (6.0)	3 (21.4)	
AG	3 (60.0)	1 (14.3)	33 (39.8)	7 (50.0)	
GG	2 (40.0)	4 (57.1)	45 (54.2)	4 (28.6)	
<b><i>GSTM1</i></b>					0.389
(0)	3 (60.0)	2 (28.6)	37 (44.6)	4 (28.6)	
(+)	2 (40.0)	5 (71.4)	46 (55.4)	10 (71.4)	
<b><i>GSTT1</i></b>					0.784
(0)	1 (20.0)	3 (42.9)	19 (22.9)	5 (35.7)	
(+)	4 (80.0)	4 (57.1)	64 (77.1)	9 (64.3)	
<b><i>GSTP1</i></b>					0.234
II	2 (40.0)	6 (85.7)	45 (54.2)	8 (57.1)	
IV	0 (0.0)	0 (0.0)	30 (36.1)	5 (35.7)	
VV	3 (60.0)	1 (14.3)	8 (9.6)	1 (7.1)	

**Tablo 12.** Çalışılan Genotiplerin Mesane Tümörlerinin Evresi ile İlişkisi.

<b>GENOTİP</b>	<b>Ta-Tis (%)</b>	<b>T1 (%)</b>	<b>T2 (%)</b>	<b>T3 (%)</b>	<b>P</b>
<b><i>CYP1A2</i></b>					
AA	7 (18.9)	15 (26.8)	1 (7.7)	3 (11.1)	0.457
AC	15 (40.5)	26 (46.4)	7 (53.8)	15 (55.6)	
CC	15 (40.5)	15 (26.8)	5 (38.5)	9 (33.3)	
<b><i>CYP2D6</i></b>					
AA	4 (10.8)	4 (7.1)	2 (15.4)	8 (29.6)	0.182
AG	14 (37.8)	22 (39.3)	6 (46.2)	9 (33.3)	
GG	19 (51.4)	30 (53.6)	5 (38.5)	10 (37.0)	
<b><i>GSTM1</i></b>					
(0)	18 (48.6)	22 (39.3)	5 (38.5)	13 (48.1)	0.759
(+)	19 (51.4)	34 (60.7)	8 (61.5)	14 (51.9)	
<b><i>GSTT1</i></b>					
(0)	6 (16.2)	16 (28.6)	5 (38.5)	4 (14.8)	0.198
(+)	31 (83.8)	40 (71.4)	8 (61.5)	23 (85.2)	
<b><i>GSTP1</i></b>					
II	17 (45.9)	33 (58.9)	8 (61.5)	17 (63.0)	0.693
IV	14 (37.8)	17 (30.4)	4 (30.8)	9 (33.3)	
VV	6 (16.2)	6 (10.7)	1 (7.7)	1 (3.7)	



**Tablo 13.** Mesane kanserli ve kontrol grubu kişilerde GST genotiplerinin ikili dağılımlarının değerlendirilmesi.

GENOTİPLER	KONTROL (%)	HASTA (%)	OR (%95)	P Değeri
<b>GSTM1-GSTT1</b>				
Her ikisi (0)	1 (1.3)	6 (4.8)		Referans
Birisi (0)	36 (45.6)	68 (54.4)	0.315 (0.036-2.717)	0.293
Her ikisi (+)	42 (53.2)	51 (40.8)	0.202 (0.023-1.748)	0.146
<b>GSTM1-GSTP1</b>				
M1(0),P1(II)	10 (14.3)	27 (26.0)		Referans
M1(+), P1 (II)	25 (35.7)	31 (29.8)	0.459 (0.187-1.126)	0.089
M1(0),P1(IV/VV)	21 (30.0)	19 (18.3)	<b>0.335 (0.129-0.871)</b>	<b>0.025</b>
M1(+),P1(IV/VV)	14 (20.0)	27 (26.0)	0.714 (0.270-1.886)	0.497
<b>GSTT1-GSTP1</b>				
T1(+), P1 (II)	39 (44.8)	45 (42.9)		Referans
T1(+),P1(IV/VV)	42 (48.3)	38 (36.2)	0.784 (0.425-1.448)	0.437
T1(0),P1(II)	3 (3.4)	13 (12.4)	3.756 (0.997-14.152)	0.051
T1(0),P1(IV/VV)	3 (3.4)	9 (8.6)	2.600 (0.657-10.285)	0.173

**Not :** İstatistiksel olarak anlamlı çıkan sonuçlar kalın karakterlerle yazılmıştır.

## 5. TARTIŞMA

Bu çalışmada Türkiye’de büyük kısmı Karadeniz Bölgesinde yaşayan kişilerde *CYP1A2*, *CYP2D6*, *GSTM1*, *GSTP1* ve *GSTT1* genleri varyantları ile mesane tümörü arasındaki ilişki incelenmiştir. Genotip-hastalık ilişkisini irdelemeden önce, araştırdığımız genlere ait elde ettiğimiz genotip/allel frekansları ile Türkiye’de daha önce yapılan çeşitli çalışmalarda elde edilen genotip/allel frekansları Tablo 14’te karşılaştırılmıştır. Tablo incelendiğinde CYP 1A2, *GSTM1* ve *GSTP1* için birbirine yakın sonuçlar alınırken *CYP2D6* ve *GSTT1* için birbirinden kısmen farklı sonuçlar alındığı görülmektedir. Bu farklılıklar kontrol grubunun seçimindeki farklılıklara ve çalışma grubunun küçüklüğüne bağlanabilir. Çalışmamız ülkemizde mesane kanserli hastalar ile *CYP1A2* geni C734A polimorfizmi arasındaki ilişkinin incelendiği ilk çalışmadır. Böke ve arkadaşları, aynı polimorfizmi aynı bölgede şizofrenili hastalarda çalışmışlardı. Bu çalışmada kullandıkları kontrol grubu ile kullanılan kontrol grubunun allel frekanslarının bizim çalışmamızla aynı çıkması yöntemimizin güvenilirliğini gösterebilir.

**Tablo 14.** Türkiye’de yapılan diğer çalışmalarda elde edilen genotip/allel frekanslarının karşılaştırması ( <sup>1</sup>Böke ve ark. 2007; <sup>2</sup>Aydın ve ark., 2005; <sup>3</sup>Ateş ve ark., 2005 ).

Araştırılan Genler	Bizim Çalışmamızdaki Genotip/Allel Frekansı	Türkiyede yapılan Diğer Çalışmalardaki Genotip/Allel Frekansları
<b>CYP1A2</b>	A %51, C %49	A %51, C %49 <sup>1</sup>
<b>CYP2D6</b>	G %65, A %35	G %75, A %15 <sup>2</sup>
<b>GSTM1</b>	Null %51, Pozitif %49	Null %42 <sup>3</sup> Pozitif %58
<b>GSTT1</b>	Null %7, Pozitif %93	Null % 23 <sup>3</sup> , Pozitif %77,
<b>GSTP1</b>	A %71, G %29	A %75, G %25 <sup>3</sup>

Bizim çalışmamızda *CYP1A2* geni C734A polimorfizmi ile mesane kanseri riski arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştı. Ancak istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte CC genotiplilerde hafif derecede artmış bir mesane kanseri riski bulundu (OR, 1.735; %95 CI, 0.874-3.443). Fanlo ve arkadaşları, boyaya maruz kalan tekstil işçilerinde *CYP1A2* aktivitesinin üriner mutajeniteyi etkilemediği göstermişlerdir ( $r=0.04$  ve  $r=0.01$ ). Buna karşın CC genotipli sigara içen kişilerde mesane kanseri riskinin anlamlı derecede arttığı gösterilmişti (OR, 2.550; %95 CI, 1.030-6.316). Jeong ve arkadaşları ile Moore ve arkadaşları, mesane kanseri ile sigara arasında açık bir ilişki olduğunu göstermişlerdir (Jeong ve ark., 2003; Moore ve ark., 2004). *CYP1A2* C734A polimorfizmi genin 1. intronun içerisinde yer almakta ve amino asit değişimine neden olmamaktadır (Basile ve ark., 2000). Sigaranın *CYP1A2* enziminin indüksiyonunda oldukça etkili olması ve sigaranın mesane kanserindeki rolünün birçok çalışmada gösterilmiş olması nedeniyle *CYP1A2* geni polimorfizmi çalışmamıza dahil edilmişti (Basile ve ark., 2000; Gago-Dominguez ve ark., 2003; Margaret ve ark., 2005). *CYP1A2* polimorfizmi ile mesane kanseri arasındaki ilişki değerlendirildiğinde çelişkili sonuçlar da elde edilmiştir. Gago-Dominguez ve arkadaşları yavaş *CYP1A2* aktivitesi gösteren bireyler, hızlı enzim aktivitesi gösterenlerle karşılaştırıldığında, kalıcı saç boyası ile mesane kanseri arasında daha kuvvetli bir ilişki olduğunu göstermişlerdir (OR, 2.5; %95 CI, 1.04-6.1) (Gago-Dominguez ve ark., 2003). Ayrıca Moonen ve arkadaşları *CYP1A2* A164C polimorfizmi ile kolorektal kanser arasında önemli güçlü bir ilişki olduğunu ortaya koymuşlardır (OR, 3.7; %95 CI, 1.3-10.7) (Moonen ve ark., 2005). Çalışmalar arasındaki farklılıklar, hasta ve kontrol grupları arasındaki seçim kriterleri, etnik ve coğrafi farklar ile çevresel karsinojenlere maruz kalmadaki farklılıklara bağlanabilir.

Bizim çalışmamızda hasta ve kontrol grubu genel olarak karşılaştırıldığında, *CYP2D6* G1934A polimorfizmi ile mesane kanseri arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı. Ancak istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte *CYP2D6* GG genotipli sigara içicileri, AA genotipli sigara içicileri ile karşılaştırıldığında 1.3 katlık hafif bir risk artışı belirlendi (OR, 1.316; %95 CI, 0.491-1.531). Mesane kanseriyle *CYP2D6* polimorfizmi arasındaki ilişkinin araştırıldığı çalışmalar sınırlıdır. Bizim sonuçlarımızla paralellik gösteren benzer bir çalışmada, Li ve arkadaşları *CYP2D6*\*10 polimorfizmiyle meme kanseri riski arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulamamışlardır (Li ve

ark., 2006). *CYP2D6* G1934A polimorfizmi ile mesane kanseri arasında anlamlı bir ilişki bulunamamasının nedeni gerçekten aralarında önemli bir ilişki olmamasına veya seçilen örnek sayısının yetersizliğine bağlanabilir. Bizim çalışmamızla farklı olarak Sobti ve arkadaşları AA genotiplilerle mesane kanseri arasında istatistiksel olarak anlamlı olmayan, hafif derecede (OR, 1.55; %95 CI, 0.14-17.49) risk artışı bulmuşlardır. Ayrıca aynı çalışmada GG genotiplilerle, grade II mesane kanseri (OR, 3.54; %95 CI, 0.89-13.98), grade III mesane kanseri (OR, 3.3; %95 CI, 0.12-20.6) ve grade IV mesane kanseri (OR, 1.67; %95 CI, 0.15-18.45) arasında istatistiksel olarak anlamsız olmakla birlikte bir risk artışı belirlemişlerdir (Sobti ve ark., 2005).

Çalışmamızda hasta ve kontrol grubu genel olarak karşılaştırıldığında, *GSTM1* delesyon polimorfizmi ile mesane kanseri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştı. Ancak *GSTM1* pozitif genotipli sigara içen kişilerde mesane kanseri riskinde istatistiksel olarak önemli derecede artış olduğu gösterildi (OR, 2.144; %95 CI, 1.119-4.108). Bizim sonuçlarımızla benzer şekilde, Salagoviç ve arkadaşları, *GSTM1* geni polimorfizmi ile mesane kanseri arasında anlamlı bir ilişki bulamamışlardır (Salagovic ve ark., 1999). Türkiye’de daha önce Törüner ve arkadaşları bizim bulgularımızla çelişen sonuçlar elde etmişlerdir. *GSTM1* null genotipiyle mesane kanseri arasında anlamlı bir ilişki olduğunu göstermişlerdir (OR, 1.94; %95 CI, 1.15-3.26) (Toruner ve ark., 2001). *GSTM1* delesyon polimorfizmi ile mesane kanseri riski arasında böyle farklı sonuçlar alınmasının nedeni çalışma grubunun seçimindeki farklılıklar, çevresel karsinojenlere maruz kalmadaki farklılıklar, genel olarak mesane kanseri etiyopatogenezinin karışık olması ve hastalığın genetik heterojenite göstermesi olabilir.

*GSTT1* geni delesyon polimorfizmiyle ilgili bizim sonuçlarımıza göre hasta ve kontrol grubu genel olarak karşılaştırıldığında, polimorfizm ile mesane kanseri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu bulundu (OR, 0.254; %95 CI, 0.115-0.558). Ayrıca *GSTT1* pozitif genotipli sigara içen kişilerde, mesane kanseri riskinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı belirlendi (OR, 0.174; %95 CI, 0.049-0.611). *GSTT1* geni delesyon polimorfizmi göstermekte ve null genotiplilerde enzim aktivitesi tamamen kaybolmaktadır (Pemble ve ark., 1994). Konjügasyon reaksiyonlarında önemli bir role sahip olan *GSTT1* geninin çalışmaması (null genotipi) ksenobiyotik türevlerinin vücutta (mesanede) daha uzun süre kalmalarına ve bunun

sonucu genotoksisite ve kansere yol açmalarına neden olabilir. Dolayısıyla ksenobiyotik metabolizmasında önemli rol oynayan bu enzimlerin polimorfizmi ile mesane kanseri riski arasında anlamlı bir ilişki bulunması hipotezimizi desteklemektedir. Sonuçlarımıza paralel olarak, Salagoviç ve arkadaşları ile GSTT1 null genotip ile mesane kanseri riski arasında istatistiksel olarak önemli derecede ilişki olduğunu ortaya koymuşlardır (OR, 1.87; %95 CI, 1.03-3.42) (Salagovic ve ark., 1999; Hung ve ark., 2004). Diğer yandan, Törüner arkadaşları GSTT1 null genotiple mesane kanseri arasında anlamlı bir ilişki bulamamışlardır (Törüner ve ark., 2001; Moore ve ark., 2004; Srivastava ve ark., 2005). GSTT1 delesyon polimorfizmi ile mesane kanseri riski arasında farklı sonuçlar alınmasının nedeni çalışma grubunun seçimindeki farklılıklar, çevresel karsinojenlere maruz kalmadaki farklılıklar, genel olarak kanserin etiyopatogenezinin karışık olması ve hastalığın genetik heterojenite göstermesi olabilir.

Bizim çalışmamızda hasta ve kontrol grubu genel olarak karşılaştırıldığında, GSTP1 I105V polimorfizmiyle mesane kanseri arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştı. Ancak GSTP1 IV genotipinin sigara içen kişilerde mesane kanserine karşı koruyucu etki gösterdiği bulunmuştu. Ayrıca GSTM1 null genotipi ve GSTP1 IV/VV genotiplerini birlikte taşıyan kişiler, GSTM1 null ve GSTP1 II genotiplerini birlikte taşıyanlarla karşılaştırıldığında mesane kanserine karşı daha az risk taşıdıkları bulundu (OR, 0.335; %95 CI, 0.129-0.871). Ünal ve arkadaşları da laringeal squamoz hücreli kanser hastalarında GSTP1 I105V polimorfizmi ile hastalık arasında herhangi bir ilişki bulamamışlardır (Ünal ve ark., 2004). Ancak bizim sonuçlarımızla çelişkili olarak Cao ve ark. IV (OR, 7.6; %95 CI, 1.18-49.51) ve II (OR, 6.5; %95 CI, 1.01-41.56) genotiplileri, VV genotiplilerle karşılaştırdıklarında mesane kanseri riskinin anlamlı derecede yüksek olduğunu bulmuşlardır (Cao ve ark., 2005). Bizim çalışmamızdaki sonuçlarıyla daha önce yapılan diğer çalışmalar arasındaki çelişkili sonuçlar elde edilmesinin nedenleri genel olarak mesane kanserinin etiyopatogenezinin karışık olmasına, hastalığın genetik heterojenite göstermesine, etnik farklılıklara, populasyon karakteristiklerindeki farklılıklara, coğrafi-çevresel farklılıklara ve olgu sayısındaki değişikliklere bağlanabilir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Türkiye’de büyük kısmı Orta Karadeniz Bölgesinde yaşayan kişilerde *CYP1A2*, *CYP2D6*, *GSTM1*, *GSTP1* ve *GSTT1* genleri varyantları ile mesane tümörü arasındaki ilişkinin incelendiği bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre *GSTT1* null genotipi ile mesane kanseri arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Dolayısıyla *GSTT1* null genotipli kişiler, mesane kanseri geliştirmede risk taşıdıkları söylenebilir. *GSTT1*’in ksenobiyotik metabolizmasındaki önemli rolü göz önüne alınırsa *GSTT1* null genotiplilerde diğer birçok kanserin gelişme riskinin arttığı da söylenebilir.

Çalışmamızda sigara içen kişiler arasında, *CYP1A2* CC, *GSTM1* pozitif ve *GSTT1* pozitif genotiplerinin, her birinin istatistiksel olarak önemli derecede mesane kanseri riskini etkilediği gösterilmiştir. Dolayısıyla bu genotipleri taşıyan kişiler taşımayanlara göre, sigara içmeleri halinde, hayatları boyunca önemli derecede mesane kanserine yakalanma riski taşıdıkları söylenebilir.

Yapılan birçok çalışmada *CYP* ve *GST* enzimlerinin mesane kanseri ve diğer birçok kanserdeki etkileri ile ilgili farklı/çelişkili sonuçlar alınsa da ksenobiyotik metabolizmasının omurgasını oluşturan bu enzimlerin kanser gelişimindeki rolleri yadsınamaz. Araştırdığımız genlerle ilgili özellikle *GSTT1* polimorfizmiyle ilişkili daha geniş populasyonlarda çalışılması yararlı olabilir. Ayrıca bu konuda daha net sonuçlar alınabilmesi için sadece sigara, alkol ve mesleki karsinogenler değil; yaşam boyunca maruz kalınan gıdaların içerisindeki katkı maddeleri, giyeceklerimiz içerisindeki karsinogenler, solunan havadaki karsinogenler ve modern hayatta sıklıkla karşı karşıya olduğumuz radyasyon kaynakları gibi daha bir çok faktör kapsamlı bir şekilde ele alınmalı ve bunların bireyin genomuyla ilişkisi ortaya konulmalıdır.

**KAYNAKLAR**

- Abdel-Rahman S.Z., Anwar W.A., Abdel-Ala W.E., Mostafa H.M., Au W.W. (1998). GSTM1 and GSTT1 genes are potential risk modifiers for bladder cancer. *Cancer Detection Prevention*, **22**, 129–138.
- Agarwal M.L., Taylor W.R., Chernov M.V., Chernova O.B., Stark G.R. (1998). The p53 network. *Journal Biology Chem.*, **273**, 1–4.
- Aktas D., Ozen H., Atsu N., Tekin A., Sozen S., Tuncbilek E. (2001). Glutathione s-transferase M1 gene polymorphism in bladder cancer patients: a marker for invasive bladder cancer? *Cancer Genet. Cytogenet.*, **125** (1),1-4.
- Ali-Osman F., Akande O., Antoun G., Mao J.X., Buolamwini J. (1997). Molecular cloning, characterization, and expression in Escherichia coli of full-length cDNAs of three human glutathione S-transferase Pi gene variants: Evidence for differential catalytic activity of the encoded proteins. *Journal Biology Chem.*, **272**, 10004–10012.
- Amati B., Land H. (1994). Myc-Max-Mad: a transcription factor network controlling cell cycle progression, differentiation and death. *Current Opinion in Genetics & Development*, **4**, 102–108.
- Amsellem-Ouazana D., Bieche I., Tozlu S., Botto H., Debre B. and Lidereau R. (2006). Gene expression profiling of erbB recaptors and ligands in human transitional cell carcinoma of the bladder. *The Journal Of Urology*, **175**, 1127-1132.
- Anafarta K., Bedük Y., Arıkan N. (2007). *Temel Üroloji* **3**. Baskı. Güneş Tıp Kitapevleri.
- Antona R.C. and Sundberg M.I. (2006). Cytochrome p450 pharmacogenetics and cancer. *Oncogene*, **25**, 1679–1691.
- Arand M., Muhlbauer R., Hengstler J., Jager E., Fuchs J., Winkler L., Oesch F. A. (1996). Multiplex polymerase chain reaction protocol for the simultaneous analysis of the glutathione S-transferase GSTM1 and GSTT1 polymorphisms. *Anal. Biochem.*, **5**, **236**(1),184-6.
- Ateş N.A., Unal M., Tamer L., Derici E., Karakaş S., Ercan B., Pata Y.S., Akbaş Y., Vayisoğlu Y., Camdeviren H. (2005). Glutathione S-transferase gene polymorphisms in presbycusis. *Otol. Neurotol.*, **26** (3), 392-7.
- Autrup H., (2000). Genetic polymorphisms in human xenobiotica metabolizing enzymes as susceptibility factors in toxic response. *Mutation Research*, **464**, 65–76.
- Aydin M., Hatirnaz O., Erensoy N., Ozbek U. (2005). CYP2D6 and CYP1A1 mutations in the Turkish population. *Cell Biochemistry Funct.*, **23**(2), 133-5.

- Aydin-Sayitoglu M., Hatirnaz O., Erensoy N., Ozbek U. (2006). Role of CYP2D6, CYP1A1, CYP2E1, GSTT1, and GSTM1 genes in the susceptibility to acute leukemias. *Am. Journal Hematol.*, **81**(3), 162-70.
- Badawi A.F. (1996). Molecular and genetic events in schistosomiasis associated human bladder cancer: role of oncogenes and tumor suppressor genes. *Cancer Letter*, **105**, 123-138.
- Basile V.S., Özdemir V., Masellis M. (2000). A functional polymorphism of the cytochrome P450 1A2 (CYP1A2) gene: association with tardive dyskinesia in schizophrenia. *Molecular Psychiatry*, **5**, 410-417.
- Bernardini S., Fauconnet S., Chabannes E., Henry P.C., Adessi G., Bittard H. (2001). Serum levels of vascular endothelial growth factor as a prognostic factor in bladder cancer. *Journal Urology*, **166**, 1275-9.
- Bernardini A., Hirvonen K., Pelin H., Norppa A. (1998). Induction of sister chromatid exchange by 1,2-epoxy-3-butene in cultured human lymphocytes: influence of gstt1 genotype. *Carcinogenesis*, **19**, 377-380.
- Berns E.M., Klijn J.G., Van Putten W.L., Van Staveren I.L., Portengen H., Foekens J.A. (1992). c-myc amplification is a better prognostic factor than HER2/neu amplification in primary breast cancer. *Cancer Res.*, **52**, 1107-1113.
- Bittard H., Descotes F., Billerey C., Lamy B., Adessi G.R. (1996). A genotype study of the c-H-ras-1 locus in human bladder tumors. *Journal Urology*, **155**, 1083-1088.
- Bochner B.H., Cote R.J., Weidner N. (1995). Angiogenesis in bladder cancer: relationship between microvessel density and tumor prognosis. *Journal Natl. Cancer Inst.*, **87**, 1603-12.
- Böke O., Güneş S., Kara N., Aker S., Sahin A. R., Basar Y., Bağcı H. (2007). Association of serotonin 2a receptor and lack of association of CYP1A2 gene polymorphism with tardive dyskinesia in a Turkish Population. *DNA and Cell Biology* (yayında).
- Bookstein R., Lee E.Y., To H. (1988). Human retinoblastoma susceptibility gene: genomic organization and analysis of heterozygous intragenic deletion mutants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **85**, 2210-2214.
- Branch R.A., Chern H.D., Adedoyin A., Romkes-Sparks M., Lesnick T.G., Persad R., Wilkinson G.R., Fleming C.M., Dickinson A.J., Sibley G. (1995). The procarcinogen hypothesis for bladder cancer: activities of individual drug metabolizing enzymes as risk factors. *Pharmacogenetics*, **5**, 97-102.



- Bryan R.T., Syed A. H., Nicholas D., James Janusz A., Jankowski D., Michael A., Wallace M. (2005a). Molecular pathways in bladder cancer: part 1. *B.J.U. International*, **95**, 485–490.
- Bryan R.T., Syed A. H., Nicholas D., James Janusz A., Jankowski D., Michael A., Wallace M. (2005b). Molecular pathways in bladder cancer: part 2. *B.J.U. International*, **95**, 491–496.
- Byrne R.R., Shariat S.F., Brown R. (2001). E-cadherin immunostaining of bladder transitional cell carcinoma, carcinoma in situ and lymph node metastases with long-term follow-up. *Journal Urology*, **165**, 1473–9.
- Cairns P., Shaw M.E., Knowles M.A. (1993). Initiation of bladder cancer may involve deletion of a tumour-suppressor gene on chromosome 9. *Oncogene*, **8**, 1083–1085.
- Cairns P., Tokino K., Eby Y., Sidransky D. (1994). Homozygous deletions of 9p21 in primary human bladder tumors detected by comparative multiplex polymerase chain reaction. *Cancer Res.*, **54**, 1422–4.
- Cao W., Cai L, Rao J.Y., Pantuck A., Lu M.L., Dalbagni G., Reuter V., Scher H., Cordon-Cardo C., Figlin R.A., Beldegrun A., Zhang Z.F. (2005). Tobacco smoking, GSTP1 polymorphism, and bladder carcinoma. *Cancer*, **1**, **104(11)**, 2400-8.
- Cengiz M., Ozaydin A., Ozkilic A.C., Dedekarginoglu G. (2007). The investigation of GSTT1, GSTM1 and SOD polymorphism in bladder cancer patients. *Int. Urology Nephrol.*, **6**, (Epub ahead of print)
- Chaudhary R., Bromley M., Clarke N.W. (1999). Prognostic relevance of micro-vessel density in cancer of the urinary bladder. *Anticancer Research*, **19**, 3479–84.
- Chen X., Wang H., Xie W., Liang R., Wei Z., Zhi L., Zhang X., Hao B., Zhong S., Zhou G., Zhang L., Gao X., Zhu Y., He F. (2006). Association of CYP1A2 genetic polymorphisms with hepatocellular carcinoma susceptibility: a case-control study in a high-risk region of China. *Pharmacogenet Genomics*, **16(3)**, 219-27.
- Coombs L.M., Pigott D.A., Sweeney E. (1991). Amplification and over-expression of c-erbB-2 in transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *Br. Journal Cancer*, **63**, 601-608.
- Cordon-Cardo C., Wartinger D., Petrylak D. (1992). Altered expression of the retinoblastoma gene product: prognostic indicator in bladder cancer. *Journal Natl. Cancer Inst.*, **84**, 1251-1256.
- Cordon-Cardo C. (1995). Mutations of cell cycle regulators. Biological and clinical implications for human neoplasia. *Am. Journal Pathol.*, **147**, 545–560.

- Cote R.J., Dunn M.D., Chatterjee S.J. (1998). Elevated and absent pRb expression is associated with bladder cancer progression and has cooperative effects with p53. *Cancer Research*, **58**, 1090-1094.
- Czerniak B., Deitch D., Simmons H. (1990). Ha-ras gene codon 12 mutation and DNA ploidy in urinary bladder carcinoma. *Br. Journal Cancer*, **62**, 762-763.
- Devlin J., Keen A.J., Knowles M.A. (1994). Homozygous deletion mapping at 9p21 in bladder carcinoma defines a critical region within 2cM of IFNA. *Oncogene*, **9**, 2757-60.
- Duque J.L.F., Loughlin K.R. (2000). An overview of the treatment of superficial bladder cancer : intravesical chemotherapy. *Urol. Clin. N. Am.*, **27**, 125-135.
- Eaton D.L., Bammler T.K. (1999). Concise review of the glutathione S-transferases and their significance to toxicology. *Toxicol. Sci.*, **49**, 156-164.
- El-Zein R., Conforti-Froes N., Au W.W. (1997). Interaction between genetic predisposition and environmental toxicants for development of lung cancer. *Environ. Mol. Mutagen*, **30**, 196-204.
- Epstein J.I., Amin M.B., Reuter V.R., Mostofi F.K. (1998). The bladder consensus conference committee. The world healthy organization/international society of urologic pathology consensus classification of urothelial (transitional cell) neoplasms of the urinary bladder. *Am. Journal Surg. Pathol.*, **22**, 1435.
- Esrig D., Elmanjian D., Groshen S. (1994). Accumulation of nuclear p53 and tumor progression in bladder cancer. *N. Engl. Journal Med.*, **331**, 1259-1264.
- Fanlo A., Sinues B., Mayayo E., Bernal L., Soriano A., Martinez-Jarreta B., Martinez Ballarin E. (2004). CYP1A2 and NAT2 activity in textile industry workers urinary mutagenicity. *Journal Occup. Health*, **46(6)**, 440-7.
- Fontana D., Bellina M., Scoffone C. (1996). Evaluation of c-ras oncogene product (p21) in superficial bladder cancer. *Eur. Urology*, **29**, 470-476.
- Gago-Dominguez M., Douglas A.B., Watson M.A., Yuan J.M., Esteban J., Hein D.W., Chan K.K., Coetzee G.A., Ross R.K. and Yu M.C. (2003). Permanent hair dyes and bladder cancer: risk modification by cytochrome p4501a2 and n-acetyltransferases 1 and 2. *Carcinogenesis*, **24(3)**, 483-489.
- Gajecka M., Ryzanicz M., Jaskula-Sztul R., Kujawski M., Szyfter W., Szyfter K. (2005). CYP1A1, CYP2D6, CYP2E1, NAT2, GSTM1 and GSTT1 polymorphisms or their combinations are associated with the increased risk of the laryngeal squamous cell carcinoma. *Mutat. Res.*, **574 (1-2)**, 112-23.

- Garcia-Closas M., Malats N., Silverman D., Dosemeci M., Kogevinas M., Hein D.W., Tardon A., Serra C., Carrato A., Garcia-Closas R., Lloreta J., Castano-Vinyals G., Yeager M., Welch R., Chanock S., Chatterjee N., Wacholder S., Samanic C., Tora M., Fernandez F., Real F.X., Rothman N. (2005). NAT2 slow acetylation, GSTM1 null genotype, and risk of bladder cancer: results from the Spanish Bladder Cancer Study and meta-analyses. *Lancet.*, **20-26**; **366(9486)**, 649-59.
- Garte S., Gaspari L., Alexandrie A.K., Ambrosone C., Autrup H., Autrup J.L., Baranova H., Bathum L., Benhamou S., Boffetta P., Bouchardy C., Breskvar K., Brockmoller J., Cascorbi I., Clapper M.L., Coutelle C., Daly A., Dell'Omo M., Dolzan V., Dresler C.M., Fryer A., Haugen A., Hein D.W., Hildesheim A., Hirvonen A., Hsieh L.L., Ingelman-Sundberg M., Kalina I., Kang D., Kihara M., Kiyohara C., Kremers P., Lazarus P., Le Marchand L., Lechner M.C., Van Lieshout E.M., London S., Manni J.J., Maugard C.M., Morita S., Nazar-Stewart V., Noda K., Oda Y., Parl F.F., Pastorelli R., Persson I., Peters W.H., Rannug A., Rebbeck T., Risch A., Roelandt L., Romkes M., Ryberg D., Salagovic J., Schoket B., Seidegard J., Shields P.G., Sim E., Sinnet D., Strange R.C., Stucker I., Sugimura H., To-Figueras J., Vineis P., Yu M.C., Taioli E. (2001). Metabolic gene polymorphism frequencies in control populations. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*, **10(12)**, 1239-48.
- Goldgar D.E., Easton D.F., Cannon-Albright L.A. (1994). Systematic population-based assessment of cancer risk in first-degree relative of cancer probands. *Journal Natl. Cancer Inst.*, **86**, 1600-1608.
- Gonlugur U., Pinarbasi H., Efeoglu Gonlugur T., and Silig Y. (2006). The association between polymorphisms in glutathione s-transferase (gstm1 and gstt1) and lung cancer outcome. *Cancer Investigation*, **24**, 497-501.
- Gonzalzo M.L., Hayashida T., Bender C.M. (1998). The role of DNA methylation in expression of the p19/p16 locus in human bladder cancer cell lines. *Cancer Research*, **58**, 1245-1252.
- Gorgoulis V.G., Barbatis C., Poulias I., Karameris A.M. (1995). Molecular and immunohistochemical evaluation of epidermal growth factor receptor and c-erb-B-2 gene product in transitional cell carcinomas of the urinary bladder: a study in Greek patients. *Mod. Pathol.*, **8**, 758-764.
- Green D.R., Reed J.C. (1998). Mitochondria and apoptosis. *Science*, **281**, 1309-12.
- Grossfeld G.D., Ginsberg D.A., Stein J.P. (1997). Thrombospondin-1 expression in bladder cancer: association with p53 alterations, tumor angiogenesis, and tumor progression. *Journal Natl. Cancer Inst.*, **89**, 219-227.
- Grossman H.B., Liebert M., Antelo M. (1998). p53 and RB expression predict progression in T1 bladder cancer. *Clin. Cancer Research*, **4**, 829-834.

- Gschwend J.E., Fair W.R., Vieweg J. (2000). Radikal cystectomy for invasive bladder cancer: contemporary results and remaining controversies. *Eur. Urology*, **38(2)**, 121-30
- Guirguis R., Schiffmann E., Liu B. (1998). Detection of autocrine motility factor in urine as a marker of bladder cancer. *Journal Natl. Cancer Inst.*, **80**, 1203-1211.
- Habuchi T., Ogawa O., Kakeni Y. (1992). Allelic loss of chromosome 17p in urothelial cancer: strong association with invasive phenotype. *Journal Urology*, **148**, 1595-1599.
- Habuchi T., Marberger M., Droller M.J., George P., Hemstreet I., Barton H., Schalken J.A., Bernd J., Drager S., Murphy W.M., Bono A.V., Goebell P., Getzenberg R.H., Hautmann S.H., Messing E., Fradet Y. and Lokeshwar V.B. (2005). Prognostic markers for bladder cancer : international consensus panel on bladder tumor markers. *Urology*, **66 (Suppl 6a)**, 64–74.
- Hanahan D., Weinberg R.A. (2000). The hallmarks of cancer. *Cell*, **100**, 57–70.
- Hemminki K., Dickey C., Karlsson S., Bell D., Hsu Y., Tsai W.-Y., Mooney L.A., Savela K., Perera F.P. (1997). Aromatic DNA adducts in foundry workers in relation to exposure, life style and CYP1A1 and glutathione transferase M1 genotype. *Carcinogenesis*, **18**, 345–350.
- Hirata Y., Orth D.N. (1979). Epidermal growth factor (urogastrone) in human fluids: size heterogeneity. *Journal Clin. Endocrinol. Metab.*, **48**, 673-679.
- Hu X., Ji X., Srivastava S.K., Xia H. (1997). Mechanism of differential catalytic efficiency of the two polymorphic forms of the human glutathione S-transferase P1-1 in the glutathione conjugation of carcinogenic diol epoxide of chrysene, *Arch. Biochem. Biophys.*, **345**, 32–38.
- Hung R.J., Boffetta P., Brennan P., Malaveille C., Hautefeuille A., Donato F., Gelatti U., Spaliviero M., Placidi D., Carta A., Scotto di Carlo A., Porru S. (2004). GST, NAT, SULT1A1, CYP1B1 genetic polymorphisms, interactions with environmental exposures and bladder cancer risk in a high-risk population. *Int. Journal Cancer*, **1, 110 (4)**, 598-604.
- Hurlin P.J., Queva C., Koskinen P.J. (1995). Mad3 and Mad4: novel Max-interacting transcriptional repressors that suppress c-myc dependent transformation and are expressed during neural and epidermal differentiation. *EMBOJ*, **14**, 5646–5659.
- Hussain S.A., Palmer D.H., Ganesan R. (2004). Role of hypoxic marker ca 1x in transitional cell carcinoma of the bladder. *Oncology Rep.*, **11**, 1005–10.
- Jeong H.J., Kim H.J., Seo I.Y., Kim H.J., Oh G., Chae S.C., Lim J.S., Chung H.T., Kim J.J. (2003). Association between glutathione s- transferase M1 and T1

- polymorphisms and increased risk for bladder cancer in korean smokers. *Cancer Letters*, **202**, 193-199.
- Jung I., (2000). Molecular mechanisms and pathways in bladder cancer development and progression. *Cancer Control*, **7**, 325-334.
- Juronen E., Tasa G., Uuskula M., Pooga M., Mikelsaar A.V. (1996a). Production and characterization of monoclonal antibodies against class theta glutathione s-transferase t1-1, hybridoma. *Biochem. Mol. Biol. Int.*, **15**, 77-82.
- Juronen E., Tasa G., Uusküla M., Pooga M., Mikelsaar A.V. (1996b). Purification, characterization and tissue distribution of human class theta glutathione s-transferase t1-1, *Biochem. Mol. Biol. Int.*, **39**, 21-29.
- Kaldor J.M., Day N.E., Kittelmann B. (1995). Bladder tumours following chemotherapy and radiotherapy for ovarian cancer: a case control study. *Int. Journal Cancer*, **63**, 1-6.
- Kamb A., Gruis N.A., Weaver-Feldhaus J. (1994). A cell cycle regulator potentially involved in the genesis of many tumor types. *Science*, **264**, 436-440.
- Kanayama H. (2001). Matrix metalloproteinases and bladder cancer. *Journal Med. Inves.*, **48**, 31-43.
- Karagas M.R., Park S., Warren A., Hamilton J., Nelson H.H., Mott L.A., Kelsey K.T. (2005). Gender, smoking, glutathione-S-transferase variants and bladder cancer incidence: a population-based study. *Cancer Letter*, **28**, **219(1)**, 63-9.
- Kayaalp O. (2005) *Tibbi Farmakoloji*, **Altıncı baskı**. Ankara
- Keen A.J., Knowles M.A. (1994). Definition of two regions of deletion on chromosome 9 in carcinoma of the bladder. *Oncogene*, **9**, 2083-2088.
- Kellen E., Zeegers M., Paulussen A., Vlietinck R., Vlem E.V., Veulemans H., Buntinx F. (2007a). Does occupational exposure to PAHs, diesel and aromatic amines interact with smoking and metabolic genetic polymorphisms to increase the risk on bladder cancer? The Belgian case control study on bladder cancer risk. *Cancer Letter*, **8 (245) (1-2)**, 51-60.
- Kellen E., Hemelt M., Broberg K., Golka K., Kristensen V.N., Hung R.J., Matullo G., Mittal R.D., Porru S., Povey A., Schulz W.A., Shen J., Buntinx F., Zeegers M.P., Taioli E. (2007b). Pooled analysis and meta-analysis of the glutathione S-transferase P1 Ile 105Val polymorphism and bladder cancer: a HuGE-GSEC review. *Am. Journal Epidemiol.*, **1**, **165**, **(11)**, 1221-30.
- Kelly J.D., Williamson K.E., Irvine A.E. (1999). Apoptosis and its clinical significance for bladder cancer therapy. *B.J.U. Int.*, **83**, 1-10.

- Kiemeney L.A., Schoenberg M. (1996). Familial transitional cell carcinoma. *Journal Urology*, **156**, 867-872.
- Kiemeney L.A., Moret N.C., Witjes J.A. (1997). Familial transitional cell carcinoma among the population of Iceland. *Journal Urology*, **157**, 1649-1651.
- Kim W.J., Kim H., Kim C.H., Lee M.S., Oh B.R., Lee H.M. (2002). Gstt1- null genotypes is a protective factor against bladder cancer. *Urology*, **60**, 913-8.
- Klug W.S. ve Cummings M.R. (2000). *Genetik Kavramlar. Altıncı Baskı*. Palmiye Kitapevi.
- Knowles M.A. (1999). The genetics of transitional cell carcinoma: progress and potential clinical application. *B.J.U. International*, **84**, 412-427.
- Knudson A.G. (1971). Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **68**, 820-823.
- Korman H.J., Peabody J.O., Cerny J.C. (1996). Autocrine motility factor receptor as a possible urine marker for transitional cell carcinoma of the bladder. *Journal Urology*, **155**, 347-349.
- Kotake T., Saiki S., Kinouchi T., Shiku H., Nakayama E. (1990). Detection of the c-myc gene product in urinary bladder cancer. *Jpn. Journal Cancer Research*, **81**, 1198-1201.
- Kramer A.A., Graham S., Burnett W.S. (1991). Familial aggregation of bladder cancer stratified by smoking status. *Epidemiology*, **2**, 145-148.
- Kroft S.H., Oyasu R. (1994). Urinary bladder cancer: mechanisms of development and progression. *Lab. Invest.*, **71**, 158-174.
- Kumar V., Abbas A.K., Fausto N. (2005). *Pathologic basis of disease. 7. Edition*, 1029-1031.
- Lacombe L., Dalbagni G., Zhang Z.F. (1996). Overexpression of p53 protein in a high-risk population of patients with superficial bladder cancer before and after bacillus Calmette-Guerin therapy: correlation to clinical outcome. *Journal Clin. Oncol.*, **14**, 2646-2652.
- Landi S., Hanley N.M., Warren S.H., Pegram R.A., Demarini D.M. (1999a). Induction of genetic damage in human lymphocytes and mutations in salmonella by trihalomethanes: role of red blood cells and gstt1-1 polymorphism. *Mutagenesis*, **14**, 479-482.
- Landi S., Hanley N.M., Kligerman A.D., Demarini D.M. (1999b). Induction of sister chromatid exchanges in human peripheral blood lymphocytes by bromoform:

- investigation of the role of gstm1-1 polymorphism, *Mutat. Research*, **429**, 261–267.
- Landi S., (2000). Mammalian class theta gst and differential susceptibility to carcinogens: a review. *Mutation Research*, **463**, 247–283.
- Lane D.P. (1992). p53, guardian of the genome. *Nature*, **358**, 15–6.
- Lee S.J., Cho S.H., Park S.K., Kim S.W., Park M.S., Choi H.Y., Choi J.Y., Lee S.Y., Im H.J., Kim J.Y., Yoon K.J., Choi H., Shin S.G., Park T.W., Rothman N., Hirvonen A., Kang D., (2002). Combined effect of glutathione S-transferase M1 and T1 genotypes on bladder cancer risk. *Cancer Letters*, **177**, 173–179.
- Li H., Feng L., Xu Y., Yao L., Ouyang T., Li J., Wang T., Fan Z., Lin B., Li J., Xie Y. (2006). The association of CYP2D6 \*10 polymorphism with breast cancer risk and clinico-pathologic characteristics in Chinese women. *Acta. Oncol.*, **45**(5), 597–601.
- Liebert M., Washington R., Wedemeyer G. (1994). Loss of co-localization of alpha 6 beta 4 integrin and collagen VII in bladder cancer. *Am. Journal Pathol.*, **144**, 787–799.
- Lipponen P., Eskelinen M. (1994). Expression of epidermal growth factor receptor in bladder cancer as related to established prognostic factors, oncoprotein (c-erbB-2, p53) expression and long-term prognosis. *Br. Journal Cancer*, **69**, 1120–1125.
- Lipponen P.K. (1995). Expression of c-myc protein is related to cell proliferation and expression of growth factor receptors in transitional cell bladder cancer. *Journal Pathol.*, **175**, 203–210.
- Lipponen P., Aaltomaa S., Eskelinen M., Ala-Opas M., Komsa V.M. (1998). Expression of p21 (waf1/cip1) protein in transitional cell bladder tumours and its prognostic value. *Eur. Urology*, **34**, 237–243.
- Liukkonen T., Lipponen P., Raitanen M. (2000). Evaluation of p21 WAF1/CIP1 and cyclin D1 expression in the progression of superficial bladder cancer. *Fin. Bladder Group. Urology Research*, **28**, 285–292.
- Lockeshwar V.B., Obek C., Soloway M.S. (1997). Tumor-associated hyaluronic acid: a new sensitive and specific urine marker for bladder cancer. *Cancer Research*, **57**, 773–777.
- Louhelainen J., Wijkstrom H., Hemminki K. (2000). Initiation-development modelling of allelic losses on chromosome 9 in multifocal bladder cancer. *Eur. Journal Cancer*. **14**, 479–482.
- Maa Q., Lina G., Qinb Y., Luc D., Golkad K., Gellere F., Chenb J. and Shena J. (2003). GSTP1A1578G (Ile105Val) polymorphism in benzidine-exposed workers: an

- association with cytological grading of exfoliated urothelial cells. *Pharmacogenetics*, **13**, 409–415.
- Mao L., Schoenberg M.P., Scicchitano M. (1996). Molecular detection of primary bladder cancer by microsatellite analysis. *Science*, **271**, 659-662.
- Margaret R.K., Park S., Warren A., Hamilton J., Heather H.N., Leila A.M., Karl T.K. (2005). Gender, smoking, glutathione-S-transferase variants and bladder cancer incidence: a population-based study. *Cancer Letters*, **219**, 63–69.
- Martone T., Vineis P., Malaveille C., Terracini B. (2000). Impact of polymorphisms in xeno(end)biotic metabolism on pattern and frequency of p53 mutations in bladder cancer. *Mutat. Research*, **462(2-3)**, 303-9.
- Matsumura Y., Sugiyama M., Matsumura S. (1995). Unusual retention of introns in CD44 gene transcripts in bladder cancer provides new diagnostic and clinical oncological opportunities. *Journal Pathol.*, **177**, 11–20.
- Matthias C., Bockmuhl U., Jahnke V., Harries L.W. (1998). The glutathione S-transferase GSTP1 polymorphism: effect on susceptibility to oralrpharyngeal and laryngeal carcinomas, *Pharmacogenetics*, **8**, 1–6.
- Meijden V.D., Sylevester R. (2003.) BCG immunotherapy for superficial bladder cancer : an overview of the past, the present and the future . *Eau. Update Series*, **1**, 80-86.
- Mellon J.K., Lunec J., Wright C., Horne C.H., Kelly P., Neal D.E. (1996). c-erbB-2 in bladder cancer: molecular biology, correlation with epidermal growth factor receptors and prognostic value. *Journal Urology*, **155**, 321–326.
- Messing E.M., Murphy-Brooks N. (1994). Recovery of epidermal growth factor in voided urine of patients with bladder cancer. *Urology*, **44**, 502-506.
- Messing E.M. (1990). Clinical implications of the expression of epidermal growth factor receptors in human transitional cell carcinoma. *Cancer Research*, **50**, 2530-2537.
- Mihara K., Cao X.R., Yen A. (1989). Cell cycle-dependent regulation of phosphorylation of the human retinoblastoma gene product. *Science*, **246**, 1300–1303.
- Miller S.A., Dykes D.D. and Polesky H.F. (1988). A Simple salting out for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*, **16**-3-1215.
- Miller M.C., Harvey W., Douglas M., Bell A. (2001). Genetic variability in susceptibility and response to toxicants. *Toxicology Letters*, **120**, 269–280.



- Miyake H., Eto H., Arakawa S., Kamidono S., Hara I. (2002). Over expression of CD44V8-10 in urinary exfoliated cells as an independent prognostic predictor in patients with urothelial cancer. *Journal Urology*, **167**, 1282–1287.
- Moonen H., Engels L., Kleinjans J., Kok T. (2005). The CYP1A2-164A->C polymorphism (CYP1A2\*1F) is associated with the risk for colorectal adenomas in humans. *Cancer Letter*, **8**, **229(1)**, 25-31.
- Moore L.E., Wiencke J.K., Bates M.N., Zheng S., Rey O.A., Smith A.H. (2004). Investigation of genetic polymorphisms and smoking in a bladder cancer case-control study in Argentina. *Cancer Letter*, **10**, **211(2)**, 199-207.
- Moriyama M., Akiyama T., Yamamoto T. (1991). Expression of cerbB- 2 gene product in urinary bladder cancer. *Journal Urology*, **145**, 423–427.
- Motykiewicz G., Michalska J., Pendzich J., Malusecka E. (1998). A molecular epidemiological study in women from Upper Silesia, Poland. *Toxicol. Letter*, **97**, 195–202.
- Murata M., Watanabe M., Yamanaka M., Kubota Y., Ito H., Nagao M., Katoh T., Kamataki T., Kawamura J., Yatani R., Shiraishi T. (2001). Genetic polymorphisms in cytochrome P450 (CYP) 1A1, CYP1A2, CYP2E1, glutathione S-transferase (GST) M1 and GSTT1 and susceptibility to prostate cancer in the Japanese population. *Cancer Leter*, **26**, **165(2)**, 171-7.
- Nagata Y., Abe M., Kobayashi K. (1990). Point mutations of c-ras genes in human bladder cancer and kidney cancer. *Jpn. Journal Cancer Research*, **81**, 22–27.
- Nakao M. (2001). Epigenetics. interaction of DNA methylation and chromatin. *Gene*, **278**, 25–31.
- Naot D., Sionov R.V., Ish-Shalom D. (1997). CD44: structure, function, and association with the malignant process. *Adv. Cancer Research*, **71**, 241–319.
- Neugut A.L., Ahsan H., Robinson E. (1997). Bladder carcinoma and other second malignancies after radiotherapy for prostate carcinoma. *Cancer*, **79**, 1600-1604.
- Newling D.W., Hetherington L., Sundaram S.K. (2001). The use of valrubicine for the chemoresection of superficial bladder cancer: a marker lesion study. *Eur. Urology*, **39**, 643 -7.
- Nussbaum R.L., Roderick R.M., Huntington F.W., Cornelius F. B. (2005). *Tibbi Genetik*, **6**. **Baskı**.

- Olderoy G., Daehlin L., Ogreid D. (1998). Low-frequency mutation of Ha-ras and Ki-ras oncogenes in transitional cell carcinoma of the bladder. *Anticancer Research*, **18**, 2675–2678.
- Oosterlinck W. (2001). The management of superficial bladder cancer. *B.J.U. International*, **87**, 135-140.
- Oosterlinck W. (2004). Guidelines a diagnosis and ttreatment of superficial bladder cancer. *Minerva Urology Nefrol.*, **56**, 65-72.
- Parker S.B, Eichele G., Zhang P. (1995). p53-independent expression of p21 Cip1 in muscle and other terminally differentiating cells. *Science*, **267**, 1024–1027.
- Pemble S., Schroeder K.R., Spencer S.R., Meyer D.J., Hallier E., Bolt H.M., Ketterer B., Taylor J.B. (1994). Human glutathione S-transferase theta (GSTT1): cDNA cloning and the characterization of a genetic polymorphism. *Biochem. Journal*, **300**, 271–276.
- Popov Z., Gil-Diez De Medina S., Lefere Belda M.A. (2000). Low E-cadherin expression in bladder cancer at the transcriptional and protein level provides prognostic information. *Br. Journal*, **83**, 209–14.
- Rao J.Y., Hemstreet G.P., Hurst R.E. (1993). Alterations in phenotypic biochemical markers in bladder epithelium during tumorigenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**, 8287-8291.
- Ribeiro-Filho L.A., Franks J., Sasaki M. (2002). CpG hypermethylation of promoter region and inactivation of E-cadherin gene in human bladder cancer. *Mol. Carcinogenesis*, **34**, 87–98.
- Romkes-Sparks M., Mnuskin A., Chern H.D., Persad R., Fleming C., Sibley G.N., Smith P., Wilkinson G.R., Branch R.A. (1994). Correlation of polymorphic expression of CYP2D6 mRNA in bladder mucosa and tumor tissue to in vivo debrisoquine hydroxylase activity. *Carcinogenesis*, **15 (9)**, 1955-61.
- Ryk C., Berggren P., Kumar R., Hemminki K., Larsson P., Steineck G., Lambert B. and Hou S.M. (2005). Influence of GSTM1, GSTT1, GSTP1 and NAT2 genotypes on the p53 mutational spectrum in bladder tumours. *International Journal Cancer*, **113**, 761–768.
- Quek M.L., Quinn D.I., Daneshmand S., Stein J.P. (2003). Molecular prognostication in bladder cancer—a current perspective. *European Journal of Cancer*, **39**, 1501–1510.
- Quelle D.E., Zindy F., Ashmun R.A. (1995). Alternative reading frames of the INK4a tumor suppressor gene encode two unrelated proteins capable of inducing cell cycle arrest. *Cell*, **83**, 993-1000.

- Salagovic J., Kalina I., Stubna J., Habalova V., Hrivnak M., Vlansky L. (1998). Genetic polymorphism of glutathione s-transferase m1 and t1 as risk factor in lung and bladder cancer. *Neoplasma*, **45**, 312–7.
- Salagovic J., Kalina I., Habalova V., Hrivnak M., Valansky L., Biros E.. (1999). The role of human glutathione S-transferases M1 and T1 in individual susceptibility to bladder cancer. *Physiol. Research*, **48(6)**, 465-71.
- Sanyal S., Festa F., Sakano S., Zhang Z., Steineck G., Norming U., Wijkström H., Larsson P., Kumar R., Hemminki K. (2004). Polymorphisms in DNA repair and metabolic genes in bladder cancer. *Carcinogenesis*, **25(5)**, 729-34.
- Sarkis A.S., Dalbagni G., Cordon-Cardo C. (1993). Nuclear overexpression of p53 protein in transitional cell bladder carcinoma: a marker for disease progression. *Journal Natl. Cancer Inst.*, **85**, 53–59.
- Scarpato R., Migliore L., Hirvonen A., Falck G., Norppa H., (1996). Cytogenetic monitoring of occupational exposure to pesticides: characterization of GSTM1, GSTT1 and NAT2 genotypes. *Environ. Mol. Mutagen.*, **27**, 263–269.
- Seidegard J., Vorachek W.R., Pero R.W., Pearson W.R. (1988). Hereditary differences in the expression of the human glutathione transferase active on trans-stilbene oxide are due to a gene deletion. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **85**, 7293– 7297.
- Shapiro L., Fannon A.M., Kwong P.D. (1995). Structural basis of cell-cell adhesion by cadherins. *Nature*, **374**, 327–37.
- Shimazui T., Schalken J.A., Girolidi L.A. (1996). Prognostic value of cadherin-associated molecules (alpha-, beta-, and gamma-catenins and p120cas) in bladder tumors. *Cancer Research*, **56**, 4154-4158.
- Sobti R.C., Sharma S., Joshi A., Jindal S.K. and Janmeja A. (2003). CYP1A1 And CYP2D6 polymorphism and risk of lung cancer in a north indian population. *Biomarkers*, **8(5)**, 415-428.
- Sobti R.C., Bardran A.I., Sharma S. (2005). Genetic polymorphisms of CYP2D6, GSTM1, and GSTT1 bladder cancer risk in North India. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, **156**, 68-73.
- Solsona E., Iborra I., Ricos J.V., Dumont R., Casanova J.L., Calabuig C. (1997). Upper urinary tract involvement in patients with bladder carcinoma in situ: its impact on management. *Urology*, **49**, 347- 52.
- Sorsa M., Osterman-Golkar S., Peltonen K., Saarikoski S.T., Sram R. (1996). Assessment of exposure to butadiene in the process industry. *Toxicology*, **113**, 77–83.

- Spruck C.H., Ohneseit P.F., Gonzalez-Zulueta M. (1994) Two molecular pathways to transitional cell carcinoma of the bladder. *Cancer Research*, **54**, 784–8.
- Srivastava D.S.L., Mishraa D.K., Mandhania A., Mittal B., Kumara A., Mittala R.D. (2005). Association of genetic polymorphism of glutathione s-transferase M1, T1, P1 and susceptibility to bladder cancer. *European Urology*, **48**, 339–344.
- Stadler W.M. (1993). Molecular events in the initiation and progression of bladder cancer. *Int. Journal Oncol.*, **3**, 549.
- Stefano Landia B., Federica Gemignania B., Victor Morenoc D., Gioia-Patricolab L., Chabrierb A.L., Guinoc E., Navarroc M., Ocad J.D., Gabriel Capella C., Canzianb F. and For The Bellvitge Colorectal Cancer Study Groupe. (2005) A comprehensive analysis of phase I and phase II metabolism gene polymorphisms and risk of colorectal cancer. *Pharmacogenetics And Genomics*, **15**, 535–546.
- Stein J.P., Ginsberg D.A., Grossfeld G.D. (1998). Effect of p21 WAF1/CIP1 expression on tumor progression in bladder cancer. *Journal Natl. Cancer Inst.*, **90**, 1072–1079.
- Steinhoff C., Franke K.H., Golka K., Thier R., Romer H.C., Rotzel C. (2000). Glutathione transferase isozyme genotypes in patients with prostate and bladder carcinoma. *Arch. Toxicol.*, **74**, 521–6.
- Steinmaus C., Moore L.E., Shipp M., Kalman D., Rey O.A., Biggs M.L., Hopenhayn C., Bates M.N., Zheng S., Wiencke J.K., Smith A.H. (2007). Genetic polymorphisms in MTHFR 677 and 1298, GSTM1 and T1, and metabolism of arsenic. *Journal Toxicol. Environ. Health*, **15**, **70(2)**, 159-70.
- Stonehill W.H., Dmochowski R.R., Patterson A.L. (1996). Risk factors for bladder tumors in spinal cord injury patients. *Journal Urology*, **155**, 1248-1250.
- Strange R.C., Spiteri M.A., Ramachandran S., Fryer A.A. (2001). Glutathione-S-transferase family of enzymes. *Mutat. Res.*, **1**, **482 (1-2)**, 21-6.
- Streeter E.H., Harris A.L. (2002). Angiogenesis in bladder cancer—prognostic marker and target for future therapy. *Surg. Oncol.*, **11**, 85–100.
- Sundberg K., Johansson A.S., Stenberg G., Widersten M. (1998). Differences in the catalytic efficiencies of allelic variants of glutathione transferase P1-1 towards carcinogenic diol epoxides of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Carcinogenesis*, **19**, 433–436.
- T.C. Sağlık Bakanlığı, Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Hıfzıssıhha Mektebi Müdürlüğü, Ulusal Hastalık Yüğü ve Maliyet-Etkililik Projesi Final Raporu. (2000).

- Takada S., Namiki M., Matsumiya K. (1996). Expression of CD44 splice variants in human transitional cell carcinoma. *Eur. Urology*, **29**, 370–373.
- Takeichi M. (1991). Cadherin cell adhesion receptors as a morphogenetic regulator. *Science*, **251**, 1451–5.
- Tamir S., Tannenbaum S.R. (1996). The role of nitric oxide (NO) in the carcinogenic process. *Biochim. Biophys. Acta.*, **1288**, 31-36.
- Theodorescu D., Laderoute K.R., Calaoagan J.M. (1998). Inhibition of human bladder cancer motility by genistein is dependent on epidermal growth factor receptor but not p21ras gene expression. *Int. Journal Cancer*, **78**, 775-782.
- Thogersen V.B., Sorensen B.S., Poulsen S.S., Orntoft T.F., Wolf H., Nexø E. (2001). A subclass of her1 ligands are prognostic markers for survival in bladder cancer patients. *Cancer Research*, **61**, 6227.
- Topic E., Stefanovic M., Ivanisevic A.M., Petrinovic R., Curcic I. (2000). The cytochrome P450 2D6 (CYP2D6) gene polymorphism among breast and head and neck cancer patients. *Clin. Chim. Acta.*, **296(1-2)**, 101-9.
- Toruner G.A., Akyerli C., Uçar A., Aki T., Atsu N., Ozen H., Tez M., Cetinkaya M., Özçelik T. (2001). Polymorphisms of glutathione S-transferase genes (GSTM1, GSTP1 and GSTT1) and bladder cancer susceptibility in the Turkish population. *Arch. Toxicol.*, **75(8)**, 459-64.
- Travis L.B., Curtis R.E., Glimelius B. (1995). Bladder and kidney cancer following cyclophosphamide therapy for non-Hodgkin's lymphoma. *Journal Natl. Cancer Inst.*, **87**, 524-530.
- Tsai Y.C., Nichols P.W., Hiti A.L. (1990). Allelic losses of chromosome 9,11 and 17 in human bladder cancer. *Cancer Research*, **50**, 44- 47.
- Turner K.J., Crew J.P., Wykoff C.C. (2002). The hypoxia-inducible genes vegf and ca9 are differentially regulated in superficial vs invasive bladder cancer. *Br. Journal Cancer*; **86**, 1276–82.
- Tuttle T.M., Williams G.M., Marshall F.F. (1988). Evidence for cyclophosphamide induced transitional cell carcinoma in a renal transplant patient. *Journal Urology*, **140**, 1009-1011.
- Ünal M., Tamer L., Ates N.A., Akbaş Y., Pata Y.S., Vayisoğlu Y., Ercan B., Görür K. and Atik U. (2004). Glutathione s-transferase m1, t1, and p1 gene polymorphism in laryngeal squamous cell carcinoma. *American Journal of Otolaryngology*, **25**, 5, 317-322.

- Vastrik I., Makela T.P., Koskinen P.J., Alitalo K. (1995). Determination of sequences responsible for the differential regulation of Myc function by delta Max and Max. *Oncogene*, **11**, 553–560.
- Veikkola T., Alitalo K. (1999). Receptors and angiogenesis. *Cancer Biol.*, **9**, 211–20.
- Vinata B.L., Habuchi T., Grossman H.B., Willham M.M., Stefan H.H., George P.H., Aldo V.B., Robert H.G., Peter G., Bernd J.S., Jack A.S., Yves F., Michael M., Messing E., and Michael J.D. (2005). Bladder tumor markers beyond cytology: international consensus panel on bladder tumor markers. *Urology*, **66 (Suppl 6a)**, 35–63.
- Vihinen P., Kahari V.M. (2002). Matrix metalloproteinases in cancer: Prognostic markers and therapeutic targets. *Int. Journal Cancer*, **99**, 157–66.
- Watson M.A., Stewart R.K., Smith G.B., Massey T.E., Bell D.A. (1998). Human glutathione S-transferase P1 polymorphisms: relationship to lung tissue enzyme activity and population frequency distribution. *Carcinogenesis*, **19**, 275– 280.
- Watt R.A., Shatzman A.R., Rosenberg M. (1985). Expression and characterization of the human c-myc DNA-binding protein. *Mol. Cell Biol.*, **5**, 448–456.
- Whittington A., Vichai V., Webb G., Baker R., Pearson W., Board P. (1999). Gene structure, expression and chromosomal localization of murine theta class glutathione transferase mgstt1-1. *Biochem. Journal*, **337**, 141–151.
- Wu X., Lin X., Dinney C.P., Gu J., Grossman H.B. (2007). Genetic polymorphism in bladder cancer. *Front. Biosci.*, **1(12)**, 192-213.
- Zhao H., Lin J., Grossman H.B., Hernandez L.M., Dinney C.P., Wu X. (2007). Dietary isothiocyanates, GSTM1, GSTT1, NAT2 polymorphisms and bladder cancer risk. *Int. Journal Cancer*. **15, 120(10)**, 2208-13.

[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp\\_ref.cgi?rs=762551](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?rs=762551)

[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp\\_ref.cgi?rs=1695](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?rs=1695)

**BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU**

Mesane tümörlü olgularda metabolik genlerin polimorfik etkilerinin incelenmesine yönelik bir araştırma yapmak üzere sizden sadece 5 ml kan alınacaktır. Araştırmaya katılıp katılmama hakkına sahipsiniz. Araştırma başladıktan sonra istediğiniz taktirde araştırmadan ayrılabilirsiniz. Ayrıca araştırmanın gidişine göre rızanıza bakılmaksızın araştırma dışında bırakılabilirsiniz. Çalışmaya yaklaşık 250 gönüllü hastanın katılmasını planlıyoruz.

“Yukarıda, gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla, söz konusu araştırmaya kendi rızamla, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.” TARİH:

**Gönüllünün ;**

Adı Soyadı:

Adresi Tel No.:

İmzası :

Velayet ve vesayet altında bulunanlar için veli ve/veya vasisinin

Adı Soyadı:

Adresi, Tel No:

İmzası :

Açıklamayı yapan araştırmacının

Adı Soyadı:

Adresi Tel No.:

İmzası :

Rıza alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin

Adı Soyadı:

Adresi, Tel No.:

İmzası :

**HASTA BİLGİ FORMU**

EK-B

HASTANIN ADI SOYADI	
YAŞ/ CİNSİYET/MEMLEKET	
YATTIĞI KLİNİK/DOSYA NO.	
TARİH	
MESLEĞİ	
ADRESİ	
TEL NO	
KLİNİK TANI	
PATOLOJİ SONUCU	
HASTALIĞIN AİLESELLİĞİ	
İLK KEZ GÖRÜLDÜĞÜ YAŞ VE TEKRAR YILLARI	
AİLESİ VE KENDİSİNDEKİ KANSER HİKAYESİ	
AİLESİ VE KENDİSİNDEKİ ŞEKER HASTALIĞI HİKAYESİ	
AİLESİ VE KENDİSİNDEKİ HİPERTANSİYON HİKAYESİ	
AİLESİ VE KENDİSİNDEKİ BEHÇET HASTALIĞI HİKAYESİ	
AİLESİ VE KENDİSİNDEKİ KALP HASTALIĞI HİKAYESİ	
AİLESİ VE KENDİSİNDEKİ BÖBREK TAŞI HİKAYESİ	
AİLESİ VE KENDİSİNDEKİ SEDEF HASTALIĞI HİKAYESİ	
ALKOLVE SİGARA KULLANIM DURUMU(ORTALAMA MİKTARI)	



**ÖZGEÇMİŞ**

**Adı Soyadı:** Ertan ALTAYLI

**Doğum Yeri:** Turhal

**Doğum Tarihi:** 14.07.1971

**Medeni Durumu:** Evli, bir kızı bir oğlu var.

**Yabancı Dili:** İngilizce

**E-Mail:** ertanaltayli@yahoo.com

**Eğitim Durumu:** 1977-1982 Kahraman Cengiz Topel İlkokulu.

1982-1985 Turhal Lisesi, Orta Kısım.

1985-1988 Turhal Lisesi.

1988-1995 GATA As. Tıp Fak.

**Görev Yeri:** TSK Sağlık Komutanlığı / ANKARA

**Doktora:** 2003 OMÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji A.B.D.

Doktora Tez Konusu: *CYP1A2*, *CYP2D6*, *GSTM1*, *GSTP1* ve *GSTT1* Genleri Varyantlarının Mesane Tümörü İle İlişkisi.