

T.C.
HALIÇ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

MESANE KANSERİNDE
GLUTATYON-S-TRANSFERAZ M1 VE T1
POLİMORFİZMLERİNİN ROLÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hazırlayan

Didem YÖZDEMİR

Danışman

Yrd. Doç. Dr. NAGEHAN ERSOY TUNALI

İSTANBUL – 2012

ÖNSÖZ

Bu çalışma 2010 – 2012 yılları arasında T.C. Haliç Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü'nün bilimsel araştırma ve uygulama çalışmalarına verdiği destek ile hazırlanmıştır.

Yüksek lisans eğitimim boyunca, engin bilgisi ve tecrübesi ile bana her zaman doğru yolu gösteren, sabrı ve hoşgörüsüyle desteğini hiçbir zaman üzerimden esirgemeyen tez danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Nagehan Ersoy TUNALI 'ya yüksek lisans eğitimim boyunca verdiği destek için sonsuz teşekkür ederim.

Tanıdığım günden beri büyük sevgi ve saygı duyduğum, engin tecrübelerinden beni hayatım boyunca mahrum etmeyen, Sayın Hüseyin Çavuşoğlu'na desteklerini hiçbir zaman esirgemediği için çok teşekkür ederim.

Tanıdığım günden beri yanımda olan ve tez çalışmam boyunca manevi desteklerini üzerimden eksik etmeyen sevgili arkadaşlarım Bahar Tül ve Göksel Turhan'a ayrıca teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak tüm hayatım boyunca sevgi, hoşgörü ve desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen, verdiğim her kararı destekleyerek bu günlere gelmemi sağlayan sevgili anne ve babama sonsuz minnet ve teşekkürlerimi bir borç bilirim.

İstanbul, 2012

Didem YÖZDEMİR

İÇİNDEKİLER

Sayfa No.

İÇİNDEKİLER	i
ŞEKİLLER LİSTESİ	iv
TABLolar LİSTESİ	v
KISALTMALAR LİSTESİ	vi
ÖZET	viii
SUMMARY	ix
1.GİRİŞ	1
1.1. Mesane Kanserinin Patofizyolojisi.....	2
1.2. Mesane Kanserinin Kliniği.....	4
1.3. Mesane Kanserinin Teşhisi.....	5
1.4. Mesane Kanserinin Tedavisi.....	6
1.5. Mesane Kanserinde Risk Faktörleri.....	7
1.5.1. Tütün Ürünleri Tüketimi.....	7
1.5.2. Diyet ve Sıvı Tüketimi.....	8
1.5.3. Cinsiyet.....	9
1.5.4. Yaş.....	10
1.5.5. Mesleki Risk Faktörleri.....	10
1.5.6. Parazitler.....	11
1.6. Mesane Kanserinin Moleküler Biyolojisi.....	11
1.6.1. Onkogenler.....	12
1.6.2. Tümör Supressör Genler.....	13
1.6.2.1. p53 Tümör Süpressör Geni.....	14
1.6.2.2. Rb Tümör Süpressör Geni.....	14
1.7. Ksenobiyotik Mekanizması ve Mesane Kanserine Genetik Yatkınlık.....	15
1.8. Glutatyon (GSH) ve Glutatyon-S-Transferazlar (GST).....	16
1.8.1. GST'lerin Doku Spesifik İfadeleri.....	17
1.8.2. GST Polimorfizmleri.....	17
1.8.2.1. GSTM1 Polimorfizmi ve Mesane Kanseri.....	18

1.8.2.2. GSTT1 Polimorfizmi ve Mesane Kanseri.....	19
2. AMAÇ.....	21
3. MATERYAL.....	22
3.1. Araştırmada Kullanılan Örnekler.....	22
3.2. Kandan DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Tampon ve Kimyasallar.....	23
3.3. Yanak içi Epitelden DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Tampon ve Kimyasallar.....	24
3.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu İçin Gerekli Enzim ve Kimyasallar.....	25
3.4.1. Oligonükleotid Primerler.....	25
3.5. Elektroforez İçin Kullanılan Tamponlar ve Kimyasallar.....	26
3.6. DNA Büyüklük Markörleri.....	26
3.7. Cihazlar.....	26
4. YÖNTEMLER.....	28
4.1. Kan Örneklerinden DNA İzolasyonu.....	28
4.2. Yanak içi Epitel Hücrelerinden DNA İzolasyonu.....	28
4.3. Multipleks Polimeraz Zincir Reaksiyonu.....	29
4.4. Agaroz Jel Elektroforezi ve Etidyum Bromür Boyaması.....	30
4.5. Verilerin İstatistiksel Analizi.....	31
5. SONUÇLAR.....	32
5.1. Örneklerin Tanımı.....	32
5.2. DNA İzolasyonu.....	32
5.3. Yaş ve Mesane Kanserinin İlişkilendirilmesi.....	32
5.4. Cinsiyet ve Mesane Kanserinin İlişkilendirilmesi.....	33
5.5. Sigara İçimi ve Mesane Kanserinin İlişkilendirilmesi.....	34
5.6. GSTM1 ve GSTT1 Polimorfizmlerinin Moleküler Analizi.....	35
5.7. PCR Sonuçlarının Dizi Analizi ile Teyidi.....	36
5.8. GSTM1 ve GSTT1 Polimorfizmlerinin Tümör Evreleriyle İlişkilendirilmesi.....	37
5.9. GSTM1 ve GSTT1 Polimorfizmlerinin Mesane Kanseri ile İlişkilendirilmesi.....	38
5.10. GSTM1 ve GSTT1 Polimorfizmlerinin Sigara Kullanımı ile İlişkilendirilmesi.....	39
5.11. GSTM1 Polimorfizminin Diğer Risk Faktörleri ile Birlikte Değerlendirilmesi.....	41

6. TARTIŞMA.....	44
6.1. Türk Populasyonunda GSTM1 ve GSTT1 Polimorfizmleri.....	45
7. KAYNAKLAR.....	49
7.1. Makaleler.....	49
7.2. Kitaplar.....	61
7.3. İnternet.....	61
8. ÖZGEÇMİŞ.....	62

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No.

Şekil 1.1. Mesane tümörlerinin evreleri ve yayıldıkları dokular.....	4
Şekil 5.1. Genomik DNA örneklerinin %1'lik agaroz jelde görünümü.....	32
Şekil 5.2. Hasta grubunun yaş dağılım grafiği.....	33
Şekil 5.3. PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jelde görüntülenmesi.....	35
Şekil 5.4. GSTM1 geni örnek kromatogramı.....	36
Şekil 5.5. β -globulin örnek kromatogramı.....	37

TABLULAR LİSTESİ

Sayfa No.

Tablo 1.1. Tütün ürünlerinde bulunan karsinojen tipleri ve miktarları.....	7
Tablo 3.1. Hasta grubu özellikleri.....	22
Tablo 3.2. Kontrol grubu özellikleri.....	23
Tablo 3.3. Primer dizileri.....	25
Tablo 4.1. PCR’da kullanılan malzemeler ve miktarları.....	30
Tablo 4.2. PCR ısı şartları.....	30
Tablo 5.1. Yaş-grup tablosu.....	33
Tablo 5.2. Cinsiyet dağılımları.....	33
Tablo 5.3. Cinsiyet risk tahmini.....	34
Tablo 5.4. Sigara kullanımı dağılımları.....	34
Tablo 5.5. Sigara kullanımı risk tahmini.....	35
Tablo 5.6. GSTM1 genotipi ile tümör evrelerinin karşılaştırması.....	37
Tablo 5.7. GSTT1 genotipi ile tümör evrelerinin karşılaştırması.....	38
Tablo 5.8. GSTM1 ve GSTT1 genotip dağılımları.....	38
Tablo 5.9. Genotiplerin ki-kare analizi.....	38
Tablo 5.10. GSTM1 risk tahmini.....	39
Tablo 5.11. GSTM1-T1 null ve (+) genotip dağılımları.....	39
Tablo 5.12. GSTM1 null, GSTT1 null genotiplerinin risk tahmini.....	39
Tablo 5.13. Sigara içenlerde GSTM1 ve GSTT1 genotip dağılımı.....	40
Tablo 5.14. Sigara içmeyenlerde GSTM1 ve GSTT1 genotip dağılımları.....	40
Tablo 5.15. Hasta ve kontrol grubu erkeklerde GSTM1 dağılımı.....	41
Tablo 5.16. GSTM1 null erkek ve GSTM1(+) kadınların dağılımı.....	41
Tablo 5.17. GSTM1 null erkekler için risk tahmini.....	42
Tablo 5.18. GSTM1 null sigara içen ve GSTM1(+) sigara içmeyen bireylerin dağılımı.....	42
Tablo 5.19. GSTM1 null sigara içenler için risk tahmini.....	42
Tablo 5.20. GSTM1 null, sigara içen erkekler ve GSTM1(+), sigara içmeyen kadınların dağılımı.....	43
Tablo 5.21. GSTM1 null, sigara içen erkekler için risk tahmini.....	43

KISALTMALAR LİSTESİ

AKR	: Aldo-Keto Redüktaz
BCG	: Bacillus Calmette Guerin
Bç	: Baz çifti
BPB	: Bromofenol mavisi
CDK	: Siklin bağımlı kinaz
CIS	: Karsinoma <i>in situ</i>
CYP	: Sitokrom P-450
Df	: Serbestlik derecesi
dNTP	: Deoksiribonükleotid
EDTA	: Etilen diamin tetraasetik asit
EtBr	: Etidyum bromür
FGFR3	: Fibroblast büyüme faktörü reseptörü 3
GSH	: Glutatyon
GST	: Glutatyon S-transferaz
HW	: Hardy-Weinberg
L	: Litre
M	: Molar
MgCl₂	: Magnezyum klorür
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
NaCl	: Sodyum klorür
NAT	: N-asetiltransferaz
OR	: Görelî orantı
PAH	: Polisiklik Aromatik Hidrokarbon
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
Rb	: Retinoblastoma
SDS	: Sodyum dodesil sülfat
SULT	: Sulfotransferaz
TBE	: Tris-Borik Asit-EDTA
TCC	: Tranzisyonel Hücre Karsinomu

TE	: Tris-EDTA
U	: Ünite
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
X²	: Ki-kare

GENEL BİLGİLER

Adı ve Soyadı : Didem YÖZDEMİR
Anabilim Dalı : Moleküler Biyoloji ve Genetik
Programı : Moleküler Biyoloji ve Genetik
Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Nagehan ERSOY TUNALI
Tez Türü ve Tarihi : Yüksek Lisans – Eylül 2012

ÖZET

MESANE KANSERİNDE GLUTATYON-S-TRANSFERAZ M1 ve T1 POLİMORFİZMLERİNİN ROLÜ

Mesane kanseri, dünya genelinde erkeklerde dördüncü, kadınlarda sekizinci en sık görülen kanser türüdür. Epidemiyolojik çalışmalarda sigara tüketimi, meslek sebebi ile maruz kalınan endüstriyel maddeler, genetik faktörler ile çevre arasındaki etkileşimlerin mesane kanseri oluşumu için farklı seviyelerde yatkınlık oluşturduğu görülmektedir. Metabolizmada gerçekleşen reaksiyonlar sonucu meydana gelen endojenlerin ve toksik ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda Glutatyon-S-transferazların (GST) önemli rolleri vardır. Bu enzimler hidrofobik ve elektrofilik özelliklerdeki toksik ksenobiyotiklerle karşılaştıklarında glutatyonla bu bileşikler arasındaki konjugasyon reaksiyonunu katalizleyerek bu bileşiklerin suda çözünür hale gelmesini ve organizmadan atılmasını sağlarlar.

Bu tez çalışması çerçevesinde Türk mesane kanseri hastalarında GSTM1 ve GSTT1 gen polimorfizmlerinin hastalıkla ilişkisi, cinsiyet, yaş ve sigara tüketimi gibi çevresel faktörler ile birlikte araştırılmıştır. Bu amaçla, mesane kanseri tanısı almış 197 hasta ve kanser öyküsü olmayan 164 bireyde multipleks PCR yöntemi ile GSTM1 ve GSTT1 polimorfizmleri belirlenmiş ve mesane kanserine yatkınlıktaki rolleri incelenmiştir. İstatistiksel değerlendirme sonucunda, incelenen popülasyonunda GSTM1 null genotipinin mesane kanseri riskini 1,6 kat artırdığı, GSTT1 null genotipinin ise hastalıkla ilişkisi olmadığı saptanmıştır. Buna ek olarak, sigara içiminin mesane kanseri riskini 5,1 kat; erkek olmanın ise 5,7 kat artıran faktörler olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: GSTM1, GSTT1, polimorfizm, mesane kanseri, multipleks PCR

GENERAL INFORMATION

Name and Surname : Didem YÖZDEMİR
Field : Molecular Biology and Genetics
Program : Molecular Biology and Genetics
Supervisor : Assist. Prof. Dr. Nagehan ERSOY TUNALI
Degree Awarded and Date : Master of Science – September 2012

SUMMARY

THE ROLE OF GLUTATHIONE-S-TRANSFERASE M1 and T1 POLYMORPHISMS IN BLADDER CARCINOMA

Bladder carcinoma is the fourth most frequent cancer type in males and the eighth in females throughout the world. According to epidemiological studies, industrial materials exposed due to profession, interactions between genetic factors and the environment cause various levels of susceptibility to the bladder carcinoma. Glutathione-S-transferases (GST) have important roles in detoxification of endogens and toxic xenobiotics formed as a result of the reactions in the metabolism. When these enzymes come across with the toxic hydrophobic and electrophilic xenobiotics, they catalyze the conjugation reaction between these compounds and glutathione, thus enable the compounds to be soluble in water and disposed from the organism.

Within the scope of this study, the relationship between GSTM1 and GSTT1 gene polymorphisms and the disease along with the factors such as sex, age and smoking in Turkish patients with bladder carcinoma has been investigated. For this purpose, GSTM1 and GSTT1 polymorphisms are analyzed with multiplex PCR in 197 patients diagnosed with bladder carcinoma and in 164 people without cancer history; and the roles of the polymorphisms in susceptibility to the bladder cancer are investigated. As a result of statistical evaluation, it is found that GSTM1 null genotype increases the risk of bladder carcinoma 1,6 times; and GSTT1 null genotype is not associated with the bladder cancer in the study population. Additionally, smoking is found to increase the risk of bladder carcinoma 5,1 times; and being male is also a factor increasing the risk of bladder carcinoma 5,7 times.

Keywords: GSTM1, GSTT1, polymorphism, bladder cancer, multiplex PCR

1. GİRİŞ

Kanser, çevresel ve kalıtsal faktörlerle hücre DNA'sının mutasyona uğraması ve bunların birikimi sonucu ortaya çıkan hücre kontrolünün kaybedildiği bir hastalıktır. Çevresel ve kalıtsal faktörlerin kanser oluşumuna katkıları kanserin türüne ve yaşanılan çevreye göre değişiklik gösterebilmektedir.

Mesane kanseri, batı ülkelerinde en çok görülen kanserler arasında erkeklerde dördüncü, kadınlar arasında ise sekizinci sıradadır (Sanyal ve diğ., 2004). Türkiye'de ölüm nedeni olarak erkeklerde onuncu, kadınlarda ise ondokuzuncu sırada yer almaktadır (Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı, 2000).

Vücudun antioksidan kapasitesinin korunması canlılığın devamı açısından çok önemlidir. Sigara dumanında bulunan polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH), aromatik aminler, nitrozaminler gibi karsinojenlerin aktif metabolitleri, çevresel ya da mesleki olarak maruz kalınan endüstriyel atıklar, iyonize radyasyon ve serbest radikaller hücre içinde birikebilir, anahtar enzimleri inhibe edebilir ya da direkt olarak hücre hasarına neden olabilir (Onaran ve diğ.,1998; Fernandes ve diğ.,1994). Bu toksik metabolitler CYP, NAT, SULT, AKR ve GST'ler gibi spesifik enzimler tarafından detoksifiye edilirler. Bu enzimler toksik maddelerin reaktif bölgelerini çeşitli kimyasallar ile modifiye ederek, vücuda zarar vermeyecek hale getirip depolanmasını ve güvenli bir şekilde dışarı atılmasına yardımcı olurlar (Seidegard ve Ekström, 1997; Hirvonen, 1999).

Toksik olan metabolitlerin detoksifikasyonunda görev alan enzimlerin en önemlilerinden biri de GST genleri tarafından kodlanan glutatyon S-transferaz (GST) izoenzim ailesidir. Bu enzimler çevresel kaynaklı kimyasallar ve doğal olarak oluşan birçok metabolitin detoksifikasyonundan sorumlu olup, dokuların oksidatif hasardan korunmasında rol oynayan önemli enzimlerdir. Hidrofobik ve elektrofilik özelliklerdeki toksik birleşiklerle karşılaştıklarında, glutatyonla (GSH) toksik bileşikler arasındaki konjugasyon reaksiyonunu katalizleyip, bu bileşiklerin suda çözünür hale gelmesini sağlayarak hücreden atılmasına yardımcı olurlar. Böylece hücrenin redoks durumunun düzenlenmesini sağlamış olurlar (Commandeur ve diğ.,1995).

Hücrede bulunan toksik metabolitlerin aktivasyon ve detoksifikasyonunu sağlayan mekanizmada yer alan enzimleri kodlayan genlerde çeşitli nedenlerden dolayı polimorfizmler ortaya çıkabilir. Bu gen dizilerindeki polimorfizmler enzim aktivitesinde değişikliğe neden olabilir ve metabolizmayı olumsuz yönde etkileyebilirler. Karsinogenik metabolitlerin DNA'da direkt ya da dolaylı olarak yol açtığı hasarı tamir etmek ve genom bütünlüğünü korumak için biyolojik tamir mekanizmaları hasara cevap verirler. Eğer amino asit değişimine neden olan polimorfizmler DNA tamir genlerinde meydana gelirse, sistemin DNA hasarını tamir etme kapasitesini etkileyebilir ve sonuçta kişiyi kansere yatkın hale getirebilirler (Shen ve diğ., 2003). Bazı bireylerde görülen belirli kanser türlerine yatkınlığın artması veya azalmasının nedeni olarak da toksik metabolitlerin detoksifikasyonunda rol oynayan enzimlerin gösterdiği genetik polimorfizme bağlı olduğu düşünülmektedir (Malats ve diğ., 2000; Kim ve diğ.,2000; Reszka ve diğ., 2006).

Glutasyon S-transferaz izoenzim ailesi aminoasit dizileri, primer yapıları, kimyasal afiniteleri, substrat spesifitelerine göre alpha (A), mu (M), pi (P), theta(T) ve zeta (Z) olarak 5 sınıfa ayrılmışlardır ve tüm hücrelerde bulunurlar (Picket, 1989; Kimura 1998). Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda GST izoenzim ailesinden mu ve teta alt gruplarının M1 (GSTM1) ve T1 (GSTT1) allellerinin insanlarda en fazla polimorfizme uğradıkları görülmüştür.

Farklı populasyonlarda GSTM1 ve GSTT1 delesyon varyantlarının çeşitli kanser olgularıyla ilişkisinin incelendiği çok sayıda araştırma bulunmaktadır. Ülkemizde de bu allellerin çeşitli kanser türlerinde araştırıldığı birkaç çalışma vardır. Bu genlerin alel frekansları popülasyonlara göre farklılıklar gösterebilmektedir.

1.1. Mesane Kanserinin Patofizyolojisi

Mesane, idrar rezervuarı olarak görev yapan, iç yüzünde transizyonel epitelden oluşmuş mukoza bulunan, müsküler bir organdır. Bu mukozanın üzerinde konektif ve elastik doku içeren submukoza (lamina propria), onun da dışında (müsküler propria) kas tabakası bulunur. Mesane kubbesi ve posterior yüzü peritonla örtülüdür.

Anormal replikasyona uğrayıp tümör oluşturan hücrelerin kanser olarak nitelendirilebilmesi için invazyon özelliği göstermesi gerekmektedir. Yani bu

hücreler farklı tabakalara yayılma özelliğinde olmalıdırlar (Cornell Urology, Bladder Cancer 2012).

İleri yaşlarda ortaya çıkan mesane kanseri gibi birçok insan malignitesi, DNA'da zaman içerisinde meydana gelen değişikliklerin oluşturduğu hem onkogenlerin indüksiyonu, hem de tümör süpresör genlerin inhibisyonu sonucunda hücrelerin malign hücrelere dönüşmesiyle oluşur. Ksenobiyotikler, çeşitli karsinojen maddeler, radyasyon gibi indükleyici ajanlara maruz kalınması hücrelerde bir takım olumsuzluklar meydana getirirler. Tamir mekanizmalarına rağmen, tümör olgularının bir çoğu bu mekanizmalardan kaçabilecek potansiyele sahiptirler (Presti ve diğ.,1991). Mesane kanseri renal pelvisten üretraya tüm ürotelyumun değişik alanlarını tutabilecek malign transformasyona yatkın alan değişikliği şeklinde ortaya çıkabilir (Presti ve diğ.,1991).

Mesane kanserinde en sık rastlanan kanser tipi değişici hücreli epitel karsinomudur. (TCC). Skuamöz hücre karsinoması ve adenokarsinoma tiplerine mesane tümörlerinde az rastlanmalarına rağmen saldırgan özellikte oldukları için önem arz etmektedirler.

Mesane tümörleri yüzeysel ve invazif olma durumlarına göre 6 gruba ayrılırlar;

Ta; İnvazyonu mukoza ile sınırlı olan yüzeysel tümör tipidir. Dışa doğru büyüme gösterirler ve ürotelyumun ötesine geçemezler.

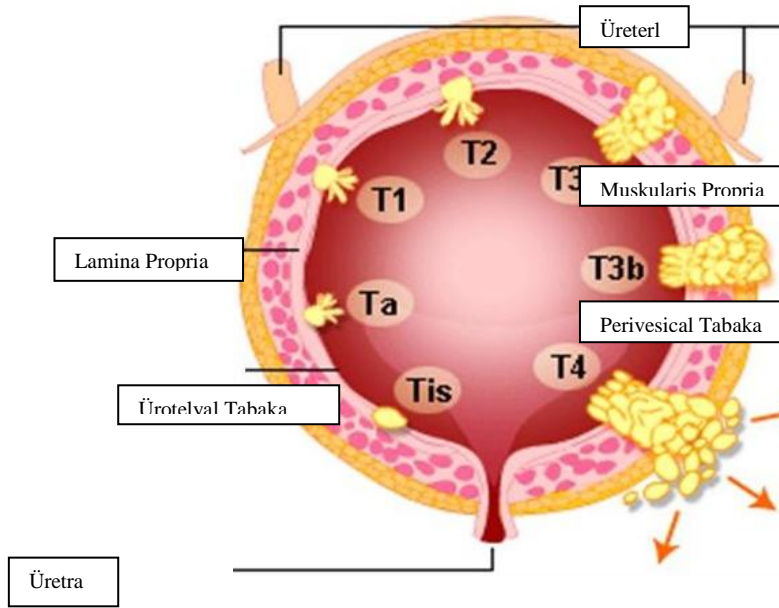
İn Situ Karsinom (CIS); Yassı yüzeysel tümörlerdir, Ta tümör tipi gibi invazyon göstermezler.

T1; Bağ dokuya (Lamina propria) invaze olmuş tümörlerdir.

T2; Kas tabakasına (Musküler propria) invaze olmuş fakat mesane ile sınırlı kalmış tümörlerdir.

T3;Yağ tabakasına (Perivezikal dokuya) invazyon eğiliminde olan tümörlerdir.

T4; Mesane yakınlarında bulunan organlara (prostat, uterus, vajina gibi) invazyon yapabilme yeteneğinde olan tümör tipleridir (Luis ve diğ.,2007).



Şekil 1.1. Mesane tümörlerinin evreleri ve yayıldıkları dokular (e-Bladder Cancer, 2012)

1.2. Mesane Kanserinin Kliniği

İdrarda eritrosite rastlanması (hematüri), idrarda kan görülmesi, sık sık idrara çıkılması, idrara çıkmada zorluk yaşanması (dizüri), tekrar eden idrar yolu enfeksiyonları, kilo kaybı, yorgunluk hissi mesane kanseri hastalarında sık görülen semptomlardır.

Kanser ölümlerinde, mesane kanserinden ölüm oranı erkeklerde %2,9, kadınlarda %1,5 olarak tespit edilmiştir. Tanı konduktan sonra 5 yıl içerisinde ise hayatta kalma oranları erkeklerde kadınlara oranla daha fazladır. Irklara göre tespit edilen hayatta kalma oranları ise; Beyaz erkekler %84; Afrikalı-Amerikalı erkekler %71; Beyaz kadınlar %76; Afrikalı-Amerikalı kadınlar %51'dir. Bu durum yazılan oranlarda da görüldüğü üzere özellikle Afrikalı-Amerikalı kadınlarda daha anlamlıdır (Edward, 2005).

Ayrıca mesane kanseri görülme oranının çevresel karsinojenlere çok daha fazla maruz kaldıkları için, kentsel alanlarda yaşayan bireylerde kırsal alanlarda yaşayanlara göre daha yüksek olduğu da belirlenmiş bir gerçektir. Bu yönelimler, genetik yatkınlık, moleküler anomaliler dışında çevresel etkenler ve endüstriyel materyallerin de mesane kanserinin oluşumuna katkıda bulunduğu gerçeğini desteklemektedir. 2-Naftilamin, Benzidine, 4-Aminobiphenil gibi karsinojen olan

moleküller kuaförlük, tekstil, boyacılık, deri işlemeciliği gibi bir çok sektörde kullanılmakta, bu sektörde çalışan insanlar da bu kimyasallara sürekli maruz kalmaktadırlar (Silverman ve diğ.,1992). Karsinojen ksenobiyotiklerin hücrede birikimi, DNA hasarlarına sebep olmaktadır. Dolayısıyla mesane kanserinde yatkınlık araştırılırken, GST'ler gibi karsinojenlerin hücre içerisindeki dengesini detoksifikasyonla sağlayan, hücre tamir mekanizması, apoptoz gibi hücre döngüsü için kritik olan olaylarda görev alan proteinleri kodlayan genlere araştırmalarda öncelik verilmektedir.

1.3. Mesane Kanserinin Teşhisi

Mesane kanseri, konvansiyonel sitoloji, flow sitometri, kantitatif floresan görüntü analizi, ekskretuar ürografi ve sistoskopi gibi bir çok yöntem ile teşhis edilip tanı konulabilir. Konvansiyonel sitoloji yüksek gradeli tümörler ve karsinoma in situ tanılarında daha duyarlı bir metod olmasına rağmen zaman zaman yanlış sonuçlar verebilmektedir.

Flow sitometri ise, DNA'ya bağlanan floresan bir boya ile hücre çekirdeğinin boyanarak hücrelerdeki DNA miktarının belirlenmesi esasına dayanır. Dolayısıyla bu yöntemle tümörlerdeki anöplid hücre popülasyonu ile S fazındaki hücrelerin yüzdesi hesaplanarak tümör hakkında bilgi sahibi olunabilmektedir (Edward, 2005. 2732–2843).

Kantitatif floresan görüntü analizi mesane kanseri teşhisinde kullanılan diğer bir yöntemdir. Floresan bir mikroskop yardımı ile, mikroskopik bir lam üzerine yayılmış olan hücrelerin çekirdeklerini tarayarak , hücrelerin her birindeki DNA miktarını kantitatif olarak ölçen otomatik bir sitolojik tekniktir.

Ekskretuar ürografi, özellikle küçük boyutlarda olan mesane kanseri tanılarında çok fazla duyarlı bir yöntem olmasa da mesane kanseri semptom ve bulguları görülen çoğu hastada uygulanır.

Mesane kanserinde en çok kullanılan ve en kesin olarak görülen teşhis yöntemi ise sistoskopidir. Sistoskopi elastik fiber optik bir borucuğun idrar kanalından sokularak mesanenin ve üretranın görsel olarak incelenmesi işlemidir. Mesane kanseri olduğundan şüphelenilen her hastaya sistoskopi dışında bimanuel muayene yapılmalı ve gerekirse anormal olanlardan kesin teşhis için biyopsi alınmalıdır.

Bunların yanı sıra tam bir klinik tanı koymak ve tümör evrelerinin belirlenebilmesi için ultrasonografi, bilgisayarlı tomografi (BT) ve manyetik rezonans görüntüleme (MRG) teknikleri de mutlaka kullanılmaktadır (Edward, 2005. 2732–2843).

1.4. Mesane Kanserinin Tedavisi

Tüm kanser türlerinde olduğu gibi, mesane kanseri tedavisinde de ne tür bir tedavi uygulanacağına karar verilmesi için tümör derece ve evrelerinin belirlenmesi doğru tedavi uygulanması için şarttır.

Mesane tümörlerinde genel olarak teşhis ve tedavide kullanılan bir yöntem olan transüretal rezeksiyon (TUR) yöntemi; mesane tümörünün sistoskop yardımı ile çıkarılması işlemidir. Mesaneye idrar yolundan ışık ve kamera içeren bir alet ile girilerek mesane içerisinde izlenen tümör, rezektoskop ile hastanın vücudunda herhangi bir kesim yapılmadan idrar yolundan dışarı çıkarılır. TUR işlemi sonrasında mesane içerisinde kalan tümör hücrelerinin tekrar çoğalarak tümör oluşturmaması ve mesanenin daha derin katlarına ilerleyerek çevre dokulara sıçramaması için özel tıbbi ilaçlar mesane içerisine verilerek kalan tümör hücreleri yok edilebilir. Bu tedavilerin tümüne intravezikal tedaviler denir (Herr, 1999; Miladi,2003)

Günümüzde intravezikal tedavide, Mitomisin-C, Thiotepa, Doksorubisin, Bacillus Calmette-Guerin (BCG) ilaçları en sık kullanılan ilaçlardır.

Mitomisin-C; Tümör hücrelerinin DNA sentezini bloke eden bir ilaçtır. Mitomisin-C' ye tam cevap %36-78 oranında değişiklik göstermektedir. Transüretal rezeksiyon sonrası nüksü azaltma oranı ise %30'tür (Divrik ve diğ.,2006).

Thiotepa; Trietilentiofosforamid'ten meydana gelen bir ilaçtır. İlaça tam cevap %55 civarında olup nüks oranını oldukça azaltmaktadır.

Koruyucu bir ajan olan doksorubisin ise antrasiklin türevi bir antibiyotik olup DNA içine entegre olma özelliğine sahiptir. Doksorubisine tam cevap ise %38 civarındadır.

Bacillus Calmette Guerin (BCG), bir verem aşısıdır. Aşı içerisinde *Mycobacterium bovis* bakterisi bulunmaktadır. Savunma sistemini alarm durumuna geçirerek tümör hücrelerinin öldürülmesini sağlamaktadır. Tam cevap %36-71 oranındadır. İntravezikal tedavi hastalara haftada bir kez, 6 hafta süre ile uygulanmaktadır.

Cerrahi olarak tedavi edilemeyecek derecede yayılımı olan ya da ameliyat sonrası diğer organlara yayılma tespit edilen hastalarda ise kemoterapi ve radyoterapiye başvurulmaktadır

1.5. Mesane Kanserinde Risk Faktörleri

1.5.1. Tütün Ürünleri Tüketimi

Sigara tüketimi, mesane kanseri riskini arttırdığı düşünülen, bugüne kadar yapılan araştırmalarda somut olarak kanıtlanmış en önemli çevresel risk faktörüdür. Sigara dumanında 60'tan fazla karsinojen saptanmıştır. Sigara dumanına maruz kalan bireylerde, karsinojen ksenobiyotikler DNA'ya katılabilmektedirler. Bu DNA-karsinojen katılımının önemli göreve sahip bir gende olması, bu gende mutasyona yol açarak, sentezlenen proteinin fonksiyonunun bozulmasına yol açar ve hücreleri kanser gelişimine sürükler. Tütün ürünlerinde bulunan karsinojen maddelerden bazıları ve bunların sigarada buldukları miktarlar Tablo 1.1'de verilmiştir.

Tablo 1.1. Tütün ürünlerinde bulunan karsinojen tipleri ve miktarları

Kimyasal Sınıf	Bileşik Sayısı	Sigara Dumanında Bulunan Karsinojen	Sigara Miktarı (ng)
PAH	14	B(a)P	9
		Dibenzo (a,U) antrasen	4
Nitrozaminler	8	NNK	123
		NNN	179
Aromatik Aminler	12	4-Aminobifenil	1,4
		2-Naftilamin	10
Aldehitler	2	Formaldehit	16000
		Asetaldehit	819000
Fenoller	2	Kateşol	68000
Uçucu Hidrokarbonlar	3	Benzen	59000
		1,3-butadien	52000
Nitro bileşikleri	3	Nitrometan	500
Diğer Organik Bileşikler	8	Etilen oksit	7000
		Akilonitril	10000
İnorganik Bileşikler	9	Kadmiyum	132

B(a)P; Benzo(a) piren, NNK; 4-(metilnitrozoamino)-1-(3-piridil)-1-butanon, NNN; N-Nitrozonornikotin, PAH; polisiklik aromatik hidrokarbonlar (Hecht, 2003)

Thompson ve arkadaşlarının (2009) yaptığı bir araştırmada sigara tüketiminin mesane kanseri hastalarında tümörün büyüklüğünü, yayılımcılığını ve tümörün

histolojik olarak evre ve derece yüksekliğini etkileme eğiliminde olduğu görülmüştür (Ouerhani ve diğ.,2009)

Sigara tüketimi metabolizmada 4-aminobifenil (4-ABP), benzidin, beta-naftilamin, arilamin, heterosiklikaminler gibi bileşenlerin metabolizmada artışına neden olmakta ve 4-ABP'yi metabolik olarak aktif ederek p53 geninin 280 ve 285. kodonlarına bağlanmasını tetiklemektedir. p53 gen değişimleri de ağırlıklı olarak invaziv ve yüksek dereceli tümörleri meydana getirmektedir. Bu konuda yapılan geniş bir analizde sigara içen ve içmeyen bireyler kıyaslandığında, içen bireylerin mesane kanserine yakalanma olasılığının 2.57 kat arttığı görülmüştür. (Ouerhani ve diğ.,2009)

Mesane kanseri hastaları sigara öyküleri baz alınarak incelendiğinde sigara kullanım miktar ve sürelerinin de mesane kanserine olan yakınlıkta önemli rolü olduğu, sigara içmeye devam eden hastalarda farkın daha da belirginleştiği görülmüştür. 18 yaşından önce sigaraya başlayan bayan mesane kanseri hastalarında mesane kanserine yakalanma riskinin 3 kat daha fazla olduğu da belirlenmiştir (Karagasa ve diğ.,2005)

1.5.2. Diyet ve Sıvı Tüketimi

Mesane kanseri riskinin çevresel faktörler açısından incelendiği çalışmalarında, düzenli beslenmenin, meyve ve sebze tüketiminin, mesane karsinojenleri üzerinde belirgin bir etkisi olduğu saptanamamış, fakat koruyucu bir etkisi olabileceği düşünülmüştür (Silverman, 2006).

Bunun dışında birçok çalışmada sıvı tüketimi incelenmiş ve sıvı tüketiminin mesane kanseri riski açısından önemli olduğu belirlenmiştir. Sıvı alımı, idrar atılmasında artışı sağlaması, karsinojenlerin ürotelyum ile etkileşim zamanını kısaltmasına ve ürotelyumdaki karsinojenlerin konsantrasyonlarını seyreltmesine neden olduğu için mesane kanseri hastalarına diyet modifikasyonu olarak önerilmektedir (Michaud ve diğ.,1999; Leppert ve diğ.,2006).

Ayrıca sıvı alımında artış erkeklerde mesane kanseri riskini azaltan bir faktördür. The Health Professionals'ın yaptığı 48.000 erkeğin 10 yıldır takip edildiği çalışmada, sıvı tüketiminin mesane kanseri riski ile ters orantılı olduğu görülmüştür. Günde en fazla 2531 mL, en az 1290 mL sıvı tüketen erkeklerin mesane kanser riskinin yarıya düştüğü saptanmıştır (Michaud ve diğ.,1999).

Fakat tüm bu çalışmalara rağmen genel ya da spesifik sıvı alımı artışının, mesane kanseri riskine karşı koruyucu bir strateji olduğunu söyleyebilmek için kesin önerilerde bulunmadan önce daha fazla veriye ihtiyacı olduğu düşünülmektedir.

Yapılan farklı çalışmalarda kahve tüketiminin mesane kanseri riski ile ilişkisine bakıldığında tutarlı sonuçlar elde edilememiş ve eğer kahve bir mesane karsinogeni ise, zayıf bir etkisi olduğu düşünülmüştür. Ayrıca alkol ve yapay tatlandırıcıların, mesane kanseri için risk faktörü oluşturduğuna dair, net kanıtlar da bulunamamıştır (Silverman, 2006).

İlave olarak, suda yüksek arsenik seviyesine sahip Tayvan'ın kuzeydoğusunda mesane kanseri oranının anlamlı bir şekilde yüksek olduğu tespit edilmiştir (Chiou ve diğ.,2001)

Çin'de ise üretilen bitkisel bir zayıflama ilacının, üretim hatası sonucu, *Stephania tetrandra* yerine kaza ile karsinogen etkisi olduğu bilinen *Aristolochia fangchi* otunun kullanımı sonucu, mesane kanseri riskinin arttığı ortaya konulmuştur (Nortier ve diğ.,2000).

1.5.3. Cinsiyet

Mesane kanserinin erkeklerde görülme oranı kadınlara göre 3 kat daha fazladır. Erkeklerde prostat, akciğer ve kolorektal kanserlerden sonra %6,2 ile tüm kanserler içinde en sık rastlanan 4. kanser türü olup, ölüm sebebi olarak da 9. sırada bulunmaktadır (Jemal ve diğ.,2010). Kadınlarda ise %2,5 ile tüm kanser türleri arasında 8. sırada görülmektedir.

Cinsiyet farkının mesane kanseri üzerindeki spesifik etkisi kesin olarak hala bilinmemekle beraber bu insidans farkı, çoğu çalışmada sadece cinsiyet farkına bağlanmamış, tütün kullanımı ve çevresel karsinogenlere maruz kalma oranlarıyla da ilişkilendirilmiştir (Karagasa ve diğ.,2005). Fakat insidansın son yıllarda kadın ve erkeklerde yakın bulunması beklenmeyen bir durum olduğu için, kadınların daha önceki yıllarda dışarıda çalışma oranının az olması ve dolayısıyla çevresel karsinogenlere daha az maruz kalmasına bağlanmıştır (Edward, 2005. 2732–2843).

Ayrıca erken yaşta sigara içmeye başlayan kadın ve erkek hastalar karşılaştırıldığında, mesane kanseri olma riski erken yaşta sigara içen kadınlarda erkeklere göre çok daha yüksek bulunmuştur (Karagasa ve diğ.,2005).

1.5.4. Yaş

Mesane kanseri her yaşta görülebilen bir tümör türü olsa da, mesane tümörü gelişiminde yaş büyük bir risk faktörüdür. Yaş arttıkça mesane kanseri olma ihtimali de artmaktadır. Mesane kanserinin genel olarak ortaya çıkma yaşı kadınlarda 74 iken, erkeklerde 72 olduğu yapılan çalışmalarda saptanmıştır (Horner ve diğ.,2009)

Mesane kanseri insidansının yaşın artması ile doğru orantılı olarak arttığı birçok çalışmada görülen bir sonuçtur. 65-69 yaş aralığındaki erkek bireylerde mesane kanseri insidansı %33 iken, 85 yaş üzerindeki erkeklerde bu oran %75'e yükselmektedir. Ayrıca daha genç yaşlardaki bireylerde ortaya çıkan mesane tümörlerindeki klinik davranış ve moleküler değişikliklerle, ileri yaşlardaki bireylerde görülen mesane tümörünün klinik davranış ve moleküler değişiklikleri de benzer değildir (Edward, 2005. 2732–2843).

1.5.5. Mesleki Risk Faktörleri

Mesane kanseri, tütün tüketimi, yaş artışı, cinsiyet gibi çevresel risk faktörleri yanında, kimyasal karsinojenlere maruz kalınmasından etkilenen, multifaktoriyel bir hastalıktır. Kimyasal karsinojenlere maruz kalınmasının mesane kanseri riskini arttırdığı yapılan birçok çalışmada görülen ortak bir sonuçtur. Karsinojen maruziyeti ile mesane kanseri arasındaki ilişki incelendiğinde karsinojenlerin dozunun, mesane kanserinin gelişim riskini etkileyen faktörlerden bir tanesi olduğu kanısına varılmıştır (Salagovic ve diğ.,1999).

Birçok kimyasal, mesane kanserini karsinojen olarak etkileyebilmektedir. Bunlardan en önemlileri; B- Naftilamin, 4-Aminobifenil, benzidin, anilin boyalar, siklofosfamid ve benzerleridir. Potansiyel karsinojenlere maruziyetin artmasına neden olan çeşitli meslek gruplarında çalışan bireylerin mesane kanseri olma riskleri diğer mesleklerde çalışanlara göre çok daha yüksektir. Boya ve lastik endüstrisinde çalışanlar, otomobil üreticileri, metal işçileri, kağıt üreticileri, kurutemizlemeciler, kuaförler, diş hekimleri, deniz mühendisleri, otomobil işçileri, kamyon şöförleri yüksek miktarda polisiklik aromatik aminlere maruz kalmalarından dolayı risk altında olan mesleklerden bazılarıdır (Vineis ve diğ.,1997; Nilsson ve diğ.,2008; Delclos ve diğ.,2008; Leppert ve diğ.,2006). Kanserijenlere maruziyetten dolayı

kaynaklanan mesane kanseri, maruziyet sonrasında 30 - 50 yıla kadar ortaya çıkmayabilir (Golijanin ve diğ.,2006).

1.5.6. Parazitler

İdrar yolu enfeksiyonları, kateterler, mesane taşları ve tam fonksiyon gösteremeyen bir mesane, mesanede skuamoz hücre karsinoma (SCC) riski artışı ile ilişkilidir (Mostafa ve diğ.,1999; Shokeir ve diğ.,2004).

Mesanenin Mısır'da endemik olarak görülen *Schistosoma haematobium* paraziti tarafından enfekte edilmesi, kronik mesane iltihabının oluşumuna neden olur. Oluşan bu iltihabın karsinogenezde önemli bir rol oynadığı düşünülmekte ve bu parazit tarafından enfekte olunması, mesanede, özellikle skuamoz hücre karsinom (SCC) riskini arttırdığı düşünülmektedir (Golijanin ve diğ.,2006).

1.6. Mesane Kanserinin Moleküler Biyolojisi

Kromozomal değişiklikler tümör oluşmu için primer ya da sekonder etki yaratabilmekte ve çoğu zaman tümörün ilerlemesi ile ilgili olabilmektedirler. Kromozomal değişiklikler tümör süpressör genlerin inaktivasyonuna ya da kopya sayısı artışı veya kırılan noktalarda yeniden düzenlemeler yapılması ile protoonkogenlerin aktivasyonuna neden olabilirler. Uzun yıllardır yapılan kanser türlerinin ortaya çıkış nedenleri, gelişimi ve evrelerinin araştırıldığı sitogenetik çalışmalarda, sayısal ve yapısal kromozomal değişiklikler tanımlanmıştır. Mesane tümörü gelişimi üzerine, moleküler yöntemler kullanılarak yapılan sitogenetik araştırmalarda, 3p, 6q, 9q, 11p, 17p ve 18q kromozom kollarında yapısal ve sayısal farklılıklar olduğu gözlemlenmiştir (Sandberg and Berger, 1994).

Yüksek dereceli mesane tümörlerinde 7. kromozomun sayısal olarak arttığı gözlenmiş ve bu artışın mesane tümör gelişimi ile ilişkili olabileceği kanısına varılmıştır. 9q kromozom kolunun kaybı ise, düşük derecelilerden çok, yüksek dereceli mesane tümörlerinde görülmüştür. Bu yüzden de mesane kanseri gelişiminde öncül olabileceği düşünülmüştür (Sandberg and Berger, 1994; Tsai ve diğ.,1990; Miyao ve diğ.,1993; Orlow ve diğ.,1994).

Mesane tümörünün ileri evrelerinde ise 3p, 11p, 17p delesyonları ile karşılaşmış ve bu delesyon bölgelerindeki genlerin kaybının mesane kanseri

gelişiminde ilerleyici etkiye sahip oldukları ve dolayısıyla kayıplarının mesane kanseri gelişimine neden olmuş olabileceği düşünülmüştür (Waldman ve diğ.,1991; Presti ve diğ.,1991).

1.6.1. Onkogenler

Yıllardır süren onkolojik araştırmalar tümör gelişiminin bir takım genlerde meydana gelen, deformasyonlardan kaynaklandığını ortaya koymuştur. Onkogenlerin indüklenmesi, normal genin farklılaşarak, hasarlı hale dönmesine ve malign hücrelerin oluşumuna neden olmaktadır. Oluşan malign hücreler, kontrol mekanizmasından kaçarak tümör oluşumuna neden olmaktadır (Edward, 2005).

Mesane tümörlerinin %20'si kadarının Ras onkogeninin mutasyonlu olduğu bilinmektedir (Knowles ve Williamson, 1993; Agnantis ve diğ.,1990). Metabolizmada önemli yolları aktive eden GTPaz enzimleri Ras genleri tarafından kodlanırlar. GTP bağlı iken aktif, GDP bağlı iken inaktif durumdadırlar. Ras genlerinde tek aminoasit değişimine neden olan onkogenik mutasyonlar, molekülün sürekli aktif olmasına neden olurlar (Luis ve diğ.,2007). Çoğu tümör çeşitlerinde K-ras geni mutasyona uğradığı görülürken, mesane kanserinde H-ras geninin 12, 13 ve 61. kodonlarında nokta mutasyonları tanımlanmış, K-ras geninde mutasyon nadiren tanımlanmıştır. N-ras geninde de birkaç mutasyon gösterilmiştir (Haliassos ve diğ.,1992; Przybojewska ve diğ.,2000).

Proliferasyonun düzenlenmesinde ve nükleer fosfolipidlerin sentezlenmesinde etkili olan bir başka onkogen ise Myc genleridir. 8. kromozomun uzun kolunda yer almaktadır. C-myc onkogeninde meydana gelen en ufak bir gen hasarı genin ekspresyonunun artışına sebep olmakta, bu durum hücrenin proliferasyon dengesini direk olarak etkileyebilmekte ve tümör oluşumuna neden olabilmektedir. Yapılan çalışmalarda mesane kanserinin yüksek derece ve evrelerinde genomik ve *in situ* hibridizasyon karşılaştırıldığında 8. kromozomun kopya sayısının fazla olduğu gösterilmiştir. Myc onkogeninin yüksek dereceli tümörlerde fazla ekspresyonuna rağmen, tümörün ilerlemesi ve hayatta kalımla alakalı ilişkisi tespit edilememiştir (Richter ve diğ.,1998; Kotake ve diğ.,1990; Lipponen, 1995; Ejarque ve diğ.,1999; Kee ve diğ.,2001).

EGFR ve HER-2/neu, hücre içi sinyal iletiminde görev alan tirozin spesifik protein kinaz olarak hareket eden transmembran proteinleridir. Yapılan araştırmalarda

C-erbB-2 (HER2/neu) onkogeninin ileri evre ve yüksek dereceli mesane tümörlerinde ekspresyonunun fazla olduğu dikkatleri çekmiş fakat mesane kanseri ile arasında net bir ilişki henüz bulunamamıştır (Sato ve diğ.,1992; Coombs ve diğ.,1991). Aynı şekilde Jimenez ve arkadaşları, metastatik tümörlerde primer tümörlere göre yüksek ekspresyonunu tespit etmelerine rağmen HER-2/neu'nun mesane kanserinde prognostik olmadığı sonucuna varmışlardır (Jimenez ve diğ.,2001).

Bcl-2 onkogeninin metabolizmadaki en önemli rolü, apoptozisin baskılanmasını sağlamaktır. Bcl-2 geninde, geni inhibe edecek herhangi bir mutasyon olduğunda, apoptozis baskılanamaz. Bcl-2, bu özelliğinden dolayı, kanser hastalarında, kemoterapi ve radyoterapi tedavilerine olan cevabı inhibe edebilir. Bu nedenle, kemoterapötik ilaç üretimi için yapılan klinik çalışmalarda anti-bcl-2 terapötik ajanları geliştirilmeye hızla devam edilmektedir.

Mesane kanseri baz alınarak, Shiina ve arkadaşlarının yaptığı bir araştırmada, Bcl-2 ekspresyonunun histolojik derecesi ile ters ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bcl-2 rolünün araştırıldığı başka bir çalışmada ise 40 yaşın altında mesane kanseri hastaları, 50 yaşın üstündeki hastalar ile karşılaştırıldığında, daha genç olan hastaların çoğunda sitoplazmik bcl-2'nin ekspresyonunun yüksek olduğu bulunmuş fakat bunun tümör ilerlemesi ve tekrarlaması ile bir ilişkisi saptanamamıştır (Shiina ve diğ.,1996; Aşçı ve diğ.,2001).

1.6.2. Tümör Süpressör Genler

Metabolizmada DNA tamiri, apoptozis ya da hücre büyümesinde kontrol gibi önemli mekanizmalarda görev alan proteinleri kodlayan tümör süpressör genler karsinogenez metabolizmasında önemli etkiye sahiptirler. Tümör süpressör genleri inaktif hale getirecek mutasyonlar ile karşılaşılması halinde DNA tamiri, apoptozis ve büyüme kontrolü gibi mekanizmalarda aksaklıkların meydana gelmesine ve dolayısıyla hasarlı DNA'ya sahip hücrelerin çoğalmasına, bu hücrelerin yok edilememesine ve hücre büyümesinin kontrolden çıkmasına neden olabilmektedir (Edward, 2005).

1.6.2.1. p53 Tumor Süpressör Geni

Bugüne kadar kanser araştırmalarında en fazla çalışılan tumor süpressör gen, p53'tür. p53 geninin hücre döngüsündeki görevi; Döngüde herhangi bir problem olduğunda hasar tamir edilene kadar döngüyü durdurmak, hasarlı DNA'ya sahip hücreleri replikasyondan önce apoptozise yönlendirmek, hasarlı DNA'ların onarımına çekirdekte deoksiribonükleotid trifosfat üretimini indükleyerek, ya da diğer mekanizmalarla katkıda bulunmaktır. Böylece hücre bölünmesine hasarlı devam edilmesini ve bu hasarların yeni oluşacak hücrelere aktarılmasını engellemiş olurlar.

Mesane tumorünün düşük derece ve evrelerinde p53 geni mutasyonlarına pek rastlanmamasına rağmen, tumorün yüksek derece ve evrelerinde p53 mutasyonlarının insidansının %50-60 gibi yüksek oranlarda olması, p53 geninin mesane kanseri gelişiminde önemli olabileceğini göstermektedir (Sidransky ve diğ.,1991; Cordon-Cardo ve diğ.,1994; Esrig ve diğ.,1994).

1.6.2.2. Rb Tumor Süpressör Geni

Hücre döngüsünde belirli basamakları kontrol eden pRb proteini, Rb geni tarafından sentezlenmektedir. pRb sentezlendikten sonra siklin bağımlı kinazlar ile fosforlanarak hücre çekirdeğinde bekletilir. Fosforlanmamış pRb, transkripsiyon faktörü E2F ile kompleks oluşturmaktadır, ve E2F ürünlerinin hücreyi G1 fazından S fazına geçmelerini indükleyen genlere bağlanması engellemenekte ve proliferasyonu durdurmaktadır. Rb geninin mutasyona uğradığı ya da pRb'nin inhibe olduğu durumlarda hücreler G1'den S fazına daha kolay geçerler ve proliferasyonu uyarılır.

Aynı şekilde, pRb'yi fosforlayan siklin bağımlı kinazı inhibe eden moleküller (siklin bağımlı kinaz 4 ve 6 ile kompleks oluşturarak, pRb'nin fosforlanmasını engelleyen p15, p16, p21 ve p27) hücre döngüsünde regülatör olarak görev alırlar. Bu proteinlerin inhibasyonuna neden olacak mutasyonlar, pRb'nin zamansız ve aşırı fosforillenmesini sağlarlar. Bunun sonucunda proliferasyonu inhibe edilemez. Dolayısıyla tüm bu genlerde meydana gelen, gen ürünlerinin çoğalmasına neden olan mutasyonların tumor gelişimi ile ilgili olabileceği düşünölmektedir (Edward, 2005).

1.7. Ksenobiyotik Mekanizması ve Mesane Kanserine Genetik Yatkınlık

Mesane karsinogenezinin oluşumunun engellenmesinde, metabolizmayı ürotelyal karsinojenlerden koruyan ve böylece DNA hasarı oluşumunu engelleyen Sitokrom P450, N-Asetil transferaz, Aldoketoredüktaz, Glutatyon-S-transferazlar gibi karsinojen detoksifikasyon enzimlerinin büyük rolleri vardır. Bu enzimleri kodlayan genlerde meydana gelen mutasyonlar, enzim aktivitelerinin tamamen kaybolmasına sebep olurlar. Bu durum hücrelerdeki polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH), aromatik aminler gibi toksik kimyasal oranının artışına ve karsinojen metabolizmasındaki dengenin bozulmasına neden olarak, hedef hücre DNA'sında lezyonlar oluşmasına ve tümörögenезin gelişimine sebebiyet verirler.

Vücuda alınan ilaçlar ve karsinojenler böbrek, karaciğer, akciğer gibi birçok organda bulunan mikrozomal enzimlerle metabolize olurlar. İlaçları metabolize eden enzimler Faz I ve Faz II enzimleri olarak 2 gruba ayrılmışlardır. Faz I enzimleri, ksenobiyotiklerin metabolizmadan uzaklaştırılması yolunda, ksenobiyotiklerin oksidasyon, redüksiyon, hidroksilasyon ve demetilasyon işlemlerini yaparak Faz II'ye geçmesini sağlarlar. Faz II enzimleri ise Faz I enzimleri ile etkileşime girmiş ksenobiyotiklerin glukronat veya sulfat ile konjugasyon ve asetilasyon işlemlerini yaparak hücreden atılımını sağlarlar. Metabolizmaya giren hidrofobik toksik bileşiklerin, suda çözünür hale getirilerek metabolizma dışına atılması detoksifikasyon işlemini ifade etmektedir. Ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu Faz I ve Faz II olarak 2 fazdan meydana gelmektedir. Faz I; sitokrom P450 enzimlerince gerçekleştirilir. Bu fazda reaksiyona girmiş olan ksenobiyotikler, daha aktif ve saldırgan bir yapıya sahip olarak bu fazdan çıkmaktadırlar. Faz II aşamasında ise faz I'den çıkan polar toksik bileşikler Glutatyon gibi bileşiklerle konjugasyona uğramakta ve sonrasında dışarıya atılmaktadırlar. Faz I'den çıkan bir ksenobiyotiğin, faz II aşamasına girmeme olasılığında DNA, RNA ve proteinlere zarar verme ihtimali artmakta ve bu da kanser gibi hücre bölünmesinin kontrolden çıktığı hastalıkların meydana gelme riskini arttırmaktadır (Seidegard ve Ekström, 1997; Hirvonen, 1999; Raunio ve Pelkonen, 1995; Orhan ve Şahin, 1995; Liska, 1998)

1.8. Glutasyon (GSH) ve Glutasyon-S-Transferazlar (GST)

Glutasyon (GSH) hücre içi ve hücre dışı transport işlemlerini yaparak, hücrel detoksifikasyonda önemli bir paya sahip olan bir bileşiktir. Enzim aktivitelerinin, DNA ve protein sentezlerinin düzenlenmesinde rol oynamak gibi önemli hücrel fonksiyonlara sahip olması dışında, antioksidan özelliği sayesinde hücre savunmasında da görev alan bir tripeptiddir. GSH glutamik asit, sistein ve glisinden meydana gelmiştir. Birçok dokuda yüksek düzeyde bulunur. Epoksidler gibi reaktif metabolitlerle konjugat oluşturup inaktif hale getirerek, onları detoksifikasyon işlemine hazırlamış olur. Konjugasyon, toksik moleküllerin elektrofilik bölgelerinde meydana geldiği için, bu elektrofillerin biyolojik moleküllerle reaksiyona girmesini ve dolayısıyla DNA hasarını engellemiş olur (Commandeur ve diğ.,1995).

Glutasyon-S-transferazlar 23 ve 28 kDa ağırlığında, aynı ya da farklı alt ünitelerin birleşerek oluşturduğu homodimer veya heterodimer proteinlerdir (Mannervik ve Danielson, 1988). GST enzimlerini oluşturan alt ünitelerin her biri aktif bölgeye sahiptirler (Van Der Aar ve diğ.,1996). Bu aktif bölgeler G ve H olarak ayrılmış 2 alt bölgeden oluşur. G-bölgesi; N-terminal domeynden meydana gelir ve GSH'ın bağlandığı bölgedir. H bölgesi ise α -heliks yapıda C-terminal domeynden meydana gelir ve hidrofobik elektrofilik bileşikler bu bölgeye bağlanır (Commandeur ve diğ.,1995).

GST'ler metabolizmaya polisiklik aromatik hidrokarbonlar, aromatik aminler gibi dışarıdan giren eksojen kaynaklı ve metabolizmada gerçekleşen reaksiyonlar sonucu oluşan hidroperoksitler ve alkenaller gibi endojen kaynaklı, elektrofilik ve hidrofobik özellikteki ksenobiyotiklerin GSH ile reaksiyonunu katalizleyerek, onları suda çözünebilir hale getiren ve metabolizmadan atılımını sağlayan faz II detoksifikasyon enzimleridir (Seidegard ve Ekström., 1997; Hirvonen., 1999; Tozkoparan ve Aytaç., 2007; Lee ve diğ.,2004). GST enzimlerinin, elektrofilik-hidrofobik özellikte olan ksenobiyotik substratları, metilklorid ve 1,2-dibrometan gibi küçük moleküllerden, benzoapiren-7,8-diol-9, 10-epoksid gibi büyük aromatik hidrokarbonlara kadar çeşitlilik göstermektedir (Van Der Aar ve diğ.,1996).

Vücutta büyük oranda karaciğerde olmak üzere, testis, böbrek, akciğer, intestinal kanalda bulunurlar. Hücre içerisinde ise sitozol ve mikrozom olmak üzere iki farklı organelde bulunurlar. Sitozolik GST'ler eksojen ve endojen

ksenobiyotiklerin detoksifikasyonundan sorumlu iken mikrozomal GST'ler araşidonik asit metabolizmasından sorumludurlar (Landi S., 2000; Wilce ve diğ.,1995).

Sitozolik glutatyon-s-transferaz enzimleri aminoasit dizileri, primer yapıları, kimyasal afiniteleri, substrat spesifitelerine göre alpha (A), mu (M), pi (P), theta(T) ve zeta (Z) olarak 5 sınıfa ayrılmışlardır. GSTM1, GSTM3, GSTT1, GSTZ1 ve GSTP1 en fazla polimorfik olan ve bundan dolayı en fazla araştırılan GST genleridir.

1.8.1. GST'lerin Doku Spesifik İfadeleri

GST enzimleri vücutta karaciğer, testis, böbrek, akciğer, intestinal kanalda olmak üzere çeşitli organlarda farklı miktarlarda bulunmaktadır. Hatta bir organ içindeki farklı bölgelerde bulunmalarında kalitatif ve kantitatif farklılıklar görülebilmektedir. Farklı doku ve organlarda görülen, GST enzimlerinin kalitatif ve kantitatif farklılıkları, organların kanserojen ksenobiyotiklerden etkilenme oranını da belirlemekte olduğu düşünölmektedir (Mannervik ve diğ.,1985; Sundberg ve diğ.,1993; Commandeur ve diğ.,1995).

1.8.2. GST Polimorfizmleri

Ksenobiyotiklerin metabolizmasındaki aktivasyon / deaktivasyon oranının, tümör gelişim riskini etkilediği bugüne kadar yapılan çalışmalarda ortaya çıkan ortak bir sonuçtur. Ksenobiyotiklerin aktivasyon / deaktivasyon oranındaki bu dengesizlik, ksenobiyotik metabolizmasında görev alan enzimleri kodlayan genlerde meydana gelen polimorfizmlerle açıklanmaktadır (Autrup H. 2000; Stücker ve diğ.,1999). Bu genlerdeki polimorfizmlerin olduğu bireylerde, toksik ksenobiyotiklerin metabolizmadaki oranında artış meydana gelmekte ve dolayısıyla tümör oluşumuna neden olan mutasyonlar gibi DNA hasarları çoğalmaktadır (Cotton ve diğ.,2000).

Detoksifikasyon metabolizmasında önemli role sahip olan GST enzimlerini kodlayan GST genlerinden GSTM1, GSTM3, GSTT1, GSTP1 ve GSTZ1 polimorfiktirler. Farklı populasyonlar arasında değişiklik gösterdiklerinden dolayı günümüze kadar birçok populasyonda incelenmişlerdir.

1.8.2.1. GSTM1 Polimorfizmi ve Mesane Kanseri

GSTM geni M1-M2-M3-M4-M5 olmak üzere beş farklı sınıfa ayrılmıştır. Tüm GSTM genleri 1p13.3 kromozomu üzerinde yer almaktadırlar. GSTM genleri arasında en fazla eksprese edilen ve tümör gelişimi ile arasındaki ilişki birçok çalışmada araştırılan GSTM1 genidir. GSTM1, 217 aminoasit uzunluğunda bir proteindir ve karaciğer, testis, kemik, beyin, germ hücreleri, kalp, böbrek, uterus gibi birçok organda bulunur. Bunun dışında diğer GSTM genlerinin vücutta bulunma bölgeleri daha spesifikdir. GSTM2; iskelet kasında, GSTM3; beyin, testis, akciğer ve kaslarda, GSTM4; insan lenfoblastoid hücrelerinin soylarında, GSTM5 ise beyinde sentezlenmektedir (Houlston., 1999; Nair ve diğ.,1999; Cai ve diğ.,2001).

GSTM1 geninin şimdiye kadar yapılan çalışmalarda 3 farklı alleli tanımlanmıştır. Bunlar GSTM1-a, GSTM1-b ve GSTM1-0'dır. GSTM1-0 alleli; Genin tamamını kapsayan, 15 kb'lik, homozigot delesyona uğramış halidir. Null olarak adlandırılır ve enzim aktivitesi göstermez. GSTM1-a ve GSTM1-b allelleri homodimerik ve heterodimerik kombinasyonları ile 4 farklı genotipli polimorfizm göstermektedir. GSTM1-a ve GSTM1-b'nin birbirinden farkı, 172. konumda bulunan aminoasit değişikliğidir. Bu değişiklik enzim aktivitesinde bir değişikliğe neden olmaz (Xu ve diğ.,1998; Geisler and Olshan., 2001; Cotton ve diğ.,2000; Autrup. 2000; Coughlin ve Hall., 2002).

GSTM1 benzoapiren ve aflotoksin gibi karsinojenik etkisi olduğu bilinen polisiklik aromatik hidrokarbonların detoksifikasyonundan sorumlu olan GSTM genidir (Singh ve diğ.,2008; Uedaa ve diğ.,2005; Rebbeck., 1997; Chen ve diğ.,1999). PAH'ların epoksit metabolitlerine karşı GSTM1 yüksek aktiviteye sahip olduğundan, inhibisyonuna sebep olacak herhangi bir mutasyon, metabolizmayı karsinojen bileşiklere karşı savunmasız bırakmış olur. Elektrofilik ve hidrofobik ksenobiyotikler detoksifikasyon enzimleri tarafından inhibe edilip, metabolizmadan atılmadığında, DNA ve protein hasarlarına sebep olabilir, tümör oluşumuna neden olabilecek mutasyonlara yol açabilirler.

Farklı kanser türlerinin araştırıldığı birçok çalışmada GSTM1 null genotipi taşıyan bireylerin mesane, kolon, akciğer, meme kanseri gibi birçok kanser türünün gelişim riskinin arttığı saptanmıştır (Cotton ve diğ.,2000; Pınarbası ve diğ.,2003; Törüner ve diğ.,2001; Setiawan ve diğ.,2000; Amorim ve diğ.,2002).

GSTM1 gen delesyonu ve mesane kanseri birbirinden farklı birçok popülasyonda araştırıldığında, GSTM1 null polimorfizminin mesane kanseri gelişiminde, risk artışına sebep olduğu görülmüştür (Salagovic ve diğ.,1998; Aktas ve diğ.,2004; Moore ve diğ.,2004; García-Closas ve diğ.,2005; Kim ve diğ.,2005; Cengiz ve diğ.,2007). Antonio ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, GSTM1 null genotipinin mesane kanseri risk artışının kadınlarda daha fazla olduğu saptanmıştır (Antonio ve diğ.,2010).

Tüm bu risk ile ilişkili çıkan sonuçların dışında GSTM1 null genotipinin mesane kanseri riski ile ilişkili olmadığı sonucuna varılmış bazı çalışmalar da bulunmaktadır. Goerlitz ve arkadaşlarının Mısır'da yaptığı bir araştırmada GSTM1 null genotipinin mesane kanseri risk artışı ile ilişkisi olmadığı görülmüştür (Goerlitz ve diğ.,2011).

GSTM1 null genotipinin mesane kanseri ile ilişkisinin araştırıldığı çalışmalarda çıkan belirsiz sonuçlardan, GSTM1null genotipinin çalışılan popülasyona göre etnik farklılıklar gösterdiği anlaşılmaktadır. Dolayısıyla GSTM1 null genotipinin birçok ülkede olduğu gibi, ülkemizde de çalışılarak, mesane kanseri ile ilişkisinin Türk popülasyonunda belirlenmesi önemlidir.

1.8.2.2. GSTT1 Polimorfizmi ve Mesane Kanseri

GSTT1 geni 22q11.2 kromozomu üzerinde bulunan, 27132 Da ağırlığında alt birimlerin birleşimi ile, toplamda 239 aminoasitten oluşmuş bir homodimerdir. Uterus, testis, beyin, böbrek, paratiroid, kalp gibi organlarda tespit edilmiştir (Pemble ve diğ.,1994; Meyer ve diğ.,1991; Mainwaring ve diğ.,1996). GSTT1 geninin fonksiyonel olarak birbirinden farklı 2 varyantı bulunmaktadır. Bunlar GSTT1-0 ve GSTT1-1'dir. GSTT1-0 ; GSTT1 geninin her iki allele de delesyona uğramış halidir, null olarak adlandırılır ve enzim aktivitesi tamamen kaybolmuştur. GSTT1-1 ise GSTT1 geninin, normal enzim aktivitesini gösteren varyantıdır.

GSTT1-1 izoenzimi, etilen oksit, 1,3 butadien ve monohalometan gibi önemli karsinogen etkileri olan ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda önemli bir role sahiptir (Singh ve diğ.,2008; Sobti ve diğ.,2006).

GSTT1 null genotipinin mesane kanseri ile ilişkisinin incelendiği birçok farklı popülasyonlarda yapılan çalışmalarda, GSTT1 geninin delesyona uğraması mesane kanserinde risk oranını arttırdığı görülmüştür. Arjantin, İtalya, Kuzey

Hindistan, Slovakya ve Türkiye’de yapılan araştırmalarda, sağlıklı kontroller ile karşılaştırıldığında GSTT1 null genotipinin, mesane karsinoma gelişimi için büyük risk taşıdığı sonucuna varılmıştır (Salagovic ve diğ.,1999; Hung ve diğ.,2004; Moore ve diğ.,2004; Sobia ve diğ.,2005; Altaylı ve diğ.,2009).

Yun-Sok Ha ve arkadaşlarının GSTT1 ve mesane kanseri ilişkisini belirlemek için yaptıkları bir çalışmada, tmrl mesane dokuları ile normal mesane dokularındaki GSTT1 mRNA ekspresyonu incelendiğinde, tmrl mesane dokusunda ekspresyonun anlamlı bir şekilde yüksek olduğu görülmüştür. GSTT1 ekspresyonunun yüksek dereceli, kas-invazyonu yapan mesane tümörlerinde, daha düşük dereceli, kas-invazyonu olmayan tümörlerden daha yüksek olduğu saptanmıştır. Tüm bunların doğrultusunda GSTT1 geninin mesane kanserli hastalarda hastalığın ilerlemesi ve tmrgenezis ile ilgili olabileceği kanısına varılmıştır (Ha ve diğ.,2011).

Tüm bunların yanında GSTT1 null genotipi ile mesane kanseri arasında bir ilişki olmadığı sonucuna varan birçok araştırma olduğu için GSTT1 ile mesane kanseri arasındaki ilişki çok net değildir ve populusyona göre farklılıklar göstermektedir (Jeong ve diğ.,2003; Lee ve diğ.,2002; Karagas ve diğ.,2005; Ouerhani ve diğ.,2009; Goerlitz ve diğ.,2011).

2. AMAÇ

Canlılığın devamı için vücutta bulunan kanserojen ve toksik maddelerin aktivasyon ve deaktivasyonunun belli bir dengede tutulması çok önemlidir. Canlı organizmaların hücrelerinde, zararlı olan bu maddelerin hücreden uzaklaştırılması temel olarak iki fazda gerçekleşir; Faz I ve Faz II. Glutasyon-S-transferazlar ökaryotik hücrelerdeki çevresel ve doğal olarak oluşabilen birçok metabolitin detoksifikasyonundan sorumlu olan Faz 2 enzimlerindedir. GST genleri tarafından kodlanan GST enzimleri, indirgenmiş glutasyonun sülfür atomunun elektrofilik bileşiklerle konjugasyonunu katalizleyerek, glutasyon-S-konjugatları meydana getirirler. Glutasyon ile beraber toksik bileşikler ATP yardımı ile hücre dışına atılarak, oluşabilecek DNA hasarları engellenmiş olur. Zararlı metabolit ve kanserojenlerin aktivasyon ve deaktivasyon sistemleri arasındaki bu denge, metabolizmanın toksik dozunu belirleyerek kanser riskini ortaya çıkarır.

Detoksifikasyon metabolizmasında GST gibi önemli role sahip enzimlerde meydana gelen genetik polimorfizmlerin çeşitli kanser türlerinde araştırılması, bu genlerin kanser metabolizması üzerindeki etkisinin anlaşılması açısından önemlidir. Özellikle GSTM1 ve GSTT1 genlerinde meydana gelen delesyonlar enzim aktivitesinin tamamen kaybına neden olmakta ve dolayısıyla maruz kalınan toksik metabolitlerin vücuttaki biyo-aktif dengeyi değiştirerek kansere yatkınlığı etkilediği düşünülmektedir.

Bu çalışma kapsamında, mesane kanserinde özellikle Türk populasyonunda çok az çalışılmış olan, populasyonlar arasında farklılıklar gösterebilen GSTM1 ve GSTT1 genlerindeki polimorfizmlerin araştırılması ve mesane kanseri ile ilişkisinin saptanması amaçlanmıştır.

Bunun için hasta ve kontrol gruplarının GSTM1 ve GSTT1 polimorfizm frekansları karşılaştırılarak mesane kanseri ile ilişkisi, yaş, cinsiyet, sigara öyküsü ile beraber incelenmiştir.

Çalışmadan çıkan sonuçlar ile, GSTM1 ve GSTT1 polimorfizmlerinin Türk populasyonunda mesane kanseri için risk unsuru olup olmadığının belirlenmesi hedeflenmiştir.

3. MATERYAL

3.1. Araştırmada Kullanılan Örnekler

Çalışmaya T.C. Sağlık Bakanlığı Bağcılar Eğitim ve Araştırma Hastanesi ve Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanelerinde 2008-2011 yılları arasında mesane kanseri teşhisi konmuş ve hala tedavisi süren hastalar ile kendisinde ve ailesinde kanser geçmişi olmayan sağlıklı gönüllüler dahil edilmiştir. Hastalardan 10 ml'lik EDTA'lı tüpler içerisine alınan kan örnekleri, sağlıklı gönüllülerden ise swab ile toplanan yanak içi epitel doku örnekleri ile çalışılmıştır. Çalışmaya katılan tüm bireylerin yaş, cinsiyet, meslek gibi demografik bilgileri dışında, sigara ve alkol öyküleri, kendilerinin ve ailelerinin medikal öykülerinde kanser ve kalıtsal sistemik rahatsızlıkların varlığı sorgulanmış, kayıtlara geçirilmiştir. Mesane kanseri tanısı konulan hastalardan ise bu bilgilere ek olarak tümör evre ve derece bilgileri, ilgili doktorlardan edinilmiştir. Kontrol grubu oluşturulurken çalışma dışında bırakılma kriteri, kendisinde veya ailesinde kanser tanısı bulunmama olarak belirlenmiştir.

Bu araştırmada 197 mesane kanseri hastası ve 164 sağlıklı olmak üzere toplam 361 kişi ile çalışılmıştır. Tüm bireyler çalışma hakkında bilgilendirilip, yazılı gönüllü olurları alındıktan sonra biyolojik örnekleri toplanmıştır. Hastaların cinsiyet, yaş, sigara içimi özellikleri Tablo 3.1'de gösterilmiştir. Kontrol grubunun özellikleri ise Tablo 3.2'de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Hasta grubu özellikleri

Hasta Grubu Özellikleri	
Ortalama yaş (±) SD (yıl)	67 ± 11
Cinsiyet	
E	160 (%81,2)
K	37 (%18,8)
Sigara içimi	
Evet	123 (%74,5)
Hayır	42 (%25,5)

Tablo 3.2. Kontrol grubu özellikleri

Kontrol Grubu Özellikleri	
Ortalama yaş (±) SD (yıl)	60 ± 15
Cinsiyet	
E	71 (%43,3)
K	93 (%56,7)
Sigara içimi	
Evet	60 (%36,6)
Hayır	104 (%63,4)

3.2. Kandan DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Tampon ve Kimyasallar

Hücre Lizis Tamponu (pH=8,0)

Tris-HCl	10 mM
Sükroz	%11 (w/v)
MgCl ₂	5 mM
Triton X-100	%1 (v/v)

Hücre Çekirdeği Lizis Tamponu (pH= 8,0)

Tris-HCl	10 mM
SDS	%1 (w/v)
EDTA	10 mM
Sodyum Sitrat	10 mM

1X TE Tamponu (pH=8,0)

Tris-HCl	20 mM
EDTA	0,1 mM

%100'lük Kloroform (CHCl₃)

%100'lük İzopropanol (C₃H₈O)

5 M Sodyum Klorür (NaCl)

3.3. Yanakıçi Epitel Hücrelerinden DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Tampon ve Kimyasallar

Hücre Lizis Tamponu (pH=8,0)

Tris	50 mM
EDTA	50 mM
Sükroz	50 mM
NaCl	100 mM
SDS	%1 (w/v)

Low-TE Tamponu (pH=8,0)

Tris	10 mM
EDTA	0,1 mM

Kloroform - İzamil Alkol

Kloroform	%100'lük	24x
İzamil Alkol	%100'lük	1x

Proteinaz K

stH₂O içerisine 10 mg/ml

Etanol (EtOH)

stH₂O içerisine %70 EtOH

%100'lük Fenol (C₆H₆O)

%100'lük Kloroform (CHCl₃)

%100'lük İzopropanol (C₃H₈O)

3 M Sodyum Asetat (NaOAc) : 0,2 µm membran filtre ile filtrenmelidir

3.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu İçin Gerekli Enzim ve Kimyasallar

10X MgCl₂'süz Tampon

(NH₄)₂SO₄ 200 mM
Tris-HCl (pH =8.8) 750 mM
Tween 20 % 0.1
(Fermentas, LİTVANYA)

MgCl₂

stH₂O içerisinde 25 mM
(Fermentas, LİTVANYA)

Deoksiribonükleotidler (dNTP)

dATP 100 mM
dCTP 100 mM
dGTP 100 mM
dTTP 100 mM
(Fermentas, LİTVANYA)

Taq DNA Polimeraz

Rekombinant Taq DNA Polimeraz
(Fermentas, LİTVANYA)

3.4.1. Oligonükleotid Primerler

GSTM1, GSTT1 ve β-globulin gen bölgelerinin çoğaltılması için kullanılan primer dizileri Tablo 3.3'de verildiği gibidir.

Tablo 3.3. Primer dizileri

Gen Lokusu	Primer Adı	Primer Dizisi
GSTM1	GSTM1F	5'-ACTCCCTGAAAAGCTAAAGC-3'
	GSTM1R	5'-TGGGCTCAAATATACGGTGG-3'
GSTT1	GSTT1F	5'-TAGCTGACCTCGTAGCCAT-3'
	GSTT1R	5'-GAAGTCCTTGGCCTCAGAA-3'
β-Globulin	BETAGLBNF	5'-AAGAGCCAAGGACAGGTAC-3'
	BETAGLBNR	5'-CAACTTCATCCACGTTCCACC-3'

3.5. Elektroferez İçin Kullanılan Tamponlar ve Kimyasallar

10X TBE (Tris-Borik Asit-EDTA)

Tris-Baz	890 mM
Borik Asit	890 mM
Na ₂ EDTA.2H ₂ O (pH=8.3)	20 mM

10X Bromofenol Mavisi (BPB) : 2,5 mg/ml BPB

Etidyum Bromür (EtBr) : 10 mg/ml

Agaroz Jel : 0,5 X TBE Tamponunda %1 ve %2'lik (w/v) agaroz

3.6. DNA Büyüklük Markörleri

GeneRuler DNA markörü - 50 b: 50, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000 baz iftlik DNA fragmentleri içeren markr (Fermentas, LİTVANYA)

GeneRuler DNA markörü - 100 b: 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000 baz iftlik DNA fragmentleri içeren markr (Fermentas, LİTVANYA)

3.7. Cihazlar

Buzdolapları	: Beko 8742, Arçelik 3061 Plus (TÜRKİYE)
Derin Dondurucular	: -20°C, 2021 D (Arçelik, TÜRKİYE) : -20°C, GSD26410NE (Bosch, ALMANYA)
Görüntüleme Sistemi	: Bio-RAD Universal HoodII (BIO-RAD İTALYA)
G Kaynakları	: EPS 301 (Amersham Pharmacia Biotech,(İSVEÇ) : PowerPac Basic (BIO-RAD, İTALYA)
Isı Bloğu	: DB 2D (Techne, İNGİLTERE)
Manyetik Karıştırıcılar	: MR 3001 (Heidolph, ALMANYA)
Santrifüj	: MiniSpin Plus (Eppendorf, ALMANYA)
Su Arıtma Sistemi	: Millipore Milli Q Synthesis A10 (FRANSA)
Su Banyoları	: Nüve BM 402 (TÜRKİYE)

Tarti : Hassas Terazı, XB220 A (Presica, İSVİÇRE)
Thermo-Cycler : Techne TC-512 (İNGİLTERE)
Vorteks : Heidolph REAX (ALMANYA)
Yatay Elektroforez Sistemleri: MultiSub Midi Cleaver Scientific - (İNGİLTERE)
MiniRapide Cleaver Scientific - (İNGİLTERE)

4. YÖNTEMLER

4.1. Kan Örneklerinden DNA İzolasyonu

Hastalardan EDTA'lı tüplere alınmış kan örneklerinden 500 µl, 1,5 ml'lik Eppendorf tüplerine aktarılır. 1000 µl hücre lizis tamponu her bir kan örneğinin üzerine eklenir. Tüpler hafifçe ters-düz edilip, vortekslenerek tampon ve kanın birbirine iyice karışmaları sağlanır. 6000 rpm'de 2 dakika santrifüj edildikten sonra tüm üst fazlar (süpernatant) atılır. Eğer krem rengi pellet elde edilmediyse hücre lizis tamponu pellet üzerine tekrar eklenerek aynı şartlarda santrifüj edilir. Bu işlem krem rengi pellet elde edene kadar 1-2 kez tekrarlanabilir. İstenen özelliklerde elde edilen pellet üzerine 300 µl çekirdek lizis tamponu eklenerek pelletin çözülmesi sağlanır. Üzerine 5M NaCl'den 100 µl ve 600 µl kloroform eklenerek tüpler hafifçe ters-düz edilerek birbirine karışması sağlandıktan sonra, 6000rpm'de 2 dakika santrifüj edilir. Bu aşamada tüplerde 3 faz görülür, DNA'yı içeren en üst faz, diğer fazlara dokunulmadan mikropipet yardımı ile alınarak başka bir Eppendorf tüpe aktarılır. Üzerine 600 µl soğuk izopropanol ilave edilir. Tüpler ters-düz edilerek, 13000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilir. Bu aşamada amaç DNA'nın çökmesini sağlamaktır. Süpernatant pellet kaybı olmamasına dikkat edilerek atılıp, tüpler 20-30 dakika kurumaya bırakılır. Kuruyan pelletler üzerine, miktarına göre 50-100 µl TE tamponu eklenir. TE tamponu içinde çözülmüş DNA kısa süre için +4 °C'de veya daha uzun süreler için -20 °C'de saklanabilir.

4.2. Yanak İçi Epitel Hücrelerinden DNA İzolasyonu

Sağlıklı bireylerden, yaklaşık 1 dakika boyunca yanaklarının içine sürülerek alınan yanak içi epitel hücreleri içeren swab, 600-700 µl lizis tamponu içeren tüpe konulur. Swab içeren lizis tampon üzerine 50 µl 10 mg/ml Proteinaz K enzimi ilave edilerek, 55 °C'de 30 dk-1 saat arası inkübe edilir. İnkübasyondan sonra swab tüpün kenarlarına bastırılarak emdiği tampon ile beraber hücreleri tüpün içerisine bırakması sağlanır ve swab bu işlemde sonra atılır. Epitel doku hücrelerini içeren tüp içerisine 300 µl fenol ve 600 µl kloroform eklenerek, 12000 g'de 2 dk santrifüj edilir. Santrifüj sonrası tüpte 3 faz oluşur. En üst faz, alt ve ara faza dokunulmadan alınarak

yeni bir Eppendorf tüpe aktarılır. Yeni tüpe aktarılan üst faz üzerine 500 µl klorofom:izoamil alkol (24:1) ilave edilir ve tekrar 12000 g'de 2 dk santrifüj edilir. Santrifüj sonrası oluşan üst faz tekrar alınır ve üzerine 1/10 hacimde sodyum asetat eklenerek tüpler birkaç kez ters-düz edilir. 0,6 hacimde (%100'lük) izopropanol tüplere eklenir ve -20 °C'de bir gün boyunca inkübe edilerek DNA'nın çökmesi sağlanır. İnkübasyon esnasında tüplerin ters-düz edilmesi DNA 'nın çökmesi için faydalıdır. Gün boyu süren inkübasyon işleminden sonra tüpler 12000 g'de 10 dk santrifüj edilerek DNA'nın tamamen çökmesi sağlanır. Süpernatant atılarak pellet üzerine 500 µl % 70'lik etanol eklenir ve pelletin etanol içerisinde çözünmesi için tüpler hafifçe vortekslenir ve 12000g'de 5 dk santrifüj edilir. Santrifüj sonrası süpernatant atılarak pellet 20-30 dk kurumaya bırakılır. Pelletin kurduğundan emin olunduktan sonra üzerine 50 µl Low-TE eklenir ve oda sıcaklığında 2-3 gün çözünmesi için bırakılır. 3 günün sonunda tüpler +4 °C veya -20 C 'de saklanabilir.

4.3. Multipleks Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Genomik DNA'sı izole edilen örneklerden GSTM1 ve GSTT1 genlerinin genotip analizlerini yapabilmek için Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) yöntemi kullanılmıştır. PCR, DNA üzerinde dizisi bilinen bir bölgenin çeşitli kimyasallar ve ısı değişikliği yardımı ile sentezlenerek çoğaltılması işlemidir. Kabaca denatürasyon, bağlanma ve uzama aşamalarının birçok kez tekrarlanması ile meydana gelmektedir. Kalıp olarak kullanılan çift zincirli DNA, ısı yardımı ile denatüre edilerek tek zincirli hale gelir, primerler uygun sıcaklıkta DNA'nın tek zincirine bağlanır ve DNA Taq polimeraz enziminin ortamdaki uygun deoksinükleotid trifosfatları (dNTP) ekleyerek yeni zincirleri oluşturur.

Multipleks PCR birden fazla primer çifti kullanılarak tek reaksiyonda birçok hedef gen dizisinin çoğaltılması işlemidir. GSTM1 ve GSTT1 genlerinde meydana gelen delesyonlar genin tamamını kapsadığı için tüm aktivitenin kaybolmasına neden olmaktadır. Dolayısıyla UV ile görüntülenen PCR ürünlerinde beklenen bölgede bantın görülmemesi durumunda gen, mutasyonlu olarak kabul edilmiştir. PCR analizleri için kullanılan reaksiyon şartları Tablo 4.1 ve 4.2'de verilmiştir.

Tablo 4.1. PCR’da kullanılan malzemeler ve miktarları

Malzeme	Stok Konsantrasyon	Miktar
Taq DNA Polimeraz Buffer	10X	2,5 µl
dNTP	10mM	2,5 µl
Primer sen se	10pmol/µl	0,6 µl
Primer antisense	10pmol/µl	0,6 µl
MgCl ₂	25mM	2,0 µl
Taq DNA Polimeraz	5U/ µl	0,2 µl
DNA	-	100ng.

Tablo 4.2. PCR ısı şartları

Aşama	Sıcaklık	Zaman
Başlangıç Denatürasyonu	94 °C	5 dk
Denatürasyon	94 °C	30 sn
Primer Bağlanması	61 °C	45 sn
Zincir Uzaması	72 °C	1 dk
Son Uzama	72 °C	5 dk
Döngü Sayısı	35	

4.4. Agaroz Jel Elektrofrez ve Etidyum Bromür Boyaması

Elektrofrez, elektron yüklü makromoleküllerin bir elektriksel alan uygulanarak tampon içeren bir ortamda hareket hızlarının ölçüldüğü, molekülleri büyüklük, yük ve konformasyonlarına göre ayırmaya yarayan bir yöntemdir. Temel prensibi, eksi yüklü moleküllerin (anyonlar) artı yüklü elektroda (katoda), artı yüklü moleküllerin (katyonlar) ise eksi yüklü elektroda (anoda) doğru hareket etmesidir. Agaroz, yürütülecek moleküllerin büyüklüğüne bağlı olarak, istenilen yoğunlukta tampon çözelti olan TBE ile karıştırılarak, mikrodalga fırında iyice eriyene kadar ısıtılır. Solusyonun yaklaşık 50 – 60 °C’ye kadar soğuması beklenir ve elektrofrez sonrası DNA’yı görebilmek için solusyona 0.5mg/ml Etidyum bromür eklenir. Jel katılaşmadan, önceden hazırlanan tarakları yerleştirilmiş jel tablasına dökülür. Oda sıcaklığında katılaşması beklenir. Tablada bulunan jel, elektrofrez tankına yerleştirilir ve içerisindeki taraklar kuyuların bozulmamasına özen göstererek çıkarılır. Görüntülenmek istenen örnekler, jel üzerinde göçünün takip edilebilmesi için, son konsantrasyonu 1x olacak şekilde Bromofenol mavisi boyası ile

karıştırılarak mikropipet yardımı ile kuyucuklara yüklenirler. Güç vericiler aparata bağlanıp akım verilir, böylece bir elektrik alan oluşturulur. DNA fragmanlarının optimum ayırımının sağlanması için 5V/cm akım tercih edilir.

Bu çalışma kapsamında yapılan PCR örnekleri % 2'lik agaroz jel kullanılarak 120V'ta 27 dk, izole edilen DNA örnekleri ise %1'lik agaroz jel kullanılarak 120V'ta 15 dk yürütülerek, EtBr boyaması ile UV altında görüntülenmişlerdir.

4.5. Verilerin İstatistiksel Analizi

Multiplik PCR ile hasta ve sağlıklı bireylerden elde edilen GSTM1 ve GSTT1 gen polimorfizmlerinin genotipleri ve genotip frekansları karşılaştırılarak aradaki farkların anlamlandırabilmesi için istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Buna ek olarak, GSTM1 ve GSTT1 polimorfizmlerinin gösterdiği dağılımlar yaş, cinsiyet ve sigara kullanımı gibi çevresel etmenler ile beraber hasta ve kontrol gruplarında incelenmiştir. Analizler SPSS 15.0 programı ile yapılmıştır. Tüm verilerde 0,05'ten küçük p değerine sahip sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

5. SONUÇLAR

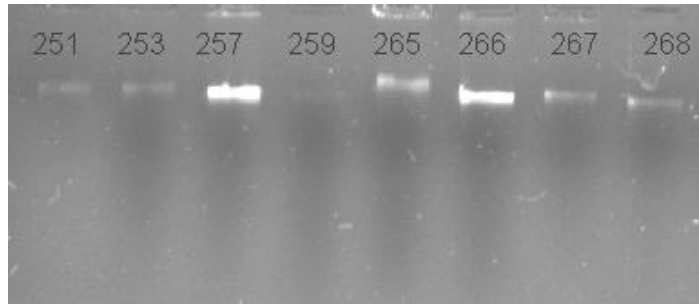
5.1. Örneklerin Tanımı

Çalışmaya 197 mesane kanseri hastası ve 164 sağlıklı birey olmak üzere toplamda 361 kişi dahil edilmiştir. Bu bireyler yaş, cinsiyet, sigara içim öyküsü açısından değerlendirilmiştir. Mesane kanseri hastası olan bireyler, sağlıklı bireylerden farklı olarak tümör evre ve derecesine göre de sınıflandırılmışlardır.

Yaşları 26-90 yaş aralığında olan hastalardan, 5 tanesi 45 yaş ve altında, 18 tanesi 46-55 yaş aralığında, 50 tanesi 56-65 yaş aralığında, 46 tanesi 66-75 yaş aralığında, 44 tanesi ise 75 yaş ve üzerindeki gruba dahildir. Hasta tümörlerinin evreleri % 62,5 pTa, % 25 pT1, % 10,9 pT2, % 1,6 pT3'tür.

5.2. DNA İzolasyonu

Hasta grubundaki bireylerin kan örneklerinden Bölüm 4.1.1' de anlatılan yöntem ile, kontrol grubuna dahil olan bireylerin ise yanak içi epitel hücrelerinden Bölüm 4.1.2' de anlatıldığı şekilde DNA izole edilmiştir. DNA'nın hasar görmeden elde edildiğini analiz etmek için, DNA örneklerinden 1µl, %1'lik agaroz jelde 15 dk yürütülerek görüntülenmiştir (Şekil 5.1).



Şekil 5.1. Genomik DNA örneklerinin %1'lik agaroz jelde görüntümü

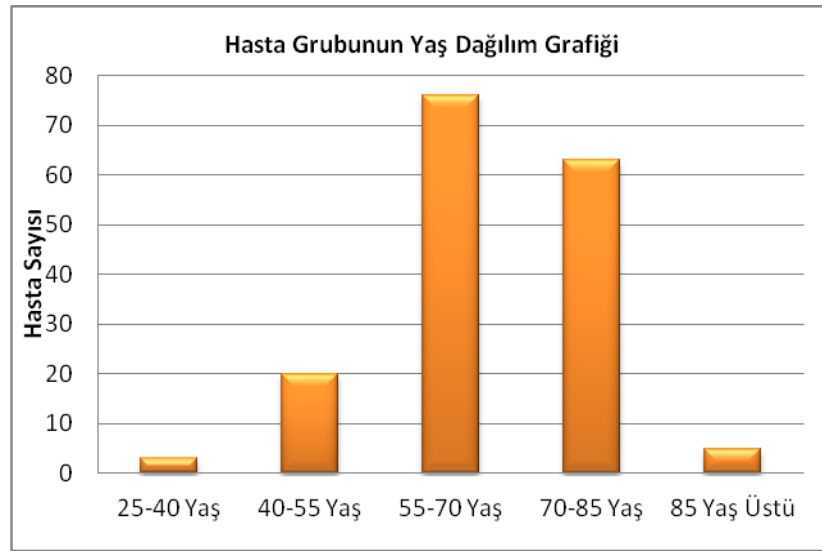
5.3. Yaş ve Mesane Kanserinin İlişkilendirilmesi

Hastaların yaş dağılımlarını değerlendirmek için bireyler 25-40, 40-55, 55-70, 70-85 ve 85 yaş üzeri şeklinde beş farklı yaş aralıklarından oluşturulan gruba

ayrılmıştır (Tablo 5.1). Hastaların büyük çoğunluğunu 56-70 yaş arası (%45,5) ve 71-85 yaş arası (%37,7) bireyler oluşturmaktadır (Şekil 5.2). Buna göre, hastalık insidansının yaş ile doğru orantılı olarak arttığı sonucuna varılabilir.

Tablo 5.1. Yaş-grup tablosu

Grup	Yaş					Toplam
	25-40 Arası	40-55 Arası	55-70 Arası	70-85 Arası	85 Üstü	
Hasta	3 (1,8%)	20 (12,0%)	76 (45,5%)	63 (37,7%)	5 (3,0%)	167



Şekil 5.2. Hasta grubunun yaş dağılım grafiği

5.4. Cinsiyet ve Mesane Kanserinin İlişkilendirilmesi

Çalışmaya katılan hasta ve kontrol gruplarının kadın ve erkek sayıları belirlenerek çapraz tablolar oluşturulmuştur. Çapraz tablolardaki veriler mesane kanseri ve cinsiyet arasındaki ilişkinin saptanabilmesi için ki-kare bağımsızlık testine tabi tutulmuştur (Tablo 5.2)

Tablo 5.2. Cinsiyet dağılımları

		Grup			Ki-Kare	Serbestlik Derecesi	(P)
		Hasta	Kontrol	Toplam			
Cinsiyet	Erkek	160 (81,2%)	71 (43,3%)	231	55,863	1	0,000
	Kadın	37 (18,8%)	93 (56,7%)	130			
	Toplam	197	164	361			

Yukarıdaki tabloya bakıldığı zaman erkeklerin büyük çoğunluğunun hasta grubunda, kadınların da büyük çoğunluğunun kontrol grubunda olduğu görülmektedir. %95 güven düzeyinde yapılan Ki-Kare analizine göre anlamlılık sütunundaki değer $p=0,000<0,05$ olduğundan cinsiyetin hasta ve kontrol grubuna homojen olarak dağılmadığı, hasta ve kontrol grubundaki bireylerin cinsiyetlerinin anlamlı farklılık gösterdiği anlaşılmaktadır. Risk tahmini analizinde hastalığın cinsiyete göre riskli olup olmadığı araştırılmış ve erkeklerin kadınlara göre 5,664 kat hastalık riski taşıdığını gösterilmiştir (Tablo5.3).

Tablo 5.3. Cinsiyet risk tahmini

Cinsiyet İçin Odds Ratio (Erkek / Kadın)	Grup (Hasta-Kontrol)		
	OR	95% CI	
		Upper	Lower
5,664	3,531	9,085	

5.5. Sigara İçimi ve Mesane Kanserinin İlişkilendirilmesi

Araştırmaya katılan hasta ve sağlıklı bireylerin sigara öykülerini içeren çapraz tablo oluşturulmuştur. Mesane kanseri ve sigara içimi arasındaki bağlantının belirlenebilmesi için, oluşturulan çapraz tablo verileri ki-kare bağımsızlık testine tabi tutulmuş ve tüm sonuçlar sırasıyla Tablo 5.4 ve Tablo 5.5’de verilmiştir.

Tablo 5.4. Sigara kullanımı dağılımları

		Grup			Ki-Kare	Serbestlik Derecesi	Sig. (P)
		Hasta	Kontrol	Toplam			
Sigara Kullanımı	Evet	125 (74,9%)	60 (36,6%)	185	49,143	1	0,000
	Hayır	42 (25,1%)	104 (63,4%)	146			
Toplam		167	164	331			

Sigara kullananların büyük çoğunluğunun (125/185) hasta grubunda olduğu görülmektedir. Sigara kullanmayanların da büyük çoğunluğunun (104/146) kontrol grubunda olduğu görülmektedir. %95 güven düzeyinde yapılan Ki-Kare analizine

göre anlamlılık sütunundaki değer $p=0,000<0,05$ olduğundan sigara kullanma durumunun hasta ve kontrol grubuna homojen olarak dağılmadığı anlaşılmaktadır.

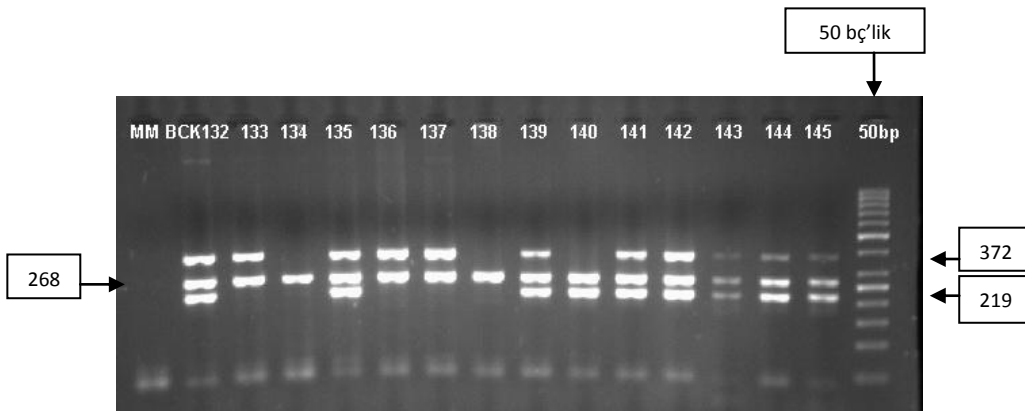
Hasta ve kontrol grubunun sigara kullanımı risk tahminleri tablosunda (Tablo 5.13) sigara kullanımının mesane kanseri gelişimi için riskli olup olmadığı gösterilmiştir. OR değerine göre sigara kullananların mesane kanseri riski, sigara kullanmayanlara göre 5,159 kat daha fazladır.

Tablo 5.5. Sigara kullanımı risk tahmini

Sigara Kullanımı İçin Odds Ratio (Evet/Hayır)	Grup (Hasta-Kontrol)		
	OR	95% CI	
		Upper	Lower
5,159	3,217	8,274	

5.6. GSTM1 ve GSTT1 Polimorfizmlerinin Moleküler Analizi

Çalışmaya dâhil edilen hasta ve sağlıklı bireylerden izole edilen DNA'lardan GSTM1F/R, GSTT1F/R ve BETAGLBNF/R primerleri ile Bölüm 4.2'de belirtilen şartlarda yapılan Multiplex PCR yapılmıştır. Her PCR reaksiyonunda yabancı tip ve boş alellere sahip olduğu bilinen örnekler kontrol olarak dâhil edilmiştir. GSTM1 bölgesi için 219 baz çifti, GSTT1 372 baz çifti uzunluğunda amplifikasyon ürünleri elde edilmiştir. İnternal kontrol olarak kullanılan β -globulin geni için ise 268 baz çifti uzunluğunda amplifikasyon ürünü elde edilmiştir. PCR ürünlerinden 8 μ l, %2'lik agaroz jele yüklenerek yürütülmüş ve EtBr ile boyanarak UV altında görüntülenmiştir (Şekil 5.3).

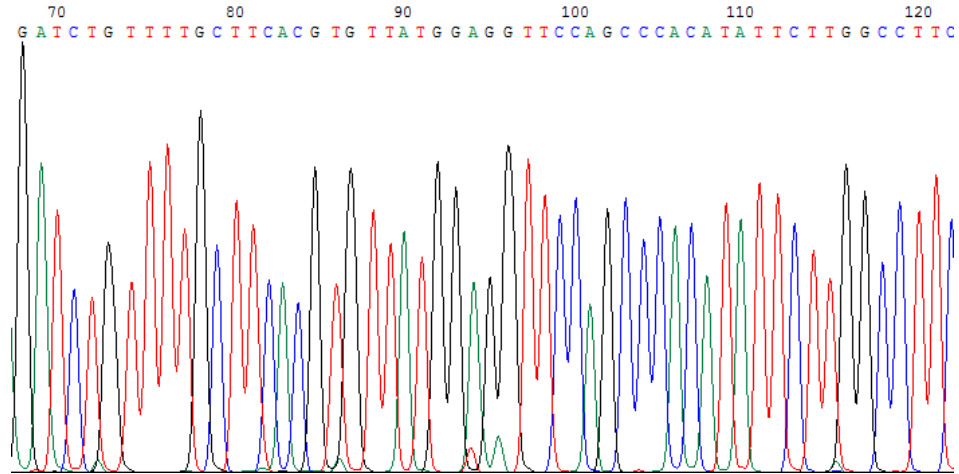


Şekil 5.3. PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jelde görüntülenmesi

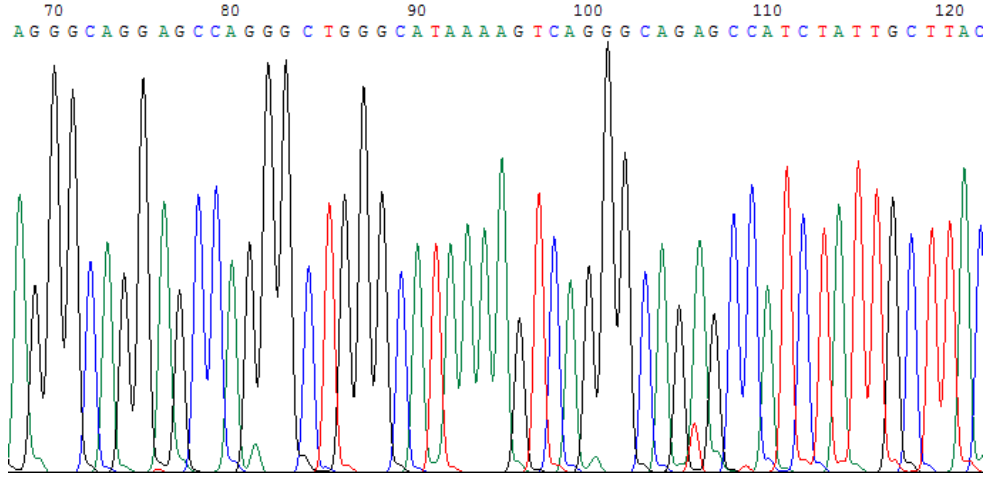
Çalışmaya katılan hasta ve sağlıklı bireylerden elde edilen PCR ürünlerinin boyları değerlendirilerek, genotip bilgileri ve genotip frekansları elde edilmiştir (Tablo 5.10). GSTM1 ve GSTT1 gen lokuslarında meydana gelen polimorfizmler genlerin delesyonuna sebep olmaktadır. Bu bilginin ışığında PCR görüntüleri değerlendirilirken, beklenen bölgede bantın görülmemesi her iki gen için de NULL genotip ile ilişkilendirilmiştir.

5.7. PCR Sonuçlarının Dizi Analizi ile Teyidi

Multiplik PCR metodu ile genotipi belirlenen örneklerden rastgele seçilen 2 tanesi dizi analizine tabii tutulmuş ve sonuçlar karşılaştırılmıştır. Dizi analizi sonuçları ile PCR sonuçları tamamen örtüşmektedir. Bu durum çalışmada belirlenen genotiplerin doğruluğunu göstermektedir. Şekil 5.4 ve 5.5'te GSTM1 ve β -globin genlerinin örnek kromatogramları görülmektedir.



Şekil 5.4. GSTM1 geni örnek kromatogramı



Şekil 5.5. β -globulin örnek kromatogramı

5.8. GSTM1 ve GSTT1 Polimorfizmlerinin Tümör Evreleriyle İlişkilendirilmesi

Mesane tümöründe derecelendirme, hüresel atipi, nükleer anomaliler ve mitoz sayısına dayandırılarak Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organisation, WHO) tarafından üç kategoriye ayrılmıştır; derece 1, 2 ve 3.

Evrelendirmede ise Jewett-Marshall ve Tümör-Nod-Metastaz (TNM) olmak üzere 2 farklı sistem bulunmakla beraber, genellikle TNM sistemi kullanılmaktadır. TNM sistemine göre mesane tümör evreleri; pTa, pT1, pT2, pT3, pT4 olarak sınıflandırılmıştır. Bunlardan pTa, pT1 erken, pT2, pT3, pT4 geç evre olarak kabul edilmektedir (Mostofi ve diğ.,1973; Lieskovsky, 1983).

Yapılan ki-kare analizlerinde (Tablo 5.6 ve 5.7) GSTM1 ve GSTT1 genotiplerinin, tümör evrelerine göre homojenlik gösterdiği görülmektedir ($p=0,701>0,05$ ve $p=0,382>0,05$).

Tablo 5.6. GSTM1 genotipi ile tümör evrelerinin karşılaştırması

		Evre		Toplam	Ki-Kare	Serbestlik Derecesi	Sig. (P)
		pTa/pT1	pT2/pT3/pT4				
GSTM1 Genotip	NULL	31	2	33	0,148	1	0,701
	+	25	1	26			
Toplam		56	3	59			

Tablo 5.7. GSTT1 genotipi ile tümör evrelerinin karşılaştırması

		Evre			Ki-Kare	Serbestlik Derecesi	Sig. (P)
		pTa/pT1	pT2/pT3 /pT4	Toplam			
GSTT1 Genotip	NULL	23	2	25	0,764	1	0,382
	+	33	1	34			
Toplam		56	3	59			

5.9. GSTM1 ve GSTT1 Polimorfizmlerinin Mesane Kanseri ile İlişkilendirilmesi

Tablo 5.10'da GSTM1 ve GSTT1 genotiplerinin hasta ve kontrol gruplarındaki dağılımını göstermektedir. GSTM1 ve GSTT1 polimorfizmlerinin mesane kanseri ile olan ilişkisi SPSS 15.0 programı ile Ki-kare bağımsızlık testi kullanılarak analiz edilmiştir (Tablo 5.9).

Hastalarda null GSTM1 genotip sayısı (120) yabancı (+) GSTM1 genotip sayısından (102) daha fazladır. Kontrol grubunda ise bu durum tam tersidir. GSTM1 genotip sayısı null genotipten daha fazladır. %95 güven düzeyinde yapılan Ki-Kare analizine göre (Tablo 5.9) anlamlılık sütunundaki değer $p=0,023<0,05$ olduğundan GSTM1 null genotipinin mesane kanseri riski ile ilişkili olduğu görülmektedir.

GSTT1 genotipine bakıldığı zaman yabancı (+) genotipler hem hastalarda hem de kontrol grubunda daha fazladır. %95 güven düzeyinde yapılan Ki-Kare analizine göre anlamlılık sütunundaki değer $p=0,335>0,05$ olduğundan GSTT1 null genotipi mesane kanseri riski ile ilişkili görülememiştir (Tablo 5.9). Risk tahmini verilerine göre (Tablo 5.10) GSTM1 için hastalar kontrol grubuna göre 1,574 kat riskli durumdadır.

Tablo 5.8. GSTM1 ve GSTT1 genotip dağılımları

	GSTM1 Genotip		GSTT1 Genotip	
	NULL	+	NULL	+
Hasta	120	102	69	153
Kontrol	80	107	50	137

Tablo 5.9. Genotiplerin ki-kare analizi

	GSTM1 Genotip	GSTT1 Genotip
Ki-Kare	5,162	0,928
Serbestlik Derecesi	1	1
Sig. (P)	0,023(*)	0,335

Tablo 5.10. GSTM1 risk tahmini

GSTM1 Genotipi için OR (Hasta/Kontrol)	GSTM1		
	OR	95% CI	
		Upper	Lower
1,574	1,063	2,329	

Bu analizlere ek olarak, hem GSTM1 null, hem de GSTT1 null özelliği taşıyanların, taşımayanlara göre riski değerlendirilmiştir (Tablo 5.11). Ki-kare analizine göre anlamlılık sütunundaki değer $p=0,024<0,05$ olduğundan hem GSTM1+ hem GSTT1+ genotipi olan hasta ve kontroller ile hem GSTM1 null hem de GSTT1 null genotipi olan hasta ve kontroller homojen dağılmamıştır. Her iki lokusta da null genotipe sahip olmak hastalık için 2,087 kat risk faktörü oluşturmaktadır (Tablo 5.12).

Tablo 5.11. GSTM1-T1 null ve (+) genotip dağılımları

	Hasta	Kontrol	Toplam	Ki-Kare	df	Anlamlılık (P)
GSTM1+ ve GSTT1+	69	76	145	5,105	1	0,024
GSTM1 null ve GSTT1 null	36	19	55			
Toplam	105	95	200			

Tablo 5.12. GSTM1 null, GSTT1 null genotiplerinin risk tahmini

GSTM1null, GSTT1 null Genotipleri İçin Odds Ratio (Hasta / Kontrol)	OR	95% CI	
		Upper	Lower
	2,087	1,096	3,975

5.10. GSTM1 ve GSTT1 Polimorfizmlerinin Sigara Kullanımı ile İlişkilendirilmesi

Sigara kullanan hasta ve kontrollerde GSTM1 genotipi homojen olarak dağılmamıştır (Tablo 5.13). Yani, sigara içen hasta ve kontrollerde genotip özellikleri arasında anlamlı farklılık vardır ($p=0,048$). GSTM1 null genotipi taşıyanlar için sigara kullanmak hastalık için 1,620 kat risk oluşturmaktadır (Tablo 5.13). Sigara

içen hasta ve kontrollerde ise GSTT1 genotipi homojen olarak dağılmaktadır (P=0,375>0,05).

Tablo 5.13. Sigara içenlerde GSTM1 ve GSTT1 genotip dağılımı

Genotip	Sigara İçenler			
	Hasta/Kontrol	OR (Hasta/Kontrol)	%95CI	P
GSTM1 (+)	87/50	1,620	0,955 – 2,746	0,048
GSTM1 null	93/33			
GSTT1 (+)	125/60	1,148	0,645 – 2,042	0,375
GSTT1 null	55/23			

Sigara içmeyen hasta ve kontrollerde ise GSTM1 genotipi homojen olarak dağılmamıştır. Yani, sigara içmeyen hasta ve kontrollerde genotip özellikleri arasında anlamlı farklılık vardır (P=0,016<0,05). Sigara içmeyip GSTM1 null genotipi taşımak hastalık için 1,926 kat risk oluşturmaktadır (Tablo 5.14). GSTT1 genotipine bakıldığında sigara içmeyen hasta ve kontrollerde GSTT1 genotipi homojen olarak dağılmaktadır (P=0,464>0,05).

Tablo 5.14. Sigara içmeyenlerde GSTM1 ve GSTT1 genotip dağılımları

Genotip	Sigara İçmeyenler			
	Hasta/Kontrol	OR (Hasta/Kontrol)	%95CI	P
GSTM1 (+)	40/73	1,926	1,127 – 3,292	0,016
GSTM1 null	57/54			
GSTT1 (+)	73/90	0,800	0,439 – 1,456	0,464
GSTT1 null	24/37			

5.11. GSTM1 Polimorfizminin Diğer Risk Faktörleri ile Birlikte Değerlendirilmesi

Erkek olmanın, sigara içmenin ve GSTM1 null genotipe sahip olmanın mesane kanseri için risk faktörleri olduğu daha önceki bölümlerde gösterilmişti. Bu bölümde ise bu risk faktörleri ikili ve üçlü kombinasyonlar halinde analize tabi tutulmuştur.

İlk olarak hasta ve kontrol grubu erkeklerde GSTM1 genotip dağılımı karşılaştırılmıştır. Anlamlılık değerinin $p=0,025<0,05$ olması hasta ve kontrol grubu erkeklerde GSTM1 genotipinin homojen dağılmadığı anlamına gelmektedir. Erkek olmak ve GSTM1 null genotipi taşımak hastalık için 1,773 kat risk oluşturmaktadır (Tablo 5.15).

Tablo 5.15. Hasta ve kontrol grubu erkeklerde GSTM1 dağılımı

Genotip	Erkekler			
	Hasta/Kontrol	OR (Hasta/Kontrol)	%95CI	P
GSTM1 (+)	86/57	1,773	1,071 – 2,938	0,025
GSTM1 null	99/37			

Buna ek olarak GSTM1null ve erkek bireyler ile GSTM1(+) ve kadınların dağılımları elde edilmiştir (Tablo 5.15). Ki-Kare analizine göre anlamlılık sütunundaki değer $p=0,000<0,05$ olduğundan GSTM1 null erkek hasta ve kontroller ile GSTM1+ kadın hasta ve kontroller homojen olarak dağılmamıştır. Risk tahmin tablosuna göre (Tablo 5.16). GSTM1 null genotipi olan erkek hastalar GSTM1+ genotipi olan kadın kontrollere göre 8,750 kat daha riskli durumdadır.

Tablo 5.16. GSTM1 null erkek ve GSTM1(+) kadınların dağılımı

Grup	GSTM1 null Erkek	GSTM1+ Kadın	Toplam	Ki-Kare	df	Anlamlılık (P)
Hasta	84	16	100	41,383	1	0,000
Kontrol	30	50	80			
Toplam	114	66	180			

Tablo 5.17. GSTM1 null erkekler için risk tahmini

Erkekler İçin Odds Ratio (Hasta / Kontrol)	OR	95% CI	
		Upper	Lower
	8,750	4,343	17,629

GSTM1 null genotipli ve sigara içen bireyler ile GSTM1(+) ve sigara içmeyen bireylerin dağılımları oluşturulmuştur (Tablo 5.17). Ki-kare analizine göre anlamlılık sütunundaki değer $p=0,000<0,05$ olduğundan GSTM1 null ve sigara içen hasta ve kontroller ile GSTM1+ ve sigara içmeyen hasta ve kontroller homojen dağılmamaktadır. Risk tahmini tablosuna bakıldığında (Tablo 5.18). GSTM1 null genotipli ve sigara içen hastaların GSTM1+ olan ve sigara içmeyen kontrollere göre 9,208 kat daha riskli olduğu görülmektedir.

Tablo 5.18. GSTM1 null sigara içen ve GSTM1(+) sigara içmeyen bireylerin dağılımı

Grup	GSTM1 null ve Sigara içen	GSTM1+ ve Sigara içmeyen	Toplam	Ki-Kare	df	Anlamlılık (P)
Hasta	63	15	78	39,765	1	0,000
Kontrol	26	57	83			
Toplam	89	72	161			

Tablo 5.19. GSTM1 null sigara içenler için risk tahmini

Sigara Tüketimi İçin Odds Ratio (Hasta / Kontrol)	OR	95% CI	
		Upper	Lower
	9,208	4,439	19,098

Üçüncü olarak da, bu çalışma kapsamında belirlenmiş tüm risk faktörlerine sahip olan bireylerin, bu faktörleri taşımayan bireylere göre sahip olduğu risk değerlendirilmiştir. %95 güven düzeyinde yapılan Ki-Kare analizine göre anlamlılık sütunundaki değer $p=0,000<0,05$ olduğundan GSTM1 null olan sigara içen erkek hasta ve kontroller ile GSTM1+ sigara içmeyen kadın hasta ve kontroller homojen dağılmamıştır (Tablo 5.19). Risk tahmini tablosuna bakıldığı zaman GSTM1 null genotipli ve sigara içen erkek hastalar, GSTM1+ genotipi olan sigara içmeyen kadın kontrollere göre 18,891 kat daha riskli durumdadır (Tablo 5.20).

Tablo 5.20. GSTM1 null, sigara içen erkekler ve GSTM1(+), sigara içmeyen kadınların dağılımı

Grup	GSTM1 null Sigara içen Erkek	GSTM1+ Sigara içmeyen Kadın	Toplam	Ki-Kare	df	Anlamlılık (P)
Hasta	62	8	70	46,444	1	0,000
Kontrol	16	39	55			
Toplam	78	47	125			

Tablo 5.21. GSTM1 null, sigara içen erkekler için risk tahmini

Sigara İçen Erkekler İçin Odds Ratio (Hasta / Kontrol)	OR	95% CI	
		Upper	Lower
	18,891	7,390	48,286

6. TARTIŞMA

Metabolizmada yaşlı ve hasarlı hücrelerin yerini geriden gelen yeni hücreler alırlar. Hücrelerin sürekli olarak belli bir kontrol mekanizması altında bölündükleri bir hücre döngüsü mevcuttur. Bu hücre döngüsünün kusursuz bir şekilde olması metabolizmanın devamı için önemlidir. Mutasyonların ortaya çıkması, ksenobiyotiklere maruz kalma oranına ve maruz kalma sonucunda oluşan hasarların tamir edilme oranına bağlıdır. Hücrelerin kontrol mekanizmasında rol oynayan genlerde mutasyonların meydana gelmesine neden olan ksenobiyotikler, metabolizmada metabolik genler tarafından detoksifiye edilirler. Bu metabolik genlerde ve hücrelerdeki hasarları tamir eden DNA tamir genlerinde meydana gelen mutasyon oranı, hücre kontrol mekanizmasında görev alan genlerde meydana gelecek mutasyon oranlarını etkilemektedir. Metabolik genler, metabolizmadaki ksenobiyotiklerin aktivasyon ve detoksifikasyonunda rol oynayarak belli bir dengede kalmasını sağlarlar. Dolayısıyla metabolizmada serbest dolaşan elektrofilik ve hidrofobik endojenlerin hücrede birikimini ve dolayısıyla DNA'ya bağlanarak hasar oluşumunu engellemiş olurlar. Bir hücrede oluşan hasar tamir edilmeden hücre bölünmeye devam ederse, yeni oluşacak hücreler de hasarı taşırlar ve anormal bir gelişme ortaya çıkarak tümör oluşumuna neden olurlar.

Toksik ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda görev alan enzimlerin en önemlilerinden biri de GST izoenzim ailesidir. Bu enzimler çevresel kaynaklı kimyasallar ve doğal olarak oluşan birçok metabolitin detoksifikasyonundan sorumlu olup, dokuların oksidatif hasardan korunmasında rol oynayan önemli enzimlerdir. Hidrofobik ve elektrofilik özelliklerdeki toksik birleşiklerle karşılaştıklarında, GSH ile toksik bileşikler arasındaki konjugasyon reaksiyonunu katalizleyip, bu bileşiklerin suda çözünür hale gelmesini sağlayarak hücreden atılmasına yardımcı olurlar. Böylece hücrenin redoks durumunun düzenlenmesini sağlamış olurlar (Commandeur ve diğ.,1995).

Bu tez kapsamında 197 mesane kanserli hasta ve 164 sağlıklı kontrolde GSTM1 ve GSTT1 genotip dağılımı ve hastalıkla ilişkileri araştırılmıştır. Mesane kanserinin histopatolojisi genetik yatkınlık, çevresel ve mesleki maruziyet, sigara

içimi ve yaş gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. Çalışmada faktörler mesane kanserinde risk açısından da incelenmişlerdir.

%81,2'sini erkeklerin oluşturduğu hasta grubu incelendiğinde mesane kanseri ve cinsiyet arasında önemli bir ilişki olduğu, ve erkeklerin kadınlara nazaran 5,6 kat daha fazla mesane kanseri riskine sahip oldukları belirlenmiştir bulunmuştur.

Mesane kanseri için yaş artışı başka bir risk faktörüdür. Çalışmamıza dahil olan mesane kanseri hastalarının büyük çoğunluğunu 56-70 yaş arası (%45,5) ve 71-85 yaş arası (%37,7) bireyler oluşturmaktadır.

Şimdiye kadar yapılan çeşitli çalışmalarda önemli bir mesane kanseri tetikleyicisi olduğu düşünülen sigara tüketiminin mesane kanseri riskini yaklaşık 2-3 kat arttırdığı görülmüştür (Salagovic J ve diğ.,1999; Jeong HJ ve diğ.,2003; Karagas MR ve diğ.,2005; Sobti RC ve diğ.,2005). GSTM1 ve GSTT1 polimorfizmlerinin incelendiği çalışmamızda da hasta ve kontrol grubu sigara tüketimi açısından incelendiğinde, sigara tüketiminin mesane kanseri riskini 5,1 kat arttırdığı belirlenmiştir (OR=5,159 %95CI=3,217-8,274).

Hasta ve kontrol grup bireyleri sigara tüketimi açısından kıyaslandığında sigara kullananların büyük çoğunluğunun (125/185) hasta grubunda olduğu görülmektedir. Sigara kullanmayanlarında büyük çoğunluğunun (104/146) kontrol grubunda olduğu görülmektedir. %95 güven düzeyinde yapılan ki-kare analizine göre anlamlılık sütunundaki değer $p=0,000<0,05$ olduğundan sigara kullanma durumunun hasta ve kontrol grubuna homojen olarak dağılmadığı anlaşılmakta ve mesane kanseri riskini arttırdığı açık olarak görülmektedir ($X^2=49,143$, $df=1$, $p=0,00$).

6.1. Türk Populasyonunda GSTM1 ve GSTT1 Polimorfizmleri

Toplumun temel alınarak yapıldığı birçok araştırmada mesane kanserine yatkınlık teşkil eden genetik yapılar araştırılmıştır. Epidemiyolojik çalışmalar ile etnik grupların allel dağılımları ve bu polimorfik allellerin sıklığındaki farklılıklar olduğu ortaya konmuştur. Türk populasyonunda mesane kanserini araştıran az sayıda çalışma bulunmaktadır. Altaylı ve arkadaşları (2009) tarafından mesane kanseri ve CYP1A2, CYP2D6, GSTM1, GSTP1 ve GSTT1 gen polimorfizmi arasındaki ilişki araştırılmıştır. Bu çalışmada, GSTT1 geni mesane kanseri riski ile istatistiksel olarak anlamlı bulunmasına rağmen (OR= 3,94, %95CI=1,70–9,38, $p=0,001$), CYP1A2,

CYP2D6, GSTM1, GSTP1 gen polimorfizmleri ve mesane kanseri arasında herhangi bir ilişki bulunamamıştır (Altaylı ve diğ.,2009). Törüner ve arkadaşlarının (2001), Türk populasyonunda GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 polimorfizmlerini mesane kanserinde araştırdığı bir başka çalışmada ise GSTM1 null genotipi (OR=1,94, 95%CI=1,15-3,26) ve GSTP1 313 A/G veya G/G genotiplerinin (OR=1,75, 95%CI=1,03-2,99) mesane kanseri gelişiminde önemli bir role sahip olduklarını saptamışlardır. GSTT1 null genotipi ise mesane kanseri ile ilişkili olarak bulunamamıştır. GSTM1 null genotipini sigara içimi ile kombinleyerek mesane kanseri risk oranına baktıklarında ise, mesane kanseri riskinin 2.38 kat arttığı saptanmıştır (OR=2,38, 95%CI=1,12-4,95) (Törüner vd., 2001). Yine Türk populasyonunda CYP1A1 ve GSTM1 null genotiplerini mesane kanserinde araştıran Öztürk ve arkadaşları (2011), CYP1A1 Ile/Ile genotipi ile GSTM1 null genotip kombinasyonunun mesane kanseri gelişiminde etkili olduğu ($p=0,04$, $X^2=4,217$), fakat bu iki genotipin de tek başlarına mesane kanseri gelişim riski ile ilişkili olmadığı kanısına varılmışlardır ($p=0,622$ $X^2=0,243$ OR=0,94 95% CI=0,75-1,18) (Öztürk ve diğ.,2011).

Bizim çalışmamızda ise, GSTM1 gen polimorfizmi ve mesane kanseri riski arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur (OR=1,574 %95CI=1,063-2,329 $p=0,023$). GSTM1 gen polimorfizmi mesane kanseri riskini 1,5 kat arttırmaktadır. GSTM1 polimorfizmi sigara içimi ile ilişkilendirildiğinde, sigara içiminin GSTM1 null genotipli hastalarda 1,6 kat daha fazla olduğu görülmüştür (OR=1,620 %95CI=0,955-2,746 $p=0,048$). GSTT1 null genotipi ile mesane kanseri riski arasındaki ilişkiye bakıldığında ise GSTT1 genotipinin herhangi bir risk artışına sebep olmadığı görülmektedir ($p=0,335$). Sigara içen hasta ve kontrollerde GSTT1 genotipi homojen olarak dağıldığı görülmektedir ($p=0,375>0,05$). Sigara kullanımı ve GSTT1 null genotipini taşımak mesane kanseri için 1,148 kat risk taşımaktadır (OR=1,148 %95CI=0,645-2,042 $p=0,375$).

Hasta ve kontrol grupları GSTM1 ve GSTT1 null genotipleri ile erkek olma faktörü birleştirilerek yapılan analizlerde; GSTM1 null genotipi olan erkek hastalar, GSTM1 (+) genotipi olan kadın kontrollere göre 8,750 kat daha riskli durumda olduğu görülmüştür (OR=8,750, %95CI=4,343-17,629, $p=0,000$). Bugüne kadar yapılan çalışmalarda bu sonuçlara uygun olarak erkeklerin bu polimorfizmleri daha fazla taşıdığı ve mesane kanserine yakalanma riskinin kadınlara göre daha fazla olduğunun bildirildiği sonuçlar bulunmaktadır. (Lee ve diğ.,2002). Fakat GSTM1

polimorfizimli kadınlarda mesane kanseri risk artışının erkeklere oranla daha yüksek saptandığı çalışmalar da bulunmaktadır (Karagas MR. ve diğ.,2005; Srivastava DSL ve diğ.,2004).

GSTM1 null genotipli ve sigara içen bireyler ile GSTM1(+) ve sigara içmeyen bireylerin dağılımları da homojenlik göstermemektedir ($p=0,000<0,05$). GSTM1 null genotipli ve sigara içen hastaların GSTM1 (+) olan ve sigara içmeyen kontrollere göre 9,208 kat daha riskli olduğu görülmektedir (OR=9,208 %95CI=4,439-19,098).

Araştırmamız kapsamında belirlenmiş olan mesane kanseri için üç önemli risk faktörü olarak kabul edilen sigara içimi, erkek olma ve GSTM1 null genotipine sahip olma birlikte incelendiğinde, GSTM1 null genotipli ve sigara içen erkek hastalar, GSTM1 (+) genotipi olan sigara içmeyen kadın kontrollere göre 18,891 kat daha riskli durumda olduğu sonucuna varılmıştır (OR=18,891 %95CI=7,390-48,286 $p=0,00<0,05$)

Çalışma kapsamında elde ettiğimiz sonuçlar, Jeong ve arkadaşlarının (2003) yaptığı çalışmanın sonuçları ile korelasyon göstermektedir. Jeong ve ark. GSTT1 null genotipinin mesane kanseri riski ile ilgili bir ilişki bulamazken, GSTM1 null genotipini, mesane kanseri riski ile ilişkili olduğu yönünde sonuçlar bulmuşlardır (OR =4,8, 95% CI= 2,9–8,0) (Jeong ve diğ.,2003). Aynı şekilde Lee ve arkadaşları GSTM1 null genotipini mesane kanseri riski ile ilişkili bulurken (OR= 1,6, 95%CI= 1,0–2,4), GSTT1 null genotipinin istatistiksel olarak mesane kanseri ile ilişkisiz olduğu görülmüştür (OR= 1,3, 95%CI= 0,9–2,0) (Lee SJ. ve diğ.,2002).

Yapılan araştırmalarda ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda ve karsinogenlerin aktivasyon-deaktivasyonunda rol oynayan genlerde gerçekleşen hasarların etkisinin öneminin ne derece olduğu ve etnik kökenler arasında görülen farklılıkların nereden kaynaklandığı net olarak ortaya koyulamamıştır. Safarinejad ve arkadaşları (2011) mesane kanseri hastaları ile İran popülasyonunda yaptıkları bir araştırmada GSTM1 null ve GSTT1 null genotiplerinin mesane kanseri riski ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptayamamışlardır. Fakat mesane kanseri riskini, GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 genotipleri arasında anlamlı bir etkileşimin, etkileyebileceği yönünde sonuçlar elde etmişlerdir ($p=0,02$) (Safarinejad vd.,2011). Sobti ve arkadaşları (2005), yaptıkları araştırmada GSTM1 null genotipli bireylerde mesane kanseri gelişim riskinin arttığını ve eğer GSTM1 null genotipine GSTT1 null genotipi de eklenirse riskin 2 kat arttığı sonucuna ulaşmışlardır. Ayrıca sigara

içiminin mesane kanseri ile ilişkili olduğu görülmüş, sigara içiminin GSTM1 ve GSTT1 null genotipli bireylerde mesane tümörünün tekrar oluşumunda da etkili olduğu görülmüştür (Sobti ve diğ.,2005). Hung ve arkadaşları (2004), GSTM1 (OR=1,69) ve GSTT1 (OR=1,74) null genotipleri mesane kanseri risk artışı ile ilişkili bulunmuştur. Sigara tüketimi fazla olan ve aromatik aminlere fazla maruz kalan hastalarda GSTM1 null genotipinin mesane kanseri riski üzerindeki etkisininin daha belirgin olduğunu görmüşlerdir (OR=2,77, 95%CI=1,08–7,10). GSTM1 ve GSTT1 normal genotiplerine sahip bireyler ile, bu genlerden biri (OR=1,82, 95%CI=1,16–2,85) ya da ikisinin (OR=2.58, 95%CI=1,27–5,23) polimorfizmine sahip bireylerde mesane kanseri riskinin arttığı da çıkan sonuçlar arasındadır (Hung ve diğ.,2004)

GSTM1 ve GSTT1 polimorfizmlerinin mesane kanseri ile ilişkisinin araştırıldığı bu tez çalışmasında, hasta ve kontrol gruplarının genotip dağılımlarında önemli farklar olduğu belirlenmiştir. Özellikle GSTM1 null genotipinin mesane kanseri riski ile ilişkili olduğu saptanmış ve 1,5 kat mesane kanseri riskini arttırdığı görülmüştür (OR=1,574 %95CI=1,063-2,329 $X^2=5,162$, $p=0,023$). GSTT1 null genotipinde ise hasta ve kontroller arasındaki dağılımı homojendir ($P=0,335 > 0,05$). Bu analizlere ek olarak, hem GSTM1 null, hem de GSTT1 null özelliği taşıyanların, taşımayanlara göre riski değerlendirilmiş ve her iki lokusta da null genotipe sahip olmanın hastalık için 2,087 kat risk faktörü oluşturduğu görülmüştür (OR=2,087 %95CI=1,096-3,975 $P=0,024$ $X^2=5,105$).

GSTM1 ve GSTT1 gen polimorfizmlerinin istatistiki ve işlevsel analizleri, karsinojen metabolizmasının çözülmesine yardımcı olunması, dolayısıyla mesane karsinogenezinin daha iyi anlaşılmasını sağlayacaktır. Bu polimorfizmlerin çalışılması, bireysel olarak karsinojenlere maruz kalma ve farklı kanser türlerine bireysel yatkınlığın çözülmesinde faydalı olacaktır.

7. KAYNAKLAR

7.1. Makaleler

Agnantis NJ, Constantinidou A, Poullos C ve diğ. (1990). Immunohistochemical study of the ras oncogene expression in human bladder endoscopy specimens. *Eur J Surg Oncol.* 16(2): 153-160.

Aktas D, Ozen H, Atsu N, Tekin A, Sozen S, Tuncbilek E (2001). Glutathione S transferase M1 gene polymorphism in bladder cancer patients. *Cancer Genet Cytogenet.* 125: 1-4.

Altayli E, Gunes S, Yilmaz AF, Goktas S, Bek Y (2009). CYP1A2, CYP2D6, GSTM1, GSTP1, and GSTT1 gene polymorphisms in patients with bladder cancer in a Turkish population. *Int Urol Nephrol.* 41: 259-266.

Amorim LM, Rossini A, Mendoça GAS ve diğ. (2002). CYP1A1, GSTM1 and GSTT1 Polymorphisms and breast cancer risk in Brazilian women. *Cancer Letters.* 181: 179-186.

Antonio S. Salinas-Sánchez, Sánchez-Sánchez F, Donate-Moreno MJ, Rubio-del-Campo A, Gimenez-Bachs JM, Lorenzo-Romero JG, Serrano-Oviedo L and Escribano J (2010). Polymorphic deletions of the GSTT1 and GSTM1 genes and susceptibility to bladder cancer. *BJU International.* 107: 1825-1832.

Aşçı R, Yıldız L, Sarıkaya S, Buyukalpelli R, Yilmaz AF, Kandemir B (2001). p53 and bcl-2 overexpression as associated risk factors in patients 40 years old or less with transitional cell carcinoma of the bladder. *Urol Int.* 67: 34-40.

Autrup H (2000). Genetic polymorphisms in human xenobiotica metabolizing enzymes as susceptibility factors in toxic response. *Mutat Res.* 464(1): 65-76.

Cai L, Yu SZ, Zhang ZF (2001). Glutathione S-transferases M1, T1 genotypes and the risk of gastric cancer: a case-control study. *World J Gastroenterol.* 7(4): 506-509.

Cengiz M, Ozaydin A, Ozkilic AC, Dedekarginoglu G (2007). The investigation of GSTT1, GSTM1 and SOD polymorphism in bladder cancer patients. *Int Urol Nephrol.* 39: 1043–1048.

Chen C, Madeleine MM, Weiss NS, Daling RJ (1999). Glutathione S– transferase M1 genotypes and the risk of squamous carcinoma of the cervix: a population–based case–control study. *Am J Epidemiol.* 150: 568–72.

Chiou HY, Chiou ST, Hsu YH ve diğ. (2001). Incidence of transitional cell carcinoma and arsenic in drinking water: a follow-up study of 8,102 residents in an arsenic is endemic area in northeastern Taiwan. *Am J Epidemiol.* 153: 411-418.

Commandeur JNM, Stijntjes GR, Vermeulen NP (1995). Enzymes and transport systems involved in the formation and disposition of glutathione s-conjugates. *Pharmacol Rev.* 47: 271-330.

Coombs LM, Pigott DA, Sweeney E ve diğ. (1991). Amplification and overexpression of c-erbB-2 in transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *Br J Cancer.* 63(4): 601-608.

Cordon-Cardo C, Dalbagni G, Saez GI ve diğ. (1994). p53 mutations in human bladder cancer: Genotypic versus phenotypic patterns. *Int J Cancer.* 56(3): 347-353.

Cotton SC, Sharp L, Little J and Brockton N (2000). Glutathione S-transferase polymorphisms and colorectal cancer: a Huge Review. *Am J Epidemiol.* 151(1): 7-32.

Coughlin SS and Hall IJ (2002). Glutathione S-transferase polymorphisms and risk of ovarian cancer: a Huge Review. *Genet Med.* 4(4): 250-257.

Delclos GL and Lerner SP (2008). Occupational risk factors. *Scand J Urol Nephrol Suppl.* 58-63.

Divrik RT, Yildirim U, Zorlu F, Ozen H (2006). The effect of repeat transurethral resection on recurrence and progression rates in patients with T1 tumors of the bladder who received intravesical mitomycin: a prospective, randomized clinical trial. *J Urol.* 175: 1641-1644.

Ejarque MJ, Vicente M, Bernues M ve diğ. (1999). Restriction fragment length polymorphism of the L-myc gene is not a prognostic factor in bladder cancer patients. *Br J Cancer.* 79: 1855–1858.

Esrig DE, Elamjian D, Groshen S ve diğ. (1994). Accumulation of nuclear p53 and tumor progression in bladder cancer. *N Engl J Med.* 331(19): 1259-1264.

Fernandes RS and Cotter TG (1994). Apoptosis or necrosis: intracellular levels of glutathione influence mode of cell death. *Biochem Pharmacol.* 48: 675-681.

García-Closas M, Malats N, Silverman D, Dosemeci M, Kogevinas M, Hein DW, Tardón A, Serra C, Carrato A, García-Closas R, Lloreta J, Castaño-Vinyals G, Yeager M, Welch R, Chanock S, Chatterjee N, Wacholder S, Samanic C, Torà M, Fernández F, Real FX and Rothman N (2005). NAT2 slow acetylation and GSTM1 null genotypes increase bladder cancer risk: results from the Spanish Bladder Cancer Study and meta-analyses. *Lancet.* 20; 366(9486): 649–659.

Geisler SA and Olshan AF (2001). GSTM1, GSTT1 and the risk of squamous cell carcinoma of the head and neck: a Mini-Huge Review. *Am J Epidemiol.* 154(2): 95-105.

Goerlitz D, Daly ME, Abdel-Hamid M, Saleh DA, Goldman L, Kafrawy SE, Hifnawy T, Ezzat S, Abdel-Aziz MA, Zaghoul MS, Saber RA, Khaled H, Amr S, Zheng YL, Mikhail N and Loffredo C (2011). GSTM1, GSTT1 null variants and GPX1 single nucleotide polymorphism are not associated with bladder cancer risk in Egypt. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 20(7): 1552–1554.

Golijanin DJ, Kakiashvili D, Madeb RR, Messing EM, Lerner SP (2006). Chemoprevention of bladder cancer. *World J Urol.* 24: 445-472.

Ha YS, Yan C, Park C, Yun SJ, Moon SK, Choi YH, Kim WJ (2011). GSTT1: A marker of the aggressiveness of bladder cancer. *Urol Int.* 86: 41-46

Haliassos A, Liloglou M, Likourinas M, Doumas C, Ricci N, Spandidos DA (1992). H-ras oncogene mutations in the urine of patients with bladder tumors: description of a novel noninvasive method for the detection of neoplasia. *Int J Oncol.* 1: 731-734.

Hecht SS, (2003). Tobacco carcinogens, their biomarkers and tobacco induced cancer. *Nature.* 3: 733-744.

Hein DW, Doll MA, Fretland AJ, Leff MA, Webb SJ, Xiao GH, Devanaboyina US, Nangju NA, Feng Y (2000). Molecular genetics and epidemiology of the NAT1 and NAT2 acetylation polymorphisms. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 9: 29-42.

Herr HW (1999). The value of a second transurethral resection in evaluating patients with bladder tumors. *J Urol.* 162: 74-76.

Hirvonen A (1999). Polymorphisms of xenobiotic – metabolizing enzymes and susceptibility to cancer. *Environ Health Perspect.* 107: 37-47.

Horner MJ, Ries LA, Krapcho M ve diğ. (2009). Seer cancer statistics review. Bethesda, MD: National Cancer Institute. 1975-2006.

Houlston RS (1999). Glutathione s-transferase M1 status and lung cancer risk: a Meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 8(8): 675-685.

Hung RJ, Boffetta P, Brennan P, Malaveille C, Hautefeuille A, Donato F, Gelatti U, Spaliviero M, Placidi D, Carta A, Carlo AS and Porru S (2004). GST, NAT, SULT1A1, CYP1B1 Genetic polymorphisms, interactions with environmental

exposures and bladder cancer risk in a high risk population. *Int. J. Cancer.* 110: 598–604.

Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E (2010). Cancer statistics. *CA Cancer J Clin.* In Press.

Jeong HJ, Kim HJ, Seo IY, Kim HJ, Oh GJ, Chae SC, Lim JS, Chung HT, Kim JJ (2003). Association between glutathione S-transferase M1 and T1 polymorphisms and increased risk for bladder cancer in Korean smokers. *Cancer Letters.* 202: 193–199.

Jimenez RE, Hussain M, Bianco FJ Jr ve diğ. (2001). Her-2/neu overexpression in muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder: prognostic significance and comparative analysis in primary and metastatic tumors. *Clin Cancer Res.* 7: 2440–2447.

Karagasa MR, Park S, Warren A, Hamilton J, Nelson HH, Motta LA, Kelsey KT (2005). Gender, smoking, glutathione-S-transferase variants and bladder cancer incidence: a population-based study. *Cancer Letters.* 219: 63–69.

Kee KH, Lee MJ, Ro JY (2001). Oncoprotein changes in the flat lesions with atypia and invasive neoplasms of the urinary bladder. *Oncol Rep.* 8: 579–583.

Kim EJ, Jeong P, Quan C, Kim J, Bae SC, Yoon SJ, Kang JW, Lee SC, Jun WEJ, Kim WJ (2005). Genotypes of TNF-alpha, VEGF, HOGGI, GSTM1 and GSTT1: useful determinants for clinical outcome of bladder cancer. *Urology.* 65: 70–75.

Kim JW, Lee CG, Park YG, Kim KS, Kim IK, Sohn YW ve diğ. (2000). Combined analysis of germline polymorphisms of p53, GSTM1, GSTT1, CYP1A1, and CYP2E1. *Cancer.* 88: 2082–91.

Kimura J, Hayakari M, Kumano T, Nakano H, Satoh K, Tsuchida S (1998). Altered glutathione transferases levels in rat skin inflamed due to contact hypersensitivity: induction of the Alpha-class subunit. *Biochem. J.* 335: 605-610.

Knowles MA ve Williamson M (1993). Mutation of H-ras is infrequent in bladder cancer: confirmation by single-strand conformation polymorphism analysis, designed restriction fragment length polymorphisms and direct sequencing. *Cancer Res.* 53(1): 133-139.

Kotake T, Saiki S, Kinouchi T, Shiku H, Nakayama E (1990). Detection of the c-myc gene product in urinary bladder cancer. *Jpn J Cancer Res.* 81: 1198–1201.

Landi S (2000). Mammalian class theta GST and differential susceptibility to carcinogens: a Review, *Mutat Res.* 463(3): 247-283.

Lee SA, Kim JW, Roh JW, Choi JY, Lee KM, Yoo KY ve diğ. (2004). Genetic polymorphisms of GSTM1, p21, p53 and HPV infection with cervical cancer in Korean women. *Gynecol Oncol.* 93: 14–18.

Lee SJ, Cho SH, Park SK, Kim SW, Park MS, Choi HY, Choi JY, Lee SY, Im HJ, Kim JY, Yoon KJ, Choi H, Shin SG, Park TW, 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.

Leppert JT, Shvarts O, Kawaoka K, Lieberman R, Belldegrun AS, Pantuck AJ (2006). Prevention of bladder cancer: a review. *Eur Urol.* 49: 226-234.

Lieskovsky G. (1983). The staging and classification of bladder cancer and the management of superficial disease. In: Skinner G. (eds). *Urological Cancer*. Grune and Stratton, New York.

Lipponen PK (1995). Expression of c-myc protein is related to cell proliferation and expression of growth factor receptors in transitional cell bladder cancer. *J Pathol.* 175: 203–210.

Liska DJ (1998). The detoxification enzyme systems. *Altern Med Rev.* 3: 187–98.

Luis NM, Lopez-Knowles E, Real FX (2007). Molecular biology of bladder cancer. *Clin. Transl. Oncol*, 9: 5-12.

Mainwaring GW, Williams SM, Foster JR, Tugwood J, Green T (1996). The distribution of theta-class glutathione S-transferases in the liver and lung of mouse, rat and human. *Biochem. J.* 318: 297-303.

Malats N, Camus-Radon AM, Nyberg F, Ahrens W, Constantinescu V, Mukeria A, ve diğ. (2000). Lung cancer risk in nonsmokers and GSTM1 and GSTT1 genetic polymorphism. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 9: 827-33.

Mannervik B and Danielson UH (1988). Glutathione transferases: structure and catalytic activity. *CRC Crit Rev Biochem Mol Biol.* 23: 287-293.

Mannervik B, Alin P, Guthenberg C, Jensson H, Tahir MK, Jornvall H (1985). Identification of three classes of cytosolic glutathione transferase common to several mammalian: correlation between structural data and enzymatic properties. *Proc Natl Acad Sci USA.* 82: 7202-7206.

Meyer DJ, Coles B, Pemble SE, Gilmore KS, Fraser GM, Ketterer B (1991). Theta, a new class of glutathione transferase purified from rat and man. *Biochem. J.* 274: 409-414.

Michaud DS, Spiegelman D, Clinton SK ve diğ. (1999). Fluid intake and the risk of bladder cancer in men. *N Engl J Med.* 340: 1390-1397.

Miladi M, Peyromaure M, Zerbib M, Saighi D, Debre B (2003). The value of a second transurethral resection in evaluating patients with bladder tumours. *Eur Urol.* 43: 241- 245.

Miyao N, Tsai YC, Lerner SP, vd. (1993). Role of chromosome 9 in human bladder cancer. *Cancer Res.* 53(17): 4066-4070.

Moore LE, Wienckle JK, Bates MN, Zheng S, Rey OA, Smith AH (2004). Investigation of genetic polymorphism and smoking in a bladder cancer case control study in Argentina. *Cancer Letters* 10(211): 199–207.

Mostafa MH, Sheweita SA, O'Connor PJ (1999). Relationship between schistosomiasis and bladder cancer. *Clin Microbiol Rev.* 12: 97-111.

Mostofi FA, Sobin LH, Torloni M (1973). Histological typing of urinary bladder tumor, in international histological classification of tumor. No:10. Geneva, World Health Organization.

Nair UJ, Nair J, Mathew B and Bartsch H (1999). Glutathione S-transferase M1 and T1 null genotypes as risk factors for oral leukoplakia in Ethnic Indian Betel Quid/Tobacco chewers. *Carcinogenesis.* 20(5): 743-748.

Nilsson S and Ullen A (2008). Chemotherapy-induced bladder cancer. *Scand J Urol Nephrol Suppl.* 89-92.

Nortier JL, Martinez MC, Schmeiser HH ve diğ. (2000). Urothelial carcinoma associated with the use of a Chinese herb (Aristolochia fangchi). *N Engl J Med.* 342: 1686-1692.

Onaran I, Özaydın A, Gültepe M, Sultuybek G (1998). Transport of glutathione conjugate in erythrocytes from the aged subjects and susceptibility to oxidative stress following inhibition of the glutathione S-conjugate pump. *Mech Aging Develop.* 103(2): 195-207.

Orhan H ve Şahin G (1995). Glutatyon S–transferazların klinik ve toksikolojik önemi. *T Klin Tıp Bilimleri.* 15: 303–15.

Orlow I, Lianes P, Lacombe L ve diğ. (1994). Chromosome 9 allelic losses and microsatellite alterations in human bladder tumor. *Cancer Res.* 54(11): 2848-2851.

Öztürk T, Kahraman ÖT, Toptaş B, Kisakesen Hİ, Çakalir C, Verim L, Öztürk O, İsbir T. (2011). The effect of CYP1A1 and GSTM1 gene polymorphisms in bladder cancer development in a Turkish population. *In Vivo*. 25(4): 663-8.

Pemble S, Schroder KR, Spencer SR, Meyer DJ, Hallier E, Bolt HM, Ketterer B, Taylaor JB (1994). Human glutathione S-transferase theta (GSTT1): cDNA cloning and the characterization of a genetic polymorphism. *Biochem. J*. 300: 271-276.

Pınarbası H, Silig Y, Cetinkaya O ve diğ. (2003). Strong association between the GSTM1 null genotype and lung cancer in Turkish population. *Cancer Genetics and Cytogenetics*. 146: 125-129.

Picket CB (1989). Glutathionine S-Transferases: Gene structure, regulation and biological function. *Annu Rev Biochem*. 58: 743-764.

Presti JC Jr, Reuter VE, Galan T ve diğ. (1991). Molecular genetic alterations in superficial and locally advanced human bladder cancer. *Cancer Res*. 51(19): 5405-5409.

Przybojewska B, Jagiello A, Jalmuzna P (2000). H-RAS, K-RAS, and N-RAS gene activation in human bladder cancers. *Cancer Genet Cytogenet*. 121: 73-77.

Querhani S, Rouissi K, Marrakchi R, Riadh Ben Slama M, Sfaxi M, Ayed M, Chebil M, Elgaaied AB (2009). Do smoking and polymorphisms in xenobiotic metabolizing enzymes affect the histological stage and grade of bladder tumors. *Bull Cancer*. 96(5).

Raunio H and Pelkonen O (1995). Genetic factors in the activation and inactivation of chemical carcinogens. *Cancer Genetics*. 1: 229-58.

Rebbeck TR (1997). Molecular epidemiology of the human glutathione S-transferase genotypes GSTM1 and GSTT1 in cancer susceptibility. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 6: 733-43.

Reszka E, Wasowicz W, Gromadzinska J (2006). Genetic polymorphism of xenobiotic metabolising enzymes, diet and cancer susceptibility. *Br J Nutr.* 96: 609–19.

Richter J, Beffa L, Wagner U ve diğ. (1998). Patterns of chromosomal imbalances in advanced urinary bladder cancer detected by comparative genomic hybridization. *Am J Pathol.* 153: 1615–1621.

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. Res.* 48: 465-471.

Salagovic J, Kalina I, Stubna J, Habalova V, Hrivnak M, Valansky L, Konut A, Biros E (1998). Genetic polymorphism of glutathione S-transferases M1 and T1 as a risk factor in lung and bladder cancers. *Neoplasma.* 45: 312–317

Sandberg AA and Berger CS (1994). Review of chromosome studies in urologic tumors. II. Cytogenetic and molecular genetics of bladder cancer. *J Urol.* 151: 545–560.

Sanyal S, Festa F, Sakano S, Zhang Z, Steineck G, Norming U ve diğ. (2004). Polymorphisms in DNA repair and metabolic genes in bladder cancer. *Carcinogenesis.* 25(5): 729–734.

Sato K, Moriyama M, Mori S ve diğ. (1992). An immunohistologic evaluation of c-erbB-2 gene product in patients with urinary bladder carcinoma. *Cancer.* 70(10): 2493-2498.

Seidegard J and Ekström G (1997). The Role of human glutathione–S–transferases and epoxide hydrolases in the metabolism of xenobiotics. *Environ Health Perspect.* 105: 791–9.

Setiawan V, Zhang Z, Yu G ve diğ. (2000). GSTT1 and GSTM1 null genotypes and the risk of gastric cancer: A case-control study in a Chinese population. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*. 9: 73-80.

Shen M, Hung RJ, Brennan P, Malaveille C, Donato F, Placidi D, Carta A, Hautefeuille A, Boffetta P, Porru S (2003). Polymorphisms of the DNA repair genes XRCC1, XRCC3, XPD, interaction with environmental exposures, and bladder cancer risk in a case-control study in northern Italy. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*, 12: 1234-1240.

Shiina H, Igawa M, Urakami S, Honda S, Shirakawa H, Ishibe T. (1996). Immunohistochemical analysis of bcl-2 expression in transitional cell carcinoma of the bladder. *J Clin Pathol*. 49: 395–399.

Shokeir AA (2004). Squamous cell carcinoma of the bladder: pathology, diagnosis and treatment. *BJU Int*. 93: 216-220.

Sidransky D, Eschenbach AV, Tsai YC ve diğ. (1991). Identification of p53 gene mutations in bladder cancers and urine samples. *Science*. 252(5006): 706-709.

Silverman DT, Devesa SS, Moore LE, Rothman N (2006). Bladder cancer. In: Schottenfeld D, Fraumeni JF, eds. *Cancer, Epidemiology, and Prevention*. 3rd ed. Oxford: Oxford University Press; 1101-1127.

Silverman DT, Hartge P, Morrison AS ve diğ. (1992). Epidemiology of bladder cancer (Review). *Hematol Oncol Clin North Am*. 6(1): 1-30.

Singh H, Sachan R, Devi S, Pandey SN, Mittal B (2008). Association of GSTM1, GSTT1 and GSTM3 gene polymorphisms and susceptibility to cervical cancer in a North Indian population. *Am J Obstet Gynecol* 198: 303e1–e6.

Sobti RC, Kaur S, Kaur P, Singh J, Gupta I, Jain V, Nakahara A (2006). Interaction of passive smoking with GST (GSTM1, GSTT1, and GSTP1) genotypes in the risk of cervical cancer in India. *Cancer Gen Cyto*. 166: 117–23.

Sobtia RC, Al-Badrana AI, Sharmaa S, Sharmab SK, Krishanc A, Mohan H (2005). Genetic polymorphisms of CYP2D6, GSTM1, and GSTT1 genes and bladder cancer risk in North India. *Cancer Genetics and Cytogenetics*. 156: 68–73

Stücker I, Waziers I, Cenee S (1999). GSTM1, smoking and lung cancer: a case-control study. *International Journal of Epidemiology*. 28: 829-835.

Sundberg AGM, Nilson R, Appelkvist EL, Dallner G (1993). Immunohistochemical localization of α -class and π -class glutathione transferases in normal human tissues. *Pharmacol Toxicol*. 72: 321-331.

Tozkoparan B and Aytaç SP (2007). Kanser kemoterapisinde terapötik hedef olarak glutatyon S–transferazlar. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*. 27: 139–64.

Törüner G, Akyerli C, Uçar A ve diğ. (2001). Polymorphisms of glutathione S-transferase genes (GSTM1, GSTP1 and GSTT1) and bladder cancer susceptibility in Turkish population. *Arch Toxicol*. 75: 459-464.

Tsai YC, Nichols PW, Hiti AL, Williams Z, Skinner DG, Jones PA (1990). Allelic losses of chromosomes 9, 11, and 17 in human bladder cancer. *Cancer Res*. 50: 44–47.

Uedaa M, Hungb YC, Teraia Y, Saitoc J, Nunobikid O, Nodad S, Ueki M (2005). Glutathione–S–transferase and p53 polymorphisms in cervical carcinogenesis. *Gynecol Oncol*. 96: 736–40.

Van Der Aar EM, Bouwman T, Commandeur JNM, Ermeulen NPE (1996). Structure-activity relationships for chemical and glutathione S-transferase-catalysed glutathione conjugation reactions of a series of 2-substituted 1-chloro-4-nitrobenzenes. *Biochem J*. 320: 531-540.

Vineis P and Pirastu R (1997). Aromatic amines and cancer. *Cancer Causes Control*. 8: 346-355.

Waldman FM, Carroll PR, Kerschmann R ve diğ. (1991). Centromeric copy number of chromosome 7 is strongly correlated with tumor grade and labelling index in human bladder cancer. *Cancer Res*. 51(14): 3807-3813.

Wilce M, Board P, Feil S and Parker M (1995). Crystal structure of a theta-class glutathione transferases. *The EMBO Journal*. 14: 2133-2143.

Xu SJ, Wang YP, Roe B, Pearson WR (1998). Characterization of the human class mu glutathione s-transferase gene cluster and the GSTM1 deletion. *J Biol Chem*. 273(6): 3517-3527.

7.2. Kitaplar

Edward M (2005). *Üriner Traktın Ürotelyal Tümörleri*. Güneş Tıp Kitabevleri. Campbell Üroloji, 8. Baskı; 2732–2843.

7.3. İnternet

Cornell Urology, Bladder Cancer (2012).

<http://cornellurology.com/cornell/bladder/gi/cancer.shtml>

Goktas S ve Yıldırım I. 2009. Uroonkoloji.

<http://uroonkoloji.com/mesane-tumoru-mesane-kanser-itedavise-ceneklerine-lerdir-32.html>

e-Bladder Cancer (2012)

<http://ebladdercancer.com/defining-bladder-cancer/>

Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı (2000). The final report of national disease responsibility and the project of cost-effectiveness, Ankara.

<http://eng.tusak.saglik.gov.tr/pdf/nbd/raporlar/costeffectivenessENG.pdf>

8. ÖZGEÇMİŞ

Didem YÖZDEMİR, 1986 yılında İstanbul'da doğdu. 2005 yılında Silivri Hasan Sabriye Gümüş Anadolu Lisesinde'nden mezun olduktan sonra Muğla Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nde başladığı yüksek öğrenimini 2009 yılında tamamladı.

Aynı yıl Muğla Üniversitesi Moleküler Biyoloji Bölümü'nde başladığı yüksek lisans eğitimine, 2010 yılında yatay geçiş yaptığı Haliç Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik bölümünde devam etti.