

T.C
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

OVER KANSERİNDE GLUTATYON-S-TRANSFERAZ
İZOZİMLERİNİN EKSPRESYONLARININ İNCELENMESİ

Gizem ÖZER

OCAK 2019

Biyoloji Anabilim Dalında Gizem ÖZER tarafından hazırlanan “OVER KANSERİNDE GLUTATYON-S-TRANSFERAZ İZOZİMLERİNİN EKSPRESYONLARININ İNCELENMESİ ” adlı Yüksek Lisans Tezinin Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylıyorum.

Prof. Dr. İlhami TÜZÜN

Anabilim Dalı Başkanı

Bu tezi okuduğumu ve tezin **Yüksek Lisans Tezi** olarak bütün gereklilikleri yerine getirdiğini onaylıyorum.

Prof. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN

Danışman

Jüri Üyeleri:

Başkan : Prof. Dr. Nursel GÜL

Üye : Prof. Dr. Nazife YİĞİT KAYHAN

Üye (Danışman) : Prof. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN

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

Prof. Dr. Recep ÇALIN

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

OVER KANSERİNDE GLUTATYON-S-TRANSFERAZ İZOZİMLERİNİN EKSPRESYONLARININ İNCELENMESİ

ÖZER, Gizem

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN

Ocak 2019, 63 sayfa

Bu çalışmada, 99 hastadan alınan benign, malign over tümör dokularında ve metastaz dokularında Glutasyon-S-Transferaz izozimlerinden GSTM1, GSTP1 ve p53 ekspresyonlarının immünohistokimyasal bulguları değerlendirildi. GST ekspresyonu ve p53 arasındaki ilişki Mann Whitney-U testi ile ve klinik parametrelerle (yaş) ilişkisine Spearman Correlation Rank testi ile bakılmıştır. Over malign dokularında GSTP1 ve p53 ekspresyonları benign dokulara oranla daha fazla olduğu bulunmuştur. Over kanser hastalarında, GSTP1 ve p53 proteininin malign dokularda yüksek ekspresyonda olması over kanserinin ilerlemesinde ve gelişmesinde önemli olduğunu gösterir. p53 ekspresyonu ve metastaz hastaların yaşları arasında pozitif korelasyon görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Over Kanseri, Glutasyon-S-Transferaz, p53, İmmünohistokimya

ABSTRACT

INVESTIGATION OF GLUTATHIONE-S-TRANSFERASE ISOENZYMES EXPRESSIONS IN OVARIAN CANCER

ÖZER, Gizem

Kırıkkale University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology, M. Sc. Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN

January 2019, 63 pages

In this study the immunohistochemical staining characteristics of glutathione-S-transferase mu (GSTM1), pi (GSTP1), p53 in over benign, malign and metastatic tissue from 99 patients were investigated. Relationships between p53 and GST expressions in over cancer tissue were examined by the Mann Whitney-U test and the clinicopathological data (age) were examined by the spearman correlation rank test. GSTP1 and p53 expressions in over benign cells were significantly higher than those in over malign cells. In over cancer patients the higher expressions of GSTP1, and p53 proteins in metastatic over tissues could be important in over cancer progressions and development. There was a positive correlation between p53 expression and patient's age in metastatic group.

Key Words: Ovary carcinoma, Glutathione-S-Transferase, p53,
İmmunohistochemistry

TEŞEKKÜR

Tez alıőmamın bütn aőamalarında tecrbelerinden yararlandığım, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle bana yardımcı olan değerli hocam Prof. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN'e çalıőmamın deneysel kısmında doku kazanımı ve immünohistokimyasal boyama sonuçlarının değerlendirilmesinde bana yardımcı olan Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Uzmanı Sayın Uzm. Dr. Ayőegül ERDEM'e, Doç. Dr. Gülçin GÜLER ŐİMŐEK'e ve çalıőmamın detaylarında yardımını esirgemeyen Pınar KAYGIN'a teőekkürlerimi sunarım. Tezimin istatistiksel analizlerinde ve her türlü bilgi ve becerileri ile bana yardımcı olan Sayın Sezen SARIALTIN'a teőekkürlerimi sunarım. Daima yanımda olan ve beni her zaman destekleyen sevgili eőim Emin ÖZER'e ve çok değerli ailem babam Nihat BARMAKSIZ'a, annem Tamay BARMAKSIZ'a ve kardeőim Orhan BARMAKSIZ'a da teőekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iv
TEŞEKKÜR	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
1.1. Kanser.....	1
1.2. Over Kanseri.....	2
1.3. Over Kanseri Tanısı.....	3
1.3.1. Over kanser Biyolojisi	3
1.4. Over Kanseri İnsidansı ve Etiyolojisi.....	4
1.4.1.Over Kanser İnsidansı	4
1.4.2.Over Kanser Etiyolojisi.....	7
1.5. Over Tümörlelrinde Sınıflandırma	7
1.5.1.Seröz Over Tümörleri	10
1.5.1.1.Seröz Over Karsinomları	10
1.5.1.2.Seröz Borderline Tümör.....	10
1.5.1.3.Benign Seröz Tümör	11
1.5.2.Müsinöz Tümörler.....	11
1.5.2.1.Benign Müsinöz Tümör	12
1.5.2.2.Borderline Müsinöz Tümör.....	12
1.5.2.3.Müsinöz Karsinom	12
1.5.2.4. Over Tümörünün Evreleri	13
1.6. Over Tümör Tanısında Kullanılan Yöntemler	16
1.6.1. Pelvik Muayenesi	16
1.6.2. Tanısal Görüntüleme.....	16
1.6.3. Diğer testler.....	17
1.6.3.1. Laparoskopi.....	17

1.6.3.2. Kolonoskopi	17
1.6.3.3. Biyopsi	18
1.6.3.4. Kan Testleri	18
1.7. Toksik Maddelerin Metabolizması (Biyotransformasyon)	19
1.8. Glutasyon-S-Transferaz	19
1.9. Glutasyon-S-Transferazların Sınıflandırılması	21
1.9.1. Mü Sınıfı Glutasyon S-Transferazlar	21
1.9.2. Teta Sınıfı Glutasyon S-Transferazlar	22
1.9.3. Pi Sınıfı Glutasyon S-Transferazlar	22
1.9.4. p53'ün Yapısı ve Fonksiyonu	23
1.9.5. Glutasyon -S- Transferaz ve p53 ile Over Kanseri	24
1.9.6. Çalışmanın Amacı	26
2. MATERYAL VE YÖNTEM	27
2.1. Materyal	27
2.1.1. Materyal Temini ve Hazırlanışı	27
2.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	27
2.1.3. Kullanılan Cihazlar	28
2.2. Kullanılan Metot	29
2.2.1. İmmünohistokimya Yöntemi	29
2.3. İstatistiksel Analiz	31
3. ARAŞTIRMA BULGULARI	32
3.1. GST ve p53'ün Benign, Malign Over Tümör Dokularında ve Metastaz Dokularındaki Protein İfadelerinin Sonuçları	32
3.1.1. GSTM1 İzozimlerinin Benign, Malign Over Tümör Dokularında ve Metastaz Dokularındaki İfadesi	32
3.1.2. GSTP1 İzozimlerinin Benign, Malign Over Tümör Dokularında ve Metastaz Dokularındaki İfadesi	35
3.1.3. p53 İzozimlerinin Benign, Malign Over Tümör Dokularında ve Metastaz Dokularındaki İfadesi	37
4. TARTIŞMA VE SONUÇ	41
5. KAYNAKLAR	44

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>ÇİZELGE</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) bölgesi veya gelişmişlik düzeyine göre her iki cinsiyet için tahmini ve öngörülen tüm kanser vaka ve ölüm sayıları	5
1.2. Over Tümörünün TNM ve FIGO Klasifikasyonu.....	15
3.1. GSTM1 İzozimlerinin Benign, Malign Over Tümör ve Metastaz Dokularındaki İfadesi.....	33
3.2. GSTP1 İzozimlerinin Benign, Malign Over Tümör ve Metastaz Dokularındaki İfadesi.....	35
3.3. p53'ün Benign, Malign Over Tümör Dokularında ve Metastaz Dokularındaki İfadesi.....	37
3.4. Tümör ve Metastaz Grubundaki Hastaların Yaş Ortalaması	40

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>ŞEKİL</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. Kadınlarda En Sık Görülen Kanserlerin Toplam Sayısı ve Yüzde Dağılımları...6	
1.2. GST Enzimlerinin Katalizlediği Ksenobiyotik Metabolizması21	
3.1. Benign, Malign Over Tümör Dokularında İmmünohistokimyasal GSTM1 Proteini34	
3.2. Benign, Malign Over Tümör ve Metastaz Dokularında İmmünohistokimyasal GSTP1 Proteini36	
3.3. Malign Over Tümör ve Metastaz Dokularında İmmünohistokimyasal p53 Proteini38	
3.4. Metastaz ve Tümör Gruplarında GSTP1, GSTM1 ve p53'ün Birbirleriyle Karşılaştırılması39	
3.5. Malign, Benign ve Metastaz Grubundaki Hastaların Yaş Dağılımı39	

KISALTMALAR DİZİNİ

AJCC	: Amerikan Kanser Komitesi
AFP	: Alfafetoprotein
FIGO	: Uluslararası Kadın Hastalıkları ve Doğum Federasyonu
FDA	: Food and Drug Administration (Gıda ve İlaç İdaresi)
GST	: Glutasyon -S- Transferaz
GSH	: γ - Glutamil Sisteinil Glisin = Glutasyon
HCG	: Human Chorionic Gonadotropin
IHC	: İmmünohistokimya
IMBT	: İntestinal Müsinöz Borderline Tümör
LDH	: Laktatdehidrogenaz
MMBT	: Müllerian Müsinöz Borderline Tümör
p53	: Tümör Süpressör Geni
PAH	: Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar
TNM	: T: Primer tümör, N: Bölgesel lenf bezi, M: Uzak metastaz
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

1. GİRİŞ

1.1. Kanser

Kanser, bazı etkilerle değişikliğe uğramış hücrelerin, vücudun bir organ veya dokusunda kontrolsüz ve düzensiz bir şekilde çoğalması ile karakterize edilen bir hastalıktır [1]. Bu hastalık kendini göstermesi, gelişimi ve sonuçları açısından bir hastadan diğerine çok değişken olan karmaşık bir olgudur. Aynı heterojenlik ve çeşitlilik hücresel ve moleküler düzeyde de kendini gösterir. Kanser, hücrelerin aşırı ve zamansız çoğalmalarına, immün sistemin gözetiminden kaçmalarına ve sonuç olarak da uzaktaki dokuları da istila ederek metastazlar oluşturmalarına yol açan metabolik ve davranışsal değişiklikler geçirdikleri, çok basamaklı bir süreçtir [2].

Dünya Sağlık Örgütü raporuna göre; kanserler, dünya çapında yılda 7,6 milyon ölümden sorumludur [3]. Pek çok kanser hücresi kanser tipine bağlı olarak moleküler ve biyokimyasal özelliklere sahiptir. Bu özellikler, büyümeyi inhibe eden sinyallere duyarsızlık, apoptozisten kaçınması, büyüme sinyallerine karşı kendi kendine yetmesi, sınırsız kopyalanma potansiyeli, angiogenezin sürdürülmesi, doku invazyonu ve metastazı kapsamaktadır [4].

Hücreler bölünür, gelişir ve ölürlür. Bu olay genetik bir kontrol altındadır. Bu kontrolün, kalkması ile dengenin bozulması sonucu, ya çok sayıda oluşmaları ya da oluşan hücrelerin ölmemeleri sonucu çoğalan hücreler tümör dokusunu oluşturur. Hücrelerdeki bu olayların gelişmesine neden olan birçok kanser yapıcı (kanserojen) madde vardır [5]. Kanser aynı zamanda neoplazma olarak adlandırılan tümörleri oluşturan anormal hücrelerin kontrolsüz bir şekilde büyümesi olarak ta tanımlanmaktadır. İki çeşit tümör bulunmaktadır. Bunlar; vücutta yayılan yani metastaz özelliğine sahip malign (kötü huylu) tümörler ve vücutta yayılmayan benign (iyi huylu) tümörlerdir [6].

Kansere neden olan etmenleri sınıflandıracak olursak karsinojenler; fiziksel karsinojenler (güneş ışınları, UV, radyasyon vb.), kimyasal karsinojenler (polisiklik aromatik hidrokarbonlar, nitrozaminler, asbest, radon, alkol, sigara vb.) ve biyolojik karsinojenler (virüsler, hormonal bozukluklar, ailesel genetik yatkınlık, mutasyonlar, onkogenler vb.) üç ana grupta toplamak mümkündür. Bu etkilere maruziyet sonucu kanser; başlama (initiation), gelişme (promotion) ve ilerleme (progresyon) olmak üzere üç aşamada gerçekleşir [7].

Dünya genelinde farklı toplumlar farklı kanser türleriyle farklı oranlarda karşılaşılır ve bu oranlar zamanla değişim gösterir. Yaygın biçimde insanlarda görülen kanserlerin % 80'e varan bir oranının, hatta belki % 90'ının, beslenme, sosyal ve kültürel alışkanlıklar da dâhil olmak üzere yaşam tarzı boyutlarını da içerecek biçimde tanımlandığı çevresel etkenlerden kaynaklandığına inanılmaktadır. Küresel kanser yükü geçtiğimiz 30 yılda iki kattan fazla artmıştır. 2008'de 12 milyon yeni kanser vakasının teşhis edildiği, kanserden kaynaklanan 7 milyon ölümün gerçekleştiği ve kanserli 25 milyon kişinin halen hayatta olduğu tahmin edilmektedir.

Dünya nüfusunun devam eden artışı ve yaşlanması kanser yükü üzerinde de büyük değişikliklere yol açacaktır. 2030'a gelindiğinde 27 milyon kanser vakası, kanserden kaynaklanan yılda 17 milyon ölüm ve son beş yıl içinde kanser tanısı konmuş 75 milyon kişi rakamlarına ulaşacağı kestirilmektedir [8].

1.2. Over Kanseri

Over kanseri, ovaryumlarda başlayan ve genelde vücuda yayılan bir kanser türüdür [9]. Hayatta kalma oranı düşük olan ve hızlı yayılma gösteren heterojen bir hastalıktır ve jinekolojik kanser kaynaklı ölümlerin en önemli nedenidir [10].

Dünyada kadınlar arasında kanserle ilişkili ölümlerin beşinci önemli nedeni olarak gösterilir [11]. Over kanserinin geç evrelere kadar asemptomik olması ve hastalığın erken evrelerinde tanı koyulabilmesi için etkili bir tarama testinin henüz

bulunmaması nedeniyle hastalık tanısı erken evrelerde yapılamamaktadır. Bunun bir sonucu olarak da 5 yıllık sağ kalım oranı %45'i geçememektedir [12].

Ovaryum dokusu pek çok değişik hücreden oluşur. Bunlar ovaryumun iç kısmını örten ve oositleri üreten üreme (germ) hücreleri, östrojen ve progesteron hormonlarının büyük kısmını üreten stromal hücreler ve ovaryumun dış kısmını örten epitelyal hücrelerdir [13].

Over kanseri oluşumunda birçok etken rol oynarken genomda meydana gelen mutasyonlar ve epigenetik değişimler çok önemli bir yere sahiptir. Bu nedenle mutasyonlara ve epigenetik değişimlere yönelik çalışmalarla hastalığın erken tanısı, seyri, tedaviye yanıtı gibi özellikler hakkında bilgi sahibi olunabilir [14]. Türkiye'de, kadınlarda meme kanseri ve kolorektal kanserler daha sıklıkla izlenmektedir. Türkiye İstatistik Yıllığı 2015 verilerine göre, cinsiyete göre toplam kanser insidansı 2009 yılında; yüz bin nüfusta kadınlarda 173 iken, erkeklerde 270 dir [15].

1.3. Over Kanseri Tanısı

Over kanserinin tanısı spesifik olmayan semptomlar nedeniyle zor olabilmektedir [16]. En genel semptomları şişkinlik, pelvik ve abdominal ağrı, zor yeme ya da çabuk doyma, acil veya sık idrara çıkma isteğidir.

1.3.1. Over Kanseri Biyolojisi

Overler, pelviste uterusun her iki yanında birer tane bulunmaktadır. Şekil ve ölçü olarak iri bir badem görünümündedirler. 4 cm uzunlukta, 2 cm genişlikte ve 1 cm kalınlığındadırlar. Her biri uterusu fallop tüpleri ile bağlıdır. İşlevleri, over hücresinin olgunlaşip ovaryumlardan atılması (ovulasyon) ile üreme siklusunda görevli östrojen ve progesteron hormonlarını salgılamaktır. Her hücre tipinden farklı türde tümör gelişebilir. Bu tümörler epitelyal tümörler, germ hücreli tümörler (over hücresi ve folikülden köken alan) ve stromal tümörlerdir. Epitelyal tümörler over dış yüzeyini

örten epitel hücrelerden kökenlenir. Germ hücre tümörleri overden türevlenirler. Stromal tümörler ise over hücrelerini bir arada tutan, dişi hormonları, progesteron ve östrojen üreten yapısal hücrelerden oluşur. Bu tümörlerin çoğu iyi huylu tümörlerdir ve over dışına dağılmazlar. İyi huylu tümörler overin tamamının ya da tümör içeren bir kısmının alınmasıyla tedavi edilebilir. Kötü huylu olan tümörler ise metastaz yapabilir ya da ölümcül olabilir [12]. Nonspesifik bağ dokusu hücrelerinden köken alan tümörler ve başka bir organdan metastaz yolu ile gelen tümörlerdir [9].

1.4. Over Kanseri İnsidansı Ve Etiyolojisi

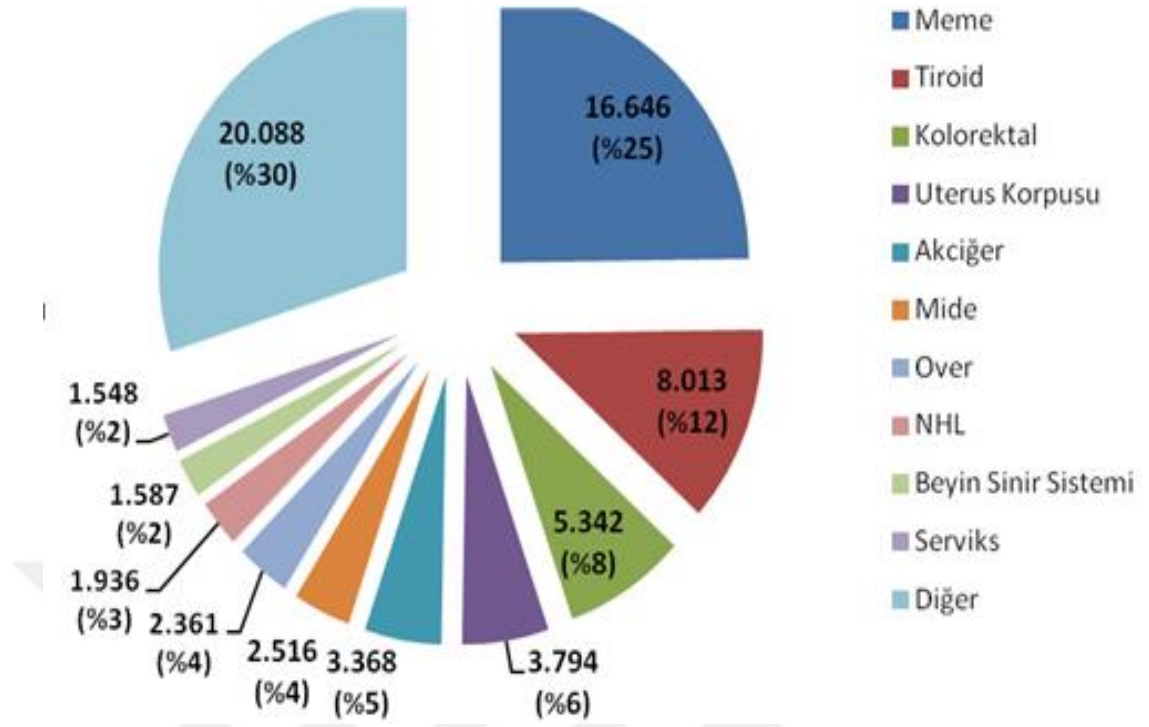
1.4.1. Over kanseri insidansı

Over kanseri, dünya genelindeki kadınlarda kanser nedeniyle gerçekleşen ölümlerin beşinci sebebidir ve belirli bir nüfusta belirli bir zaman dilimi içerisinde yeni olgularının sayısı (insidansı) gelişmiş ülkelerde daha yüksektir [Çizelge 1.1]. Over kanseri, Amerika Birleşik Devletleri (ABD) ve Batı Avrupa ülkelerinde en sık görülen ikinci jinekolojik kanserdir ve kötü huylu tümörlere bağlı ölümlerin en yaygın nedenidir [11, 17]. 2015’de Amerika Birleşik Devletleri’nde yapılan araştırmaya göre 21.290 over kanseri vakası olduğu tahmin edilmektedir ve yaklaşık 14.180 ölüm olduğu gösterilmiştir [18]. Ülkemizde, T.C. Sağlık Bakanlığının 2009’da yayınladığı sağlık istatistikleri verilerine göre, ovaryum kanseri Türk kadınlarında görülen kanserler içerisinde 7. sırada yer almaktadır (Şekil 1.1) [15].

Çizelge 1.1. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) bölgesi veya gelişmişlik düzeyine göre her iki cinsiyet için tahmini ve öngörülen tüm kanser vaka ve ölüm sayıları (milyon cinsinden) [8]

Bölge	2008		2030*		2030**	
	Vakalar	Ölümler	Vakalar	Ölümler	Vakalar	Ölümler
Dünya	12,4	7,6	20,0	12,9	26,4	17,0
Afrika	0,7	0,5	1,2	0,9	1,6	1,3
Avrupa	3,4	1,8	4,1	2,6	5,5	3,4
Doğu Akdeniz	0,5	0,3	0,9	0,6	1,2	0,9
Pan Amerika	2,6	1,3	4,8	2,3	6,4	3,1
Asya	1,6	1,1	2,8	1,9	3,7	2,6
Batı Pasifik	3,7	2,6	6,1	4,4	8,1	5,9

*: Şu andaki oranlarda bir değişme olmazsa; **: Yıllık % 1'lik oran artışı olursa



Şekil 1.1. Kadınlarda En Sık Görülen Kanserlerin Toplam Sayısı ve Yüzde Dağılımları [15]

Hastalık toplumda 50-60 yaşları arasında en yüksek oranda görülür ve 70’li yaşlara kadar yaşla birlikte görülme sıklığı da artmaktadır. Over kanseri, hastalığın geç evrelerine kadar semptomlarını göstermemesi nedeniyle “sessiz katil” (“silent killer”) olarak adlandırılmaktadır [19].

1.4.2.Over Kanseri Etiyolojisi

Over kanseri hiç doğum yapmamışlarda, Kuzey Amerika veya Kuzey Avrupa doğumlu olanlarda, daha önce meme, kolon ve endometriyum kanseri olanlarda ve ailesinde over kanseri olanlarda daha sık görülmektedir. Ailesinde hiç over kanseri olmayanlarda over kanseri riski yaşam boyu %1,4'dür. Birinci derece akrabaları over kanseri olanlarda risk %5'e, iki veya daha fazla akrabası hasta olanlarda risk %7 ye yükselmiştir [20].

1.5. Over Tümörlerinde Sınıflandırma

Over tümörleri Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2014 sınıflamasına göre; epitelyal tümörler, mezenkimal tümörler, mikst epitelyal/mezenkimal tümörler, sex kord-stromal tümörler, germ hücreli tümörler, miscellaneous tümörler, mezotelyal tümörler, yumuşak doku tümörleri, tümör benzeri lezyonlar, lenfoid ve miyeloid tümörler alt tiplerine ayrılmaktadır. Over tümörleri kadın genital sistemi tümörlerinin %30'unu oluşturmaktadır. Tüm over tümörlerinin %50'si epitelyal tümörler olup malign tümörlerin %90'ı, benign tümörlerin %40'ı epitelyal over tümörleridir [21]. Dünya Sağlık Örgütü'nün önerdiği son over tümör sınıflamasına göre [21];

- **Yüzey epitel - stromal tümörler**
 - **Seröz tümörler:**
 - Benign (kistadenom)
 - Borderline tümörler (seröz borderline tümör)
 - Malign (seröz adenokarsinom)
 - **Müsinöz tümörler, endoservikal-like and intestinal type:**
 - Benign (Kistadenom)
 - Borderline tümörler (Müsinöz borderline tümör)
 - Malign (Müsinöz adenokarsinom)
 - **Endometrioid tümörler:**
 - Benign (kistadenom)
 - Borderline tümörler (Endometrioid borderline tumor)
 - Malign (Endometrioid adenokarsinom)
 - **Berrak hücreli tümör:**
 - Benign
 - Borderline tümörler
 - Malign (Berrak hücreli adenokarsinom)
 - **Geçiş hücre tümörleri:**
 - Brenner tümörü
 - Borderline malign ve Brenner tümörü
 - Malign Brenner tümörü
 - Geçiş hücreli karsinom (Non-Brenner tip)
 - **Epitelyal-stromal:**
 - Adenosarkom
 - Karsinosarkom (Formerty Mikst Müllerian tümörleri)

- **Seks kord-stromal tümörler**
 - **Granüloza tümörleri:**
 - Fibromas
 - Fibrothecomas
 - Thecomas
 - **Sertoli hücre tümörleri:**
 - Leydig hücre tümörleri
 - **Seks kord tumor with annular tubules**
 - **Gynandroblastoma**
 - **Steroid (lipit) cell tumors**
- **Germ hücre tümörleri**
 - **Teratom:**
 - İmmatüre (olgunlaşmamış)
 - Matür (Olgun)
 - Solid (Kati)
 - Cystic (dermoid kist)
 - **Monodermal (e.g. struma ovarii, carcinoid)**
 - **Dysgerminoma**
 - **Yolk sac tumor (Endodermal sinüs tumor)**
 - **Mixed germ cell tumor**
- **Malignant, not otherwise specified**
 - **Metastatic cancer from nonovarian primary**
 - Colonic, appendiceal
 - Gastric
 - Breast

1.5.1. Seröz Over Tümörleri

Over tümörlerinin bu grubunda malign (düşük dereceli/ yüksek dereceli seröz karsinom), borderline (atipik proliferatif/mikropapiller/ noninvaziv düşük dereceli varyant), benign (seröz kistadenom/adenofibrom/yüzey papillomu) alt grupları yer almaktadır [21].

1.5.1.1.Seröz Over Karsinomları

Overin epitelyal karsinomlarının %75-80'ini seröz karsinomlar oluşturmaktadır [22]. Seröz karsinomlar morfolojik özellikleri ve son klinikopatolojik/moleküler gelişmeler eşliğinde yüksek ve düşük dereceli karsinomlar olarak ikiye ayrılmaktadır [23].

Çalışmalar göstermektedir ki, bu iki tümör tipinin moleküler temeli ve patogenezi farklıdır. Uzun yıllardır bu tümörlerin over yüzey epiteli ve inklüzyon kistlerinden kaynaklandığı savunulmaktadır. Son dönem çalışmalar göstermektedir ki, inklüzyon kistleri over yüzey epitelinden çok tubal epitel ile benzer özellikler sergilemektedir. Bu kistler tubal fimbrialardan kaynaklanan tubal hücrelerin over yüzeyine implantasyonu ile oluşmaktadır. Bu kistlerden sırasıyla seröz kistadenom/adenofibrom, atipikal proliferatif seröz tümör (seröz borderline tümör), non invaziv mikropapiller seröz karsinom ve invaziv düşük dereceli seröz karsinom gelişmektedir. Yüksek dereceli seröz over karsinomları için bu şekilde bir gelişim basamağı tanımlanmamıştır. Yüksek dereceli seröz over tümörlerin farklı bir mutasyon mekanizması ile *de novo* olarak geliştiği savunulmaktadır [24].

1.5.1.2. Seröz Borderline Tümör

Seröz boderline tümörler (SBT) düşük malign potansiyel seröz tümör olarak da adlandırılır. Tipik ve mikropapiller tip olarak iki grupta toplanırlar. Tipik olan

bunların %90'ını oluşturmaktadır. Seröz karsinoma göre 10-15 yıl erken yaşta görülür. Ortalama yaş 45'dir. %30-50 bilateralidir. Genellikle semptom vermezler [25].

1.5.1.3.Benign Seröz Tümörler

Bu grupta seröz kistadenom ve kistadenofibrom bulunmaktadır. Çoğu seröz kistadenom aslında gerçek bir tümör değildir. Dilate olmuş kistik hal almış inklüzyon kistidir. Tüm over epitel tümörlerin %16'sını oluştururlar. Genellikle 4. ve 6. dekadlar arasında görülür. Overin korteksinde bulunurlar. Sıklıkla bilateralidir. Karın ağrısı, vajinal kanama en sık görülen bulgulardır. Makroskopik olarak 1-10 cm arasındadırlar. Kistadenomlarda kistik ve solid komponent vardır. Adenofibromlar ise soliddir. Kistadenomlar psödostratifiye epitel ile döşelidir. Silyalı ve silyasız hücreler tuba uterina epitel hücrelerine benzemektedir. Epitelin bu lezyonlarda henüz proliferasyon yeteneği yoktur. Epitelde atipi yoktur veya çok az bir alanda görülmelidir. İmmünreaksiyonları over yüzey epiteli veya tubal epitel ile benzerdir [21].

1.5.2.Müsinöz Tümörler

Overin müsinöz tümörleri, epitel hücreleri intrasitoplazmik müsin içeren tümörlerdir. Bu epitel hücreleri endoservikal, gastrik pylorus veya intestinal tipte hücrelere benzerlik gösterebilirler. Non-müsinöz tümörlerin aksine epitel hücreleri arasında goblet hücreleri bulunur [26]. Benign müsinöz tümörler genellikle endoservikal (Müllerian tip) içerirken, borderline müsinöz tümörlerin %85'i, müsinöz karsinomların tamamı intestinal patern gösterirler [27]. Müsinöz tümörler tüm over tümörlerinin % 25'ini, tüm over kanserlerinin yaklaşık %10'unu oluşturur [28]. Epitelyal over tümörleri içinde ikinci sıklıkta görülür. Müsinöz kistadenom müsinöz tümörler içerisinde en fazla görülendir. Müsinöz tümörlerin % 75-85'i benign, % 10-

15'i borderline, % 5-10'u malign formda görülmektedir. % 10–20 vaka bilateraldir [29].

1.5.2.1.Benign Müsinöz Tümör

Makroskopik olarak 50 cm boyutlara kadar ulaşabilen dış yüzü düzgün kistik tümörlerdir. Unilateral ve multiloküle görünümündedir. İçeriğinde sulu veya koyu yapışkan mukoid materyal bulunur. Fibröz stroma ender olup torsiyona bağlı hemoraji ve nekroz görülebilir. Mikroskopik olarak benign müsinöz tümörler kistadenomlar, kistadenofibromlar ve adenofibromlar olarak ayrılırlar. Epitel tek katlı kolumnar yapıda, nüvesi bazale yerleşmiş olan, intrasellüler nötral asidik ve nötral müsin içeren hücrelerden oluşmuştur. Epitel hücreleri arasında goblet, argirofil ve argentaffin hücreler bulunur. Stromada müsin karşı yabancı cisim reaksiyonu görülebilir [26, 27].

1.5.2.2.Borderline Müsinöz Tümör

1988 yılında Rutgers Scully tarafından Müllerian müsinöz borderline tümörlerin tanımlanmasından sonra overin borderline müsinöz tümörleri intestinal müsinöz borderline tümör (IMBT) ve endoservikal ya da Müllerian müsinöz borderline tümör (MMBT) ikiye ayrılmıştır [27].

1.5.2.3.Müsinöz Karsinom

Overin malign epitelyal tümörlerindedir. Barsakta görülen müsin sekrete eden adenokarsinomlara benzerler. Borderline müsinöz tümörlerden stromal invazyonun bulunması ile ayrılırlar. Makroskopik olarak 15-30 cm boyutlarında unilateral, düzgün yüzeyli, multilokule ya da unilokule, mukoid materyal içeren kistik kitlelerdir. Solid alanlar ve lüminal nodüller içerebilirler. Hemoraji ve nekroz

görülebilmektedir. Mikroskopik olarak stroması over stromasına benzeyebilir veya desmoplastik olup infiltrasyon genellikle görülmez. Belirgin stromal invazyon saptanmadığı kompleks papiller yapılar, arada stromanın az miktarda olduğu veya hiç olmadığı malign epitelyal hücrelerle döşeli sırt sırta vermiş glanduler yapılar ve bu yapıların en az 10 mm² alanda ve boyutlarından en az ikisinin en az 3 mm uzunlukta olması invazyon olarak değerlendirilir.

Metastatik müsinöz karsinomların orjini genellikle kolon, appendiks, pankreas, safra yolu, mide veya servikstir. Primer müsinöz over tümörleri genellikle düzgün yüzeyli, tek taraflı büyük çaplara ulaşabilen ekspansil büyüme paterni gösteren kompleks papiller yapılar oluşturan bir tümördür. Metastatik müsinöz tümörlerde genellikle bir primer müsinöz tümör öyküsü mevcuttur [26, 27].

1.5.2.4. Over Tümörünün Evreleri

Over kanseri evrelemede FIGO (International Federation of Gynecology and Obstetrics)'nun 1988'de önerdiği, 2006 ve 2014'de revize edilen evrelendirme sistemi kullanılmaktadır. FIGO sınıflaması, temelde I, II, III ve IV olmak üzere dört evreden oluşmaktadır. İlk üç evrenin A, B ve C tipleri de mevcuttur [30]. Tip I over kanseri, iyi ayırt edilebilen seröz, müsinöz, kötü huylu Brenner, berrak hücre ve endometrioid tümörlerini içermektedir. Tip I over kanseri yavaş ilerleme (progresyon) göstermektedir. Bu ilk tip kanserin oluşumu, mikrosatellit instabilitesi ve KRAS (V-K1- Ras2 Kirsten Rat Sarcoma Viral Oncogene Homolog), BRAF (V-Raf Murine Sarcoma Viral Oncogene Homolog), β -catenin, ve PTEN (Phosphatase and Tensin Homolog) de mutasyonlar içermektedir. Tip II over kanseri, erken evredeki hastalığın tespit edilebilmesi imkanını azaltan, erken metastaza sahip, kısmi ya da zayıf farklılaşma göstermiş olan seröz karsinomaları, farklılaşmamış karsinomaları, karsinomaları ve karışık mezodarmal kötü huylu tümörleri içerir. Bu ikinci grup patojenite sıklıkla p53 tümör supresör geninde mutasyonlar içermektedir [19]. Tip III over kanseri bir ya da iki overden kaynaklandığı hücresel ve histolojik

olarak doğrulanmış metastaz yapan tiptir. Tip IV over kanseri peritonal hariç diğer kanserlerden metastaz ile oluşmuş tiptir [31].

Over tümörleri raporlanırken Amerikan Kanser Komitesi (AJCC) tarafından da kullanılan FIGO evreleme sistemi kullanılarak evrenmektedir. FIGO evreleme sistemi overyan kanserin prognozunu belirlemede en önemli göstergedir [32]. Yapılan pek çok çalışmada evre, over kanserlerinde en önemli prognostik faktör olarak gösterilmiş, evre arttıkça toplam yaşam süresi ve hastaliksız sağ kalım süreleri azalmıştır. Diğer olası prognostik faktörler evre ile karşılaştırıldığında çok az öneme sahiptir [33]. Tümör evrelemesi cerrahi ve patolojik olarak yapılmaktadır. Tümörün çevre dokulara yapışık olması cerrahi ve patolojik evrenin gerçekçi olmamasına neden olabilir. En sık evre 3 ve evre 3c görülür. Evre 4 uzak metastazı ifade etmektedir. Akciğer ve plevra tutulumu ve solunum yetmezliği bu evrede en sık ölüm nedenidir [Çizelge 1.2]. AJCC 7. Baskısında yer alan FIGO evreleri gösterilmiştir.

Çizelge 1.2. Over Tümörünün TNM ve FIGO klasifikasyonu [32]

TNM Kategoriler-FIGO Evreleri
Tx: Primer tümör değerlendirilemedi
T0: Primer tümör kanıtı yok
pT1- I (evre 1) : Tümör overlere sınırlı - pT1a- IA: Tümör bir overe sınırlı; kapsül intakt. Over dış yüzeyinde tümör yok ve asit veya peritoneal yıkamada malign hücre yok pT1b IB: Tümör her iki overe sınırlı; kapsül intakt. Over dış yüzeyinde tümör yok ve asit veya peritoneal yıkamada malign hücre yok - pT1c IC : Tümör bir veya her iki overe sınırlı, overin yüzeyinde tümör var, veya kapsül rüptüre, malign hücreler içeren asit veya pozitif peritoneal yıkama var
pT2 II (evre2) : Tümör bir veya her iki overi de tutmuş, ancak pelvik yayılım var - pT2a IIA : Uterus ve/veya tüplere yayım ve/veya implant; asit veya peritoneal yıkamada malign hücre yok - pT2b IIB : Diğer pelvik dokulara yayım; asit veya peritoneal yıkamada malign hücre yok - pT2c IIC : Tümör evre IIA veya IIB, asit veya peritoneal yıkamada malign hücreler var
pT3 ve/veya N1 III (evre 3): Tümör bir veya her iki overi de tutmuş, histolojik olarak doğrulanmış pelvis dışında peritoneal metastaz ve/veya bölgesel lenf nodu metastazı
- pT3a IIIA: Pelvis dışına mikroskopik peritoneal metastaz
- pT3b IIIB : En büyük boyutu 2 cm veya daha az olan pelvis dışına makroskopik peritoneal metastaz
- pT3c ve/veya N1 IIIC : En büyük boyutu 2 cm'den daha fazla pelvis dışına peritoneal metastaz ve/veya bölgesel lenf nodu metastazı M1
- pT4/ herhangi bir T ve M1: Peritoneal metastaz dışında uzak metastaz (klinik bilgiler eşliğinde)

1.6. Over Tümörünün Tanısında Kullanılan Yöntemler

1.6.1. Pelvik Muayenesi

Son zamanlarda, pelvik muayenesi, transvajinal ultrasonografi ve CA-125 seviyesi over kanserinin tanısı için kullanılan standart yöntemlerdir. Fakat pelvik muayenesi erken tanı veya premalignant lezyonların normal overlerden ayırımının yapılmasında etkili bir yöntem değildir [34]. Bir pelvik kitlenin yalnızca pelvik muayene ile tanınmasının hassaslığı %40 ve özgüllüğü %90 olarak gösterilmiştir. Bu nedenle semptomlara ve pelvik muayeneye dayanarak over kanseri şüphesi duyulursa ileri testlere gidilir [35, 36].

1.6.2. Tanısal Görüntüleme

Ultrason (ultrasonografi) ses dalgaları kullanılarak video ekranında görüntü elde edilmesidir. Detaylı görüntü elde edildiği için transvajinal ultrasonografi, over taramasında tercih edilen ilk tanı modelidir. Overde hacimce büyüme ve morfolojik anomalilerin tespitinde kullanılır. Endometriyozis ve fonksiyonel kistler gibi iyi huylu lezyonların insidansının postmenapozal kadınlarda az olması ve seri olarak yapılan görüntülemelerde tespit edilen belirli anomalilerin olması; ultrason ile yapılan testlerin yanlış pozitif sonuç oranını azaltır. Kabarcıklı görünüm yüksek oranda over kanseri ile özdeşleştirilirken, basit kistler ve septal kalınlaşmalar over kanseri ile çok az ilişkilidir [37, 38]. Ancak over kanseri tanısının kesin bir şekilde koyulabilmesi için transvajinal ultrasonografinin duyarlılığı ve özgüllüğü yeterli değildir [39]. Bu görüntüleme tekniğinin yanlış pozitif sonuçlarını engelleme amacıyla 3D-ultrason, 3D-Doppler ve renkli Doppler olmak gibi ileri testler üretilmiştir. Böylece kötü huylu ve iyi huylu over lezyonları arasındaki ayırım yapılabilir [40, 41]. CT (Computed Tomography) taraması vücudu kesitler halinde detaylı olarak görüntüleyen x-ray prosedürüdür. X-ray'den farklı olarak tek bir görüntü yerine birden fazla görüntü alıp o görüntüleri birleştirir. CT ile küçük over tümörleri tespit edilemez. Büyük tümörleri, kanserin karaciğere ya da diğer organlara

yayıldığını gösteren genişlemiş lenf nodülleri CT ile bulunabilir [42]. Over kanserinin tanısında kullanılan diğer görüntüleme yöntemleri baryum enema Xray, magnetik rezonans görüntüleme (MRI), göğüs X-ray, pozitron emisyon tomografi (PET)dir. Overlerde bulunun lezyonları tespit etmenin yanısıra dağılmış over kanseri tanısının yapılmasında da kullanılabilir [12].

1.6.3. Diğer testler

1.6.3.1. Laparoskopi

İnce ışıklı bir tüp yardımıyla overlere, pelvik organlarına ve bu alandaki diğer dokulara bakılarak bu dokuların analizinin yapıldığı bir yöntemdir. Abdomende açılan küçük bir kesikten abdomenin alt kısmına tüp yerleştirilir ve pelvis veya abdomenin görüntüleri monitöre gönderilir. Organ görüntülerinin elde edilmesiyle operasyonun veya diğer tedavi yöntemlerinin planlanması yapılabilir ayrıca kanserin hangi evrede olduğu belirlenebilir. Bunlara ek olarak laparoskopik kesiklerden küçük cihazlar yardımıyla biyopsi yapılabilir [42].

1.6.3.2. Kolonoskopi

Bir kolonoskop ile (uzun, esnek, ucunda ışık ve kamera bulunan tüp) rektumdan kolona girilerek yapılan analiz yöntemidir. Monitöre gelen görüntülere göre biyopsi yapılabilecek herhangi bir anormal bölge tespit edilir. Bu yöntemin over kanserinde kullanımı ise konstipasyon (kabızlık) gibi olası over kanseri semptomlarını araştırmak ve over kanseri kökenli yayılmaları analiz etmektir [42].

1.6.3.3. Biyopsi

Büyüyen bir kitlenin kanser olup olmadığını belirlemenin en kesin yolu şüpheli bölgeden örnek alıp incelemektir ve bu yöntem biyopsi olarak tanımlanır. Over kanserinde biyopsi çoğunlukla tümörün çıkarılmasıyla yapılır. Nadir olarak da laparoskopi sırasında ya da abdomen derisinden direkt tümöre giden bir iğne ile şüpheli kitleden örnek alınır. İğne kullanılıyorsa genelde ultrason ve CT tarama yardımıyla kontrollü olarak gerçekleştirilir. Bu yöntem yalnızca ileri düzeyde kanser veya başka önemli sağlık durumu nedeniyle operasyon geçiremeyen hastalarda kullanılır çünkü biyopsi ile kanserin yayılma olasılığı göz önünde bulundurulur. İğneyi yönlendirmek için ultrason kullanılır. Alınan örnek laboratuvarında kanser hücresi içermesi bakımından incelenir [42].

1.6.3.4. Kan testleri

Over kanseri şüphesiyle yapılan kan testlerinde yüksek CA-125 seviyesi büyük oranda kanserli dokulardan kaynaklandığı bulunmuştur. İleri over kanseri hastalarının %80'den fazlasında, erken evre kanserlerinin ise %50'sinde CA-125 seviyesinin yükseldiği gösterilmiştir. "National Cancer Institute" genel popülasyonda yüksek risk taşımayan kadınlara CA-125 testini uygulamayı uygun bulmamıştır çünkü CA-125 erken evre kanserlerinin yarısını tespit edemez ve tümörün iyi huylu olması durumunda da anlatımı artabilir. Diğer yandan, tedavinin etkisini görüntülemek ve tedavi sonrası nüks edenleri tespit etmek için CA-125 seviyesinin belirlenmesi "Food and Drug Administration (FDA)" tarafından onaylanmıştır. Bazı üreme hücre kanserleri "human chorionic gonadotropin (HCG)", "alphafetoprotein (AFP)", laktat dehidrogenaz (LDH) tümör belirteçlerinin kanda seviyelerinin artmasına neden olur. Over kanserinden şüpheleniliyorsa bu belirteçler kanda analiz edilebilir. Bazı over stromal tümörler kanda östrojen ve testosteron gibi inhibin ve hormonların kandaki seviyelerinin artmasına neden olur [42].

1.7. Toksik Maddelerin Metabolizması (Biyotransformasyon)

Çeşitli yollarla organizmaya giren lipofilik kimyasal maddeler (kemoterapötik ilaçlar, çevresel karsinojenler ve endojen moleküller v.b.) enzimlerin katalitik etkisi ile kimyasal reaksiyona girerler ve böylece daha polar ve suda çözünebilen bileşiklere dönüştürülürler. Bu biyolojik reaksiyon sonucu oluşan ürünler safra ve böbreklerden daha kolay atılırlar. İşte bir ksenobiyotiğin canlı organizmada uğradığı bu kimyasal değişimlerin tümüne biyotransformasyon denir. Biyotransformasyon reaksiyon sonucu bileşiğin toksikolojik ve farmakolojik olarak etkisini kısmen veya tamamen kaybettiği düşünülmesine rağmen bazı durumlarda oluşan ürünler kendisinden daha toksik etki gösterebilir veya daha aktif olabilir. Bu reaktif ara ürünlerin oluşmasına “toksikasyon” veya “biyoaktivasyon”, ksenobiyotiğin ve metabolitlerin biyotransformasyon sonucu toksisitesi azalıyor veya ortadan kalkıyorsa bu olaya “detoksifikasyon” denir [43, 44].

Ksenobiyotiklerin metabolizması iki fazlı bir işlemdir: Faz I reaksiyon daha çok karaciğerde, mikrozomal enzim sistemi tarafından yürütülür. Sınırlı olmakla birlikte; akciğer, böbrek, bağırsak, deri, testis, placentada, adrenal bezde de faz I reaksiyonu gerçekleşebilir. Faz I reaksiyonu ile lipitde çözünen ksenobiyotikler daha polar hale geçerler [45, 46].

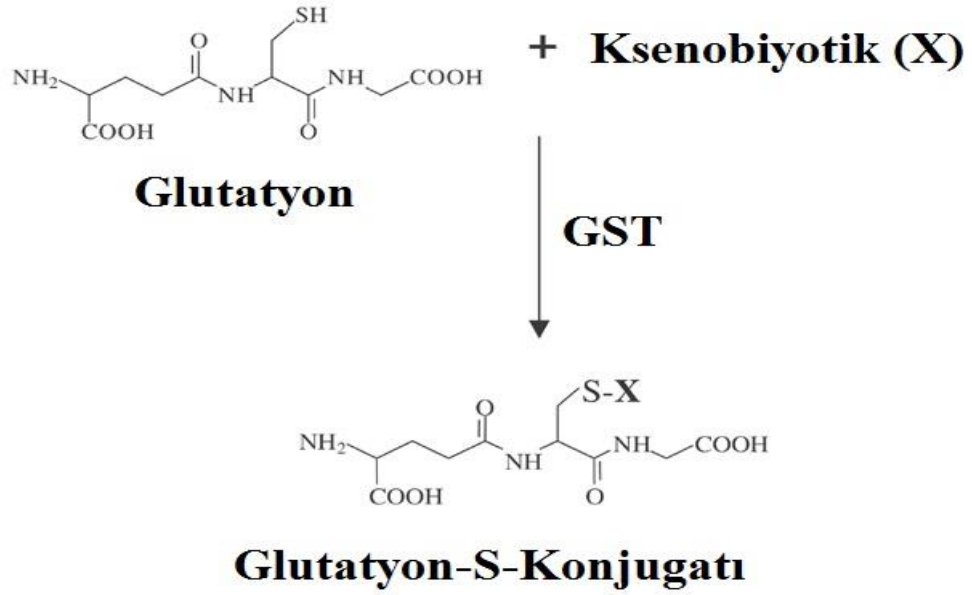
Faz II reaksiyonları birçok sitozolik enzim tarafından yürütülen konjugasyon reaksiyonlarıdır. Detoksifikasyon olarak kabul edilen, konjugasyon reaksiyonları ile endojen maddelerle birleşen polar metabolitler inaktif şekilde eliminasyona uğrarlar [44, 47].

1.8. Glutatyon-S-Transferaz

Glutatyon; hücrenin radyasyon, oksijen radikalleri, endojen toksinler ve ksenobiyotiklerin zararlı etkilerinden korunmasında önemli rol oynar. Tüm memeli

hücrelerinde bulunan Glutasyon bir disülfid grubuna sahiptir ve bu serbest disülfid grubu aracılığı ile oksidan molekülleri indirgeyerek, protein, lipid ve DNA'yı oksidasyondan korur [48]. Glutasyon ile Faz I enzimlerince oluşturulan reaktif türler konjugasyona girer ve sonuçta hücre makromolekülleri (DNA, RNA, protein) ile bağlanması engellenerek hücre hasarı önlemiş olur [49]. GSH Peroksidaz tarafından katalizlenen bu reaksiyonla UV ve çeşitli kimyasallar aracılığı ile oluşan hidroperoksitler indirgenirken, glutasyon oksitlenir (GSSG). GSH'ın fonksiyonunun sürekliliği okside glutasyonun rejenerasyonuna bağlıdır. GSSG, GSH- Redüktaz tarafından katalizlenen ve kofakör olarak nikotinamid adenin dinükleotid fosfatın (NADPH) kullanıldığı reaksiyonla indirgenerek yeniden aktif hale geçer [50]. Glutasyon genelde GSH olarak kısaltılır; SH, sistenin sülfidril grubuna işaret eder ve molekülün alışveriş yapan kısmıdır. Glutasyon ile ksenobiyotiklerin reaksiyonlarını katalizleyen enzimlere "Glutasyon-S-Transferazlar", kısaca "GST" denir [51].

GST; kemoterapik ajanların, reaktif oksijen moleküllerinin ve çevresel karsinojenleri içeren ksenobiyotiklerin metabolizmasından sorumlu Faz II detoksifikasyon enzim ailesidir. GST, çeşitli elektrofilik bileşikler ile glutasyon arasındaki reaksiyonları katalizler [Şekil 1.2]. GST aktif metabolitlerin glutasyon ile konjugasyonunu gerçekleştirerek DNA'yı alkilasyondan korur. Glutasyon-s-transferazlar elektrofilik ksenobiyotikleri inaktive ederek vücuttan atılmak üzere konjugasyonunu sağlayan dimerik enzimlerdir. Glutasyon nükleofilik sülfidril grubu ile bileşiklere bağlanarak organizmayı reaktif kimyasal bileşiklere karşı korur [52]. Çoğu dokularda mevcut olan tripeptid yapısındaki glutasyon ksenobiyotiklere bağlandıktan sonra daha ileri bir biyotransformasyonla karaciğer ve böbreklerde bulunan mikrozomal γ -glutamiltranspeptidaz ve sisteinilglisinaz enzimleri yardımı ile peptid bağları açılır. Peptid (amid) bağlarının hidrolizi sonucu sadece sistein kalır, sistenin mikrozomal asetilasyonu ile merkaptürik asit konjugatı oluşur [53].



Şekil 1.2. GST enzimlerinin katalizlediği ksenobiyotik metabolizması [51]

1.9. Glutatyon-S-Transferazların Sınıflandırılması

GST enzimleri birçok alt sınıflara ayrılmıştır. Her bir sınıf birçok gen ve enzimden oluşur. GST enzimlerinin büyük bir kısmı hücrenin sitoplazmasında çözünmüş olarak bulunur [54]. Bir kısmı ise endoplazmik retikulum (mikrozomal) lokalize olmuştur. Sitozolik GST aktivitesinin mikrozomal aktiviteye göre 5 ile 40 kat daha fazla olduğu saptanmıştır [44]. Yapılan sınıflandırmaya göre GST'ler mü (GST μ , GSTM), alfa (GST α , GSTA), pi (GST π , GSTP), teta (GST θ , GSTT), kappa (GST κ , GSTK), zeta (GSTZ), sigma (GST σ , GSTS) ve omega (GST ω , GSTO) olmak üzere sekiz sınıfa ayrılmıştır [54].

1.9.1. Mü Sınıfı Glutatyon-S-Transferazlar

GSTM gen ailesi, 1981'de Board tarafından karaciğer ve eritrositlerden tanımlanmıştır [55]. GSTM gen ailesi, 1. kromozom (1p13.3) üzerinde 20 kb

uzunluğunda ve 5 tane gen bölgesinden meydana gelmektedir. GSTM gen ailesi, 5'-GSTM4-GSTM2-GSTM1-GSTM5-GSTM3-3' şeklinde oluşturulmuştur [56]. GSTM1 izoenzimleri baskın olarak karaciğerde, az miktarda ise akciğerde eksprese edilir; GSTM3 akciğer dokusundaki önemli bir izoenzimdir [57]. Ekspresyonları dokular arasında değişim gösterir. En yaygın eksprese edilen GSTM1'dir ve kemik, kalp, beyin, böbrek, over, akciğer, paratiroid ve uterus gibi organlarda bulunur. GSTM2 daha çok iskelet kasında, GSTM3 ise kaslara ilave olarak akciğer, beyin ve testiste bulunur. GSTM4 insan lenfoblastoid hücrelerinde, GSTM5 ise beyinde eksprese edilir [58, 59].

1.9.2. Teta Sınıfı Glutatyon- S-Transferazlar

GSTT gen ailesi Meyer ve ark. tarafından 1991'de insan ve fare karaciğerinden tanımlanmıştır [60]. GSTT sınıf genleri 22. (22q11) kromozomdadır. İnsanlarda GSTT1 ve GSTT2 olmak üzere iki sınıfı bulunmaktadır. GSTT1 239 aminoasitten oluşan bir homodimerdir. GSTT1 başta karaciğer ve böbrek olmak üzere incebağırsak, beyin, prostat dokularının önemli izoenzimleridir. GSTT2'nin GSH peroksidasyonu ve elektrofil detoksifikasyon reaksiyonlarına dahil olduğu düşünülmektedir. GSH'nin elektrofillerle konjugasyonunu katalizlemeye ek olarak, GSTT1 fosfolipid hidroperoksitler gibi bir dizi organik peroksite karşı peroksidaz aktivitesi gösterir. GSTT2 dizi bakımından GSTT1'e benzer ve organik hidroperoksitlere affinitesi vardır ancak bu konu çok ayrıntılı olarak araştırılmamıştır [57, 61, 62]. GSTT; beyin, kolon, kalp böbrek, overler, paratiroid, prostat, tonsil, testis, uterus gibi organlarda ekspresyonu tespit edilmiştir [63].

1.9.3. Pi Sınıfı Glutatyon- S-Transferazlar

Kromozom 11q 13'te haritalanmış olan GST P1 geni, GST P1-1 izoenzimini kodlar [64]. Akciğer, özafagus, böbrek ve plasenta gibi birçok organda eksprese edilir [65, 66]. Yapılan kapsamlı çalışmalarda GST P1 enzim miktarının, sigara kullanımı ve

maligniteyle ilişkili olduğu ifade edilmiştir. GST P1-1 enzimi preneoplazik ve neoplastik lezyonlarda ekspres edilir. GST P1-1 enziminin; mide, mesane, ağız, farinks, larenks, akciğer, deri ve meme tümörlerinde, normal dokuyla karşılaştırıldığında yükseldiği görülmüştür. GSTP1-1 enzimleri birçok farklı kanserde uygulanan kemoterapi ve radyoterapiye dirençlilik gösterir [67].

1.9.4. p53'ün Yapısı Ve Fonksiyonu

İlk olarak 1979 yılında, onkogen olarak tanımlanan p53 genin [68] ürünü transkripsiyon faktörü olarak işlev gören 393 aminoasitten oluşan, tetramerik yapılı nükleer bir fosfoproteindir. “ Genomun gardiyanı” olarak tanımlanan normal p53 (wilde-type) tümör baskılayıcı geni, genomun bütünlüğünü koruyarak hücresel döngünün güvenli bir şekilde devam etmesini sağlar [69]. Tümör baskılayıcı gen olan p53, çok çeşitli insan kanserlerinde rol oynamaktadır. p53 mutasyonları meme, akciğer, mesane, over ve kolon kanserini içeren pek çok kanser çeşidinde bulunmuştur. Tüm kanser vakalarının yarısının p53 genindeki mutasyonlarla ilişkili olduğu tahmin edilmektedir. Bu tahmin, p53'ün hücre çoğalmasında anahtar bir olayı kontrol ettiğini ve bu regulasyonun hücreye veya dokuya özgül olmadığını akla getirir [70]. Çalışmalar normal hücrelerin düşük düzeyde p53 proteini içerdiğini göstermiştir [71]. p53 proteini radyasyona duyarlılığından dolayı iki yola girer. 1. DNA'da hasar oluşturan U.V. ışınlar, doğal tip (normal) p53 protein düzeyini güçlü bir şekilde artırır ve bu yüzden hücresel döngüyü G1 fazında durdurarak, DNA hasarının onarımı için uygun zaman sağlar [72]. 2. yolda ise hata tamir edilmezse p53, hücrenin bölünmesini durdurur ve hücreyi apoptoza yönlendirir [73].

Farklı mutasyonlar p53'ü değiştirerek farklı özellikler kazanmasına neden olurlar ve proteinin yapısı değiştiği için DNA'ya bağlanamaz [74]. Genin tek alelinde meydana gelen mutasyon hücrede fonksiyonel p53 proteini yokmuş gibi davranır. Mutant alel normal alelin fonksiyonunu engellediği için “dominant negatif” denir. Bu genin homozigot kaybı, DNA hasarının onarılmamasıyla sonuçlanır ve hücre malign yönde değişime uğrar [75].

1.9.5. Glutasyon-S-Transferaz ve p53 ile Over Kanseri

Marks ve arkadaşları (1991) yaptıkları çalışmada 107 epitelyal over kanserinde p53 ekspresyonunu immünohistokimyasal yöntemle incelediler. Bu kanserlerin 54'ünde (%50) malign epitelyumda yüksek düzeyde nükleer p53 proteini ekspresyonu saptanmıştır [76].

Green ve arkadaşları (1993) yaptıkları çalışmada 109 over kanserinde (86'sı kanser 23'ü normal) normal ve malign dokularda GSTP1 fark yaratamamış fakat malign epitelde daha fazla şiddette boyanmıştır. Kemoterapide direnç gösteren hastalarda GSTP1 daha yüksek şiddette boyanmıştır. GSTA1 ve GSTM1 malign ve benign vakalarda bir fark yaratmamış fakat malignde daha yüksek şiddetle boyanmıştır [77].

Kupryjanczyk ve arkadaşları (1993) yaptıkları çalışmada DNA ve protein seviyelerindeki p53 varyasyonlarının kanıtı için 38 malign over kanser dokusunda çalışmışlar. 38 malign dokuda %79 oranında p53 mutasyonu tespit edilmiştir. p53 geninin kromozom 17p üzerindeki mutasyonları birçok kanserin malign ilerlemesinde yaygın bir genetik değişimdir. Kötü diferansiye (evre 3) seröz karsinomlarda p53 protein birikimi ile primer tümörün metastatik yayılımında anlamlı bir ilişki bulunmuş ve p53 protein birikiminin metastatik yayılımı hızlandığı göstermiştir. p53 mutasyonunun, bazı hastalarda hastalığa yatkınlık da dahil olmak üzere over kanserinde önemli rol oynadığını göstermiştir [78].

Jonathan ve arkadaşları (1996) yaptıkları çalışmada apoptozun kontrolünde rol oynayan iki proteinin Bcl-2 ve p53'ün over kanseri hücre dizilerinin kemoterapiye olan duyarlılığını etkileyebileceğini düşünmüş ve bu iki proteinin in vivo ekspresyonu 70 hastadan over tümör biyopsilerinin immünohistokimyasal çalışması ile belirlenmiş. Bcl-2 ve p53 'ün sırasıyla incelenen örneklerin %57'sinde ve %61'inde eksprese edildiğini bulmuşlardır. Yüksek düzeylerde p53 görülen hastalarda yaşama yüzdesi azalmıştır [79].

Baxter ve arkadaşları (2001) yaptığı çalışmada 293 over kanseri ve 219 kontrol

vakasında GSTM1 gen polimorfizmi araştırılmıştır. GSTM1 null genotipli bireyler kontrole göre daha fazladır ve over kanserin oluşumunda GSTM1 geni etkin olmuştur [80].

Oğuztüzün ve arkadaşları (2012) Almanya Hannover Sitoloji Kliniğinden alınan 26 metastatik meme ve over adenokanser hastalarından alınan plevra sıvısı örneklerinde tümör belirleyicilerinin ekspresyonları immünohistokimya yöntemi ile çalışılmıştır. 26 metastatik over kanserde CA15-3 %88 duyarlılıkta çıkmıştır ve plevral sıvılarında over kanserinin ve meme kanserinin teşhisinde yüksek hassaslıkta bir tümör marker olarak kullanılabileceği gösterilmiştir [81].

Yapılan başka bir çalışmada da, 285 over kanserinde GSTT1, GSTM1, GSTP1 polimorfizmi çalışılmıştır. Hem over kanserinde hem kontrolde GSTT1, GSTM1, GSTP1 'in genotip dağılımlarında bir fark görülmemiştir. Fakat GSTM1'in null genotipteki vakalar daha çok kanserli vakalarda görülmüştür [82].

Abbasi ve arkadaşları (2016) yaptığı çalışmada tümör süpresör protein p53'ün 74 benign, 8 borderline tümörü ve 27 malign epitelyal tümörünü kapsayan 109 over hasta incelenmiştir. p53 için immünohistokimyasal boyama, parafin blokları üzerinde gerçekleştirildi. Malign ve borderline tümörler ($p=0,002$) ve malign ve benign olanlar arasında anlamlı fark bulunmuştur. 11 immüno-reaktif benign ve 4 borderline tümörden hiçbiri p53 ekspresyonu göstermemiş, ancak 15 immüno-reaktif tümörden 11' i p53' ü ifade etmiştir. Sonuçlarına göre, p53 boyanması malign epitelyal over tümörlerde sınır çizgisinin ayırımında yararlı bir yöntem olarak kullanmışlardır [83].

Karen S. Aderson ve arkadaşları (2010) yaptığı 90 over kanseri çalışmasında serum p53 antikorlarının (p53 – AAb) saptanması ve prognostik biyobelirteç olarak değeri incelemişlerdir. Preoperatif dönemde pelvik kitle nedeniyle ameliyat edilen kadınlardan elde edilen serumlarda p53–AAb ELİSA tespit edilmiştir. Sonuçta over kanseri vakalarının %42 'sinde p53 mutasyonu bulunmuştur [84].

Toyomi Satoh ve arkadaşları (2001) yaptığı çalışmada 117 malign over tümörü olan

hastalardan elde edilen cerrahi örnekler kullanılarak GSTP1 ekspresyonunu immünohistokimyasal olarak değerlendirmişler. GSTP1'in şiddetli boyandığı dokularda antikanser dirençliliği daha fazla görülmüş ve bu hastalarda sağ kalım ve prognoz daha kötü olarak tespit edilmiştir. Sonuçta GSTP1'in antikanser ilaçların dirençliliğinde rolü olabileceği düşünülmüştür [85].

1.9.6. Çalışmanın Amacı

Bu tez çalışmasında amaç benign, malign over tümör dokularında ve metastatik dokularında ksenobiyotik mekanizmasının II. Faz reaksiyonlarını katalizleyen GST enzim ailesinden GSTP1 ve GSTM1 izozimlerini ve p53 tümör supressör proteininin immünohistokimyasal farklılıkları incelenerek, over kanserinin patogeneğinde ksenobiyotik mekanizmasının rolünün aydınlatılması ve bulguların klinik parametrelerle (yaş) karşılaştırılması amaçlanmıştır.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

2.1.1. Materyal Temini ve Hazırlanışı

Çalışma kapsamında Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurulu tarafından alınan etik kurul onayı doğrultusunda, yine Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesinden Patoloji arşivinden alınan toplamda 99 benign, malign over tümör dokularında ve metastaz dokularında aşağıdaki yönteme göre immünohistokimyasal olarak analizler yapılmıştır. Tüm hastaların yaşları kaydedilmiştir. Buna göre hastaların 17'si malign, 31'i benign ve 51 metastaz birlikte çalışılmıştır. Bu verilere göre önce dokular GSTP1, GSTM1, p53 antikoları ile ayrı ayrı immünohistokimyasal yöntemle boyanmış ve sonuçlar kaydedilmiştir.

2.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Primer Antikor (GSTP1, GSTM1, p53)
- Sekonder Antikor (Biotinylated secondary antikor), (Santa Cruz)
- TBS buffer (Santa Cruz)
- %30' luk H₂O₂ Solusyonu (Sigma)
- Ksilol (Merck)
- Etanol (Merck)
- Metanol (Merck)
- Sodyum Sitrat (Sigma)
- Sitrik Asit (Sigma)

- Protein Blokajı (Normal Swine Serum, Normal Goat Serum) (Santa Cruz)
- ABC HRP (Avidin Biotin Complex Horse Radish Peroxidase) (Santa Cruz)
- Hematoksilen (Shandon)
- DAB (Diamino benzidin) (Santa Cruz)

2.1.2.1. Çözeltilerin Hazırlanışı

- I. H₂O₂ Blokajı Çözeltisi Hazırlanışı: 30 ml %30' luk H₂O₂ üzerine 470 ml metanol ilâve edilerek hazırlandı.
- II. Antijen Retrieval Çözeltisinin Hazırlanışı (0,01 M, pH: 6.0): 2,101 gr sitrik asit (A) 100 ml distile suda; 0,1 M 14,7 gr sodyum sitrat (B) 500 ml distile suda çözüldü. 27 ml A solusyonundan, 123 ml B solusyonundan alınarak 1500 ml'ye distile su ile tamamlandı.
- III. 0,005 M Tris Tamponunun Hazırlanışı: 60,55 gr tris base, 85,20 gr NaCl 500 ml distile suda çözülür. 370 ml 1 M HCl eklenerek pH: 7,6'ya getirilip 1 L'ye tamamlanır. (1 ml TBS 100 ml distile suyla dilüe edilerek kullanılır).

2.1.3. Kullanılan Cihazlar

- Etüv
- -20°C'lık derin dondurucu ve buzdolabı
- pH-metre
- Vortex
- Düdüklü tencere
- Isıtıcı

- Hassas terazi
- Işık mikroskobu
- Fotoğraf makinesi

2.2. Kullanılan Metot

2.2.1. İmmünohistokimya Yöntemi

I. Basamak, Dokuların Deparafinizasyonu

- 1) Etüvde 70°C’da 1 saat bekletildi.
- 2) Isınmış ksilolde yarım saat bekletildi.
- 3) Etüvden çıkarıldıktan sonra soğuma işlemi için oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi.
- 4) %90’lık alkolde 1dakika
- 5) %70’lik alkolde 1dakika
- 6) %50’lik alkolde 1dakika
- 7) Distile suda 1-2 dakika bekletildi.

II. Basamak

- 1) H₂O₂ blokajı ile endojen peroksidaz aktivasyonunun inhibisyonu için solusyonda 10 dakika bekletildi.
- 2) Çeşme suyunda 5 dakika bekletildi.
- 3) Antijen Retrieval Solusyonu içinde düdüklü tencerede 3 dakika kaynatıldı.

- 4) Non spesifik boyanma inhibisyonu için "Protein Block Solution" 10 dakika uygulandı.
- 5) Primer antikor uygulandı (60 dakika)
- 6) TBS ile 3 defa yıkama yapıldı ve her yıkama 5 dakika bekletildi.
- 7) Sekonder antikor uygulandı (15 dakika)
- 8) TBS ile yıkandı (3x5 dakika)
- 9) Streptavidin-peroksidaz kompleksi uygulandı (20 dakika)
- 10) TBS ile yıkandı (3x5 dakika)
- 11) 10 dakika DAB uygulandı.
- 12) 1 dakika distile suda bekletildi.

III. Basamak: Hematoksilen Boyaması

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

Poly-L-lysin kaplı lamlara alınan doku kesitleri deparafinizasyon işleminden sonra immunohistokimya (IHC) yöntemi ile GSTP1 (1:500), GSTM1 (1:100) ve p53 (1:300) antikorları bölüm 2.2.1.'de ayrıntılı olarak açıklanan işleme göre boyandı. IHC uygulanan preparatlar ışık mikroskopunda boyanma şiddetine

bakılarak değerlendirme yapıldı ve fotoğrafları çekildi. Deęerlendirme boyanma şiddeti için; boyanma olmaması durumu (0), boyanma olması durumunda (+1), şeklinde değerlendirme yapıldı.

2.3. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirmeler için IBM-SPSS (V25.0) paket programı kullanıldı. GSTM1, GSTP1 ve p53 proteinlerinin metastaz, benign over tümör ve malign over tümör gruplarında immünohistokimyasal ekspresyon farklılıklarını değerlendirmek amacıyla öncelikle verilerin dağılımı incelendi. Sonrasında protein ifadelerindeki farklılıklar, çalışma grubunun özelliklerine göre, Kruskal Wallis veya Mann-Whitney U Testi ile %95'lik güvenilirlik düzeyinde incelendi. Hastaların yaşı ile protein ifadeleri arasındaki ilişki Spearman's rank korelasyon analizi ile belirlendi. Tüm analizler için sonuçlar $p<0,05$ düzeyinde anlamlı kabul edildi.

3. ARAŞTIRMA BULGULARI

3.1. GST ve p53'ün Benign, Malign Over Tumor Dokularında ve Metastaz Dokularındaki Protein İfadelerinin Sonuçları

3.1.1. GSTM1 İzozimlerinin Benign, Malign Over Tumor Dokularında ve Metastaz Dokularındaki İfadesi

Benign, malign over tümörlü ve metastaz dokularında GSTM1 izozimlerinin ekspresyonlarının immünohistokimya sonuçlarına baktığımızda; GSTM1 izoziminin benign dokularda 31 hastadan 11'inde (%35,48), malign dokularda 17 hastadan 7'sinde (%41,18) protein ifadesinin olduğu ve metastatik dokularda 51 hastadan 14'ünde (%27,45) pozitif boyandığı görüldü (Çizelge 3.1), (Şekil 3.1).

Çizelge 3.1. GSTM1 İzozimlerinin Benign, Malign Over Tümör ve Metastaz Dokularındaki İfadesi

GSTM1	Tümör Grubu (n=48)		Metastaz Grubu (n=51)
	Malign Over Tümör Grubu (n=17)	Benign Over Tümör Grubu (n=31)	
Pozitif (1)	7/17 ^a (41,18%)	11/31 ^a (35,48%)	14/51 ^a (27,45%)
Negatif (0)	10/17 ^b (58,82%)	20/31 ^b (64,52%)	37/51 ^b (72,55%)
Toplam	100%	100%	100%

Boyanma skorları; hastalara ait benign, malign tümör ve metastaz dokuların boyanma şiddetine göre hesaplanmıştır. Buna göre 0: protein ifadesi görülmeyen, 1: protein ifadesi görülen şekilde derecelendirilmiştir.

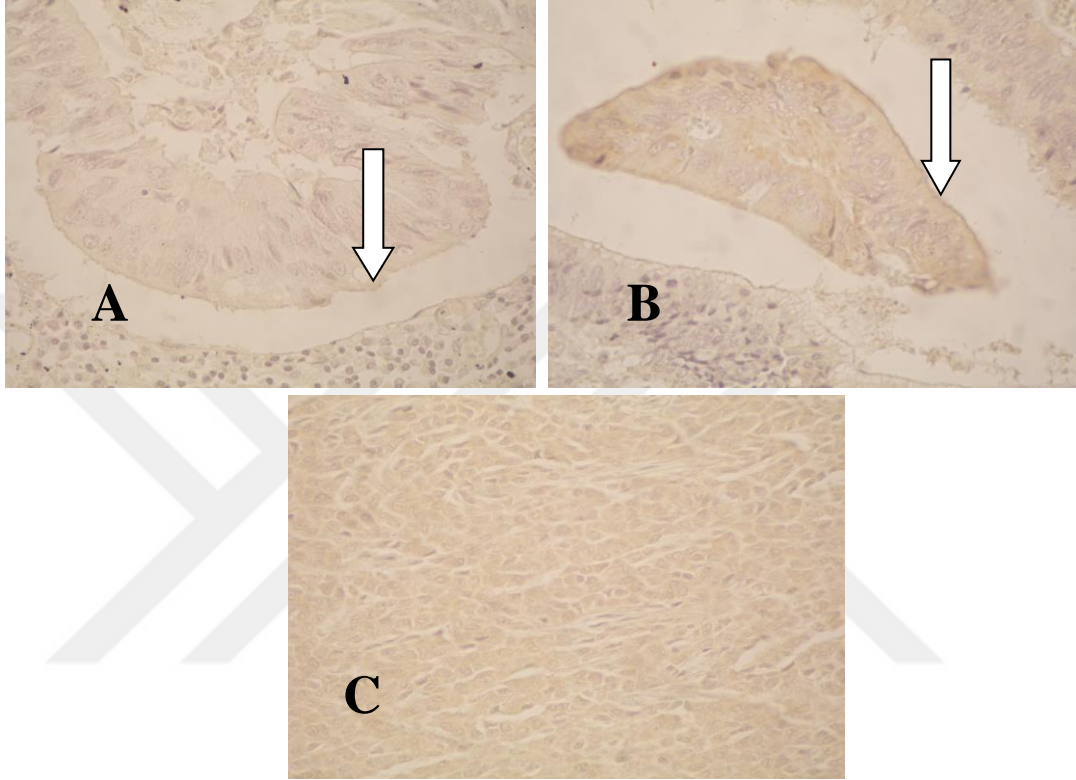
a: Protein ifadesi gözlenen hasta sayısının, aynı gruptaki toplam hasta sayısına oranı

b: Protein ifadesi gözlenmeyen hasta sayısının, aynı gruptaki toplam hasta sayısına oranı

* p değeri 0,05' den küçük olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmektedir.

Malign over tümör grubunun GSTM1 protein ifadesinin, benign over tümör grubu ve metastaz grubundan yüksek olduğu bulundu. Ancak; benign over tümör, malign over tümör ve metastaz gruplarının GSTM1 protein ifadelerindeki farklılıklar kıyaslandığında, üç grubun protein ekspresyon düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (Kruskal Wallis Testi, $p>0,05$; $p=0,529$, $r^2=0,013$). Benign ve malign over tümör grupları kendi içinde karşılaştırıldığında, bu iki grubun

GSTM1 protein ifadeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (Mann-Whitney U Testi, $p>0,05$; $p=0,700$). Over tümör grubu ($n=48$), metastaz grubu ($n=51$) ile kıyaslandığında da aradaki farkın anlamlı olmadığı görüldü (Mann-Whitney U Testi, $p>0,05$).



Şekil 3.1. Benign, malign over tümör dokularında immünohistokimyasal GSTM1 proteini **A:** Müsinöz adenokarsinom (OK) negatif (0) GSTM1 proteinin ifadesi 400X, **B:** Müsinöz adenokarsinom (OK) (+1) hafif şiddette GSTM1 protein ifadesi 400X, **C:** Granüloza hücreli tümör (+1) hafif şiddette GSTM1 protein ifadesi 400X

3.1.2. GSTP1 İzozimlerinin Benign, Malign Over Tümör Dokularında ve Metastaz Dokularındaki İfadesi

Benign, malign over tümör dokularda ve metastaz dokularda GSTP1 izozimlerinin ekspresyonlarının immünohistokimya sonuçlarına baktığımızda; GSTP1 izoziminin benign dokularda 31 hastadan 15'inde (%48,39), malign dokularda 17 hastadan 15'inde (%88,24) protein ifadesinin olduğu ve metastatik dokularda 51 hastadan 37'sinde (%72,55) pozitif boyandığı görüldü (Şekil 3.2). Malign dokularda metastatik dokulara oranla fazla ekspresyonun gerçekleştiği görüldü (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. GSTP1 İzozimlerinin Benign, Malign Over Tümör ve Metastaz Dokularındaki İfadesi

GSTP1	Tümör Grubu (n=48)		Metastaz Grubu (n=51)
	Malign Over Tümör Grubu (n=17)	Benign Over Tümör Grubu (n=31)	
Pozitif (1)	15/17* ^a (88,24%)	15/31* ^a (48,39%)	37/51* ^a (72,55%)
Negatif (0)	2/17* ^b (11,76%)	16/31* ^b (51,61%)	14/51* ^b (27,45%)
Toplam	100%	100%	100%

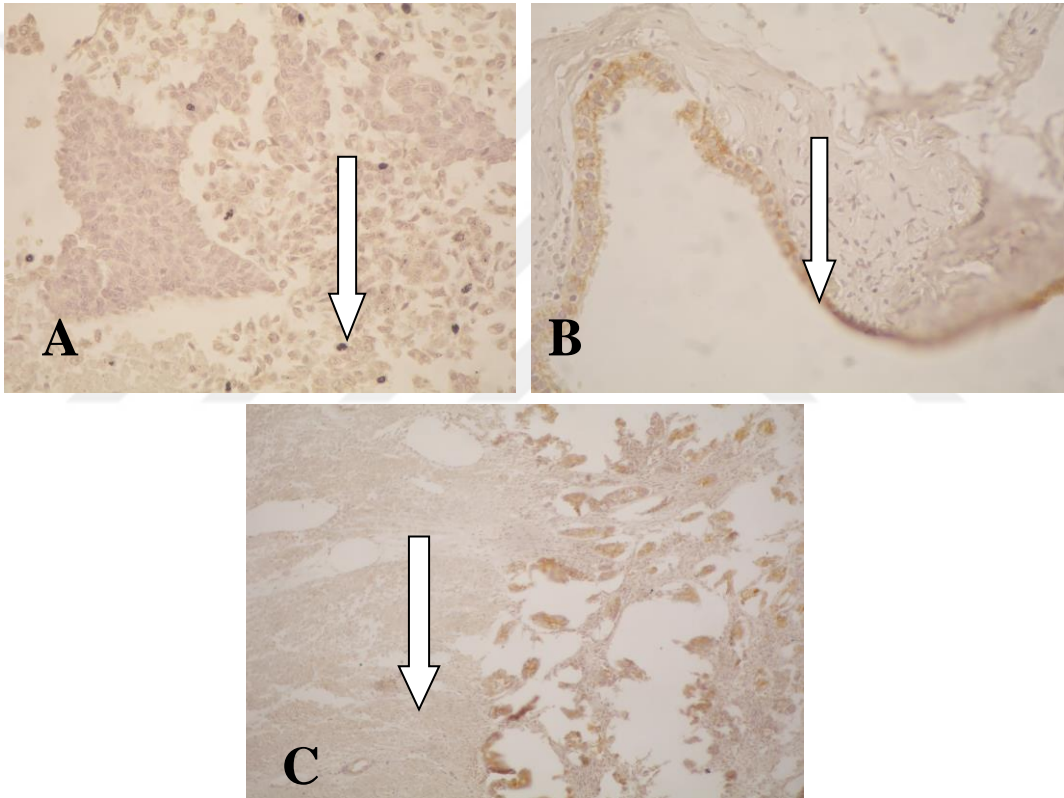
Boyanma skorları; hastalara ait benign, malign ve metastaz dokuların boyanma şiddetine göre hesaplanmıştır. Buna göre 0: protein ifadesi görülmemen, 1: protein ifadesi görülen şekilde derecelendirilmiştir.

a: Protein ifadesi gözlenen hasta sayısının, aynı gruptaki toplam hasta sayısına oranı

b: Protein ifadesi gözlenmeyen hasta sayısının, aynı gruptaki toplam hasta sayısına oranı

* *p* değeri 0,05'den küçük olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmektedir.

Malign over tümör grubunun GSTP1 protein ifadesinin, metastaz ve benign over tümör grubundan yüksek olduğu görüldü. Üç grubun (malign over tümör, benign over tümör ve metastaz) GSTP1 protein ekspresyonları birbiriyle kıyaslandığında gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Kruskal Wallis Testi, $p < 0,05$; $p = 0,010$, $r^2 = 0,001$). Malign over tümör dokularındaki GSTP1 protein ifadesinin, benign over tümör dokularındakinden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü (Man Whitney U Testi, $p < 0,05$; $p = 0,007$). Over tümör grubu ($n = 48$), metastaz grubu ($n = 51$) ile kıyaslandığında ise aradaki farkın anlamlı olmadığı bulundu (Man Whitney-U Testi, $p > 0,05$).



Şekil 3.2. Benign, malign over tümör ve metastaz dokularında immünohistokimyasal GSTP1 proteini **A:** Granüloza hücreli tümörün (OK) negatif (0) GSTP1 proteinin ifadesi 400X, **B:** Müsinöz kist adenom (OK) hafif (+1) şiddette GSTP1 protein ifadesi 400X, **C:** Seröz papiller karsinom kolon metastazı (OK) hafif (+1) şiddette GSTP1 protein ifadesi 100X

3.1.3. p53 İzozimlerinin Benign, Malign Over Tümör Dokularında ve Metastaz Dokularındaki İfadesi

Benign, malign over tümör dokularda ve metastaz dokularda p53'ün ekspresyonunun immünohistokimya sonuçlarına baktığımızda; p53'ün benign dokularda 31 hastanın hiçbirinde (%0), malign dokularda 17 hastadan 11'inde (%64,71) protein ifadesinin olduğu ve metastatik dokularda 51 hastadan 26'sında (%50,98) pozitif boyandığı görüldü (Şekil 3.3). Malign dokularda metastatik dokulara oranla fazla ekspresyonun gerçekleştiği görüldü (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3. p53 'ün Benign, Malign Over Tümör Dokularında ve Metastaz Dokularındaki İfadesi

p53	Tümör Grubu (n=48)		Metastaz Grubu (n=51)
	Malign Over Tümör Grubu (n=17)	Benign Over Tümör Grubu (n=31)	
Pozitif (1)	11/17* ^a (64,71%)	0/31* ^a (0%)	26/51* ^a (50,98%)
Negatif (0)	6/17* ^b (35,29%)	31/31* ^b (100%)	25/51* ^b (49,02%)
Toplam	100%	100%	100%

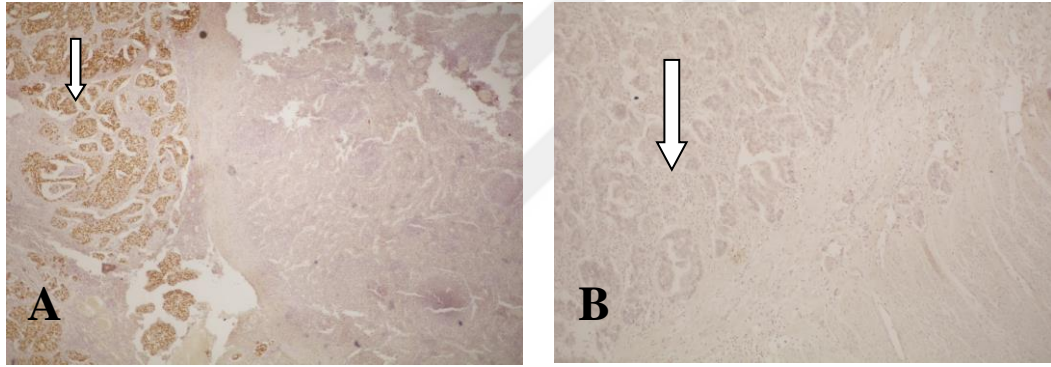
Boyanma skorları; hastalara ait benign, malign ve metastaz dokuların boyanma şiddetine göre hesaplanmıştır. Buna göre 0: protein ifadesi görülmemen, 1: protein ifadesi görülen şekilde derecelendirilmiştir.

a: Protein ifadesi gözlenen hasta sayısının, aynı gruptaki toplam hasta sayısına oranı

b: Protein ifadesi gözlenmeyen hasta sayısının, aynı gruptaki toplam hasta sayısına oranı

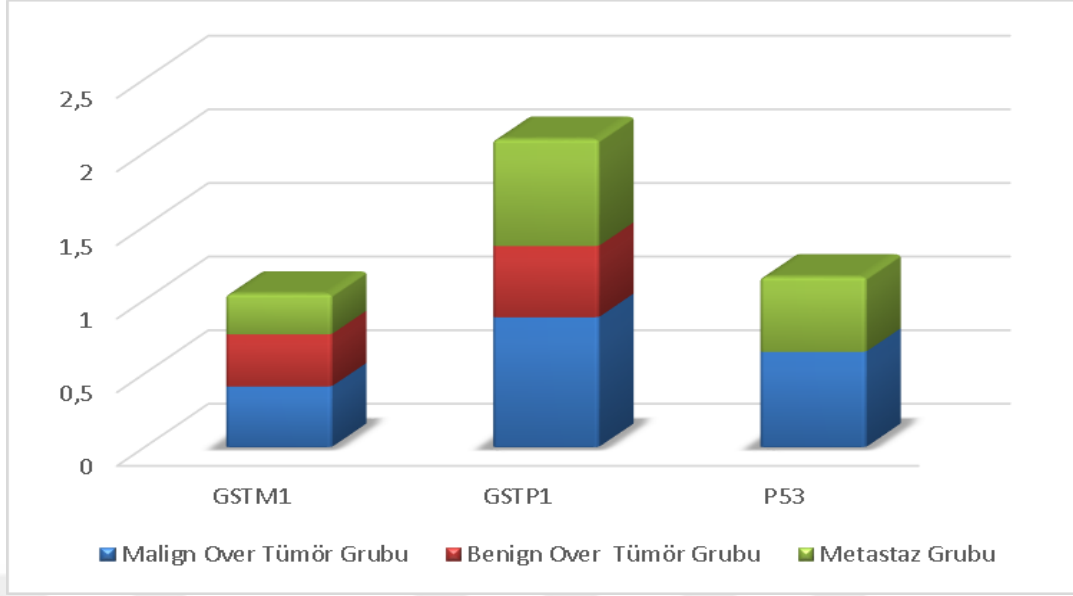
* *p* değeri 0,05'den küçük olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmektedir.

Malign over tümör dokularındaki p53 protein ifadesinin, metastatik dokulardan ve benign over tümör dokularından yüksek olduğu görüldü. Üç grubun (malign over tümör, benign over tümör ve metastaz) p53 protein ekspresyonu kıyaslandığında gruplar arasındaki farklılığının istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu (Kruskal Wallis Testi, $p < 0,001$, $r^2 = 0,004$). Malign ve benign over tümör grupları kendi içinde kıyaslandığında p53 protein ekspresyon düzeylerinin bu iki grup arasında anlamlı derecede farklı olduğu görüldü. Malign over tümör dokularındaki p53 protein ekspresyonunun, benign gruptan anlamlı derecede yüksek olduğu bulundu (Man Whitney U Testi, $p < 0,001$). Over tümör grubu ($n=48$), metastaz grubu ($n=51$) ile kıyaslandığında yine aradaki farkın anlamlı olduğu görüldü ($p < 0,01$). Ayrıca Spearman korelasyonuna göre p53 protein ekspresyonu ve yaş arasında anlamlı ve pozitif yönlü bir korelasyon bulundu (%34,4, $p=0,001$).



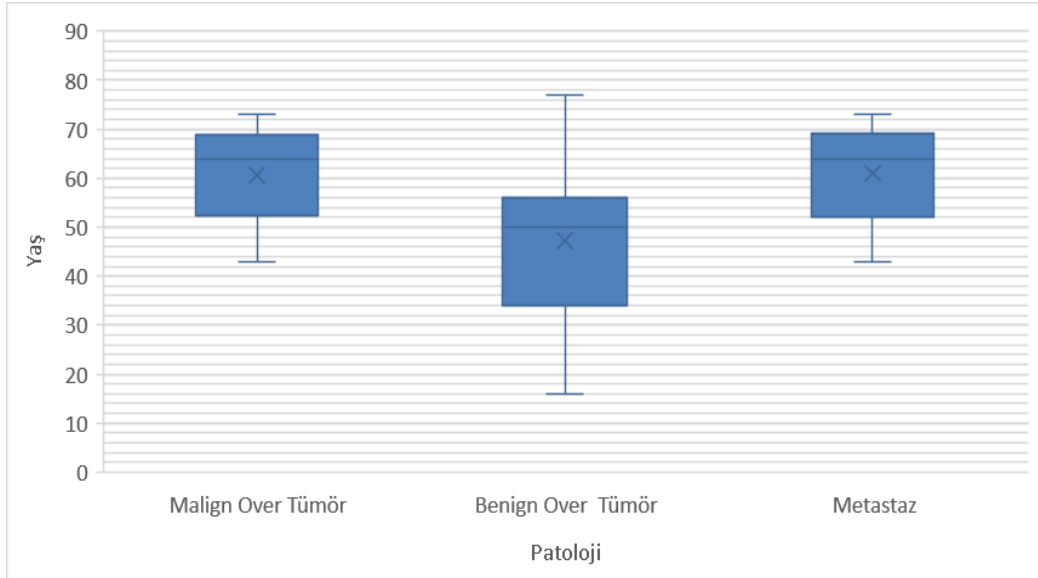
Şekil 3.3. Malign over tümör ve metastaz dokularda immünohistokimyasal p53 proteini **A:** Lenf bezi seröz papiller karsinom (OK) metastaz hafif (+1) şiddette p53 proteinin ifadesi 400X, **B:** Seröz papiller karsinom (OK) negatif (0) boyanma p53 protein ifadesi 100X

Şekil 3.4'de görüldüğü üzere metastaz dokularda en çok GSTP1 ve p53 eksprese edilmiştir. GSTM1 ise metastaz ve tümörü çok ayırt edememiştir. GSTP1 malign ve benign dokuları ayırt edebilmiştir.



Şekil 3.4. Metastaz ve tümör gruplarında GSTP1, GSTM1 ve p53'ün birbirleriyle karşılaştırılması

Şekil 3.5' de görüldüğü gibi malign ekspresyonu ve yaş arasında pozitif korelasyon görülmüştür. Ayrıca metastaz ve yaş arasındada pozitif korelasyon görülmüştür.



Şekil 3.5. Malign, benign ve metastaz grubundaki hastaların yaş dağılımı

Çizelge 3.4'te benign, malign tümör ve metastaz grubundaki hastaların yaş dağılımları ortalama \pm standart sapma (SS) olarak verilmiştir. Şekil 3.5'de ise hastaların yaş dağılımları kutu grafiği ile şematize edilmiştir. Malign tümör grubunda hastaların yaş ortalaması 60,56, benign tümör grubunda 47,29, metastaz grubunda ise 61,02'dir.

Çizelge 3.4. Tümör ve metastaz grubundaki hastaların yaş ortalaması

Çalışma Grupları	Tümör Grubu (n=48)		Metastaz Grubu (n=51)
	Malign Over Tümör Grubu (n=17)	Benign Over Tümör Grubu (n=31)	
Yaş (Ortalama \pm SS)	60,56 \pm 9,39	47,29 \pm 15,99	61,02 \pm 9,19
<i>p</i> değeri	0.00		
r^2	0.024		

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Kanser, dünya genelinde ani ölümlerden sonra insan hayatını etkileyen nedenlerin başında yer almaktadır. Gelişen teknoloji ve bilimsel çalışmalar ışığında her ne kadar bu insan hayatını olumsuz şekilde etkileyen hastalığa çareler aransa da henüz günümüz bilim ve teknolojisi bu konuda yetersiz kalmaktadır. Bunun başlıca sebebi; bu hastalığın oluşumunda moleküler karmaşanın iyi derecede aydınlatılamıyor olmasıdır. Fiziksel, kimyasal ve biyolojik karsinojenler gibi çevresel faktörlere maruziyet ve kanser oluşumunda görevli genlerin (onkogenlerin) aktivasyonunun yanı sıra, bu genlerin inhibisyonunu sağlayan tümör supresör genlerin inaktivasyonu gibi başlıca nedenler kanser mekanizmasında aydınlatılmaya çalışılmaktadır. Tedaviye yönelik bu araştırmalar arttıkça gelinen noktada her defasında yapılan ve bulunan bir etiyolojik faktör, tedaviden ziyade bu hastalığın komplike yapısını aydınlatmakta ve hedefe ulaşmayı zorlaştırmaktadır. Kanser mekanizmalarının aydınlatılmasına yönelik çalışmalarda, özellikle moleküler düzeyde hedef genler ve proteinler üzerine yapılan çalışmalardan ziyade, hücrenin, esasında farklı işlevler için ürettiği gen ve proteinlerinin de bu hastalığın mekanizmasında görev aldığı artık bilinmektedir. Özellikle detoksifikasyon ve ilaç metabolizmasında, hücre içi immunité gibi doğrudan kanser oluşumunda görev almayan ancak yapısal bozulmalar sonucunda da kansere yol açan gen ve proteinler ile bunların metabolizması da kanser oluşum nedenleri arasında gösterilmektedir.

Yapılan tez çalışmasında, over kanserinin oluşmasında ve gidişatında büyük bir rol oynayan GSTP1 ve GSTM1 izozimlerinin dağılımları immünhistokimya metoduyla çalışılmıştır. GSTP1 ve GSTM1 izozimlerinin benign, malign over tümör dokularında ve metastaz dokularındaki dağılımları tespit edilmiş ve kanser biyolojisindeki rolü ve klinikte kullanılması değerlendirilmiştir. Ayrıca GSTP1 ve GSTM1 izozimlerinin benign ve malign over tümör dokularının ve metastaz dokularının hücrelerindeki dağılımlarıyla hastaya ait klinik parametreleri (yaş) istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır.

Yapılan bu tez çalışmasında GSTP1 ve GSTM1 izozimlerinin protein ekspresyonları ilk defa çalışılmıştır. Literatüre bakıldığında gen ekspresyon çalışmalarına ağırlık verildiği, protein ifadelerinin incelenmediği göze çarpmaktadır. Bu alanda bulunan açıklığı aydınlatma amacıyla yapılan çalışmamızda protein ifadeleri daha önceden çalışılmamış olan bu izozimlerin kanserli dokulardaki ifadelerinin normal dokulardan yüksek olduğu tespit edildi. Çalışmamıza konu olan enzimler daha fazla hasta doku gruplarında çalışılmalı ve kanser hastası olan bireylere ilaç verilirken bu enzimlerin miktarları tayin edilerek uygun şekilde verilmelidir.

Karsinogenik etkilere hücrenin korunmasında detoksifikasyon mekanizmalarının büyük önemi vardır. Detoksifikasyon (biyotransformasyon), ksenebiyotikler (toksik maddeler, metabolitler, epoksidler) gibi zararlı maddelerin çeşitli enzim ya da moleküller yardımı ile zararsız hale getirilerek vücuttan dışarı atılımını sağlama mekanizmalarıdır. Bu mekanizmalarda görev alan enzimler ya da moleküller de bu hayati olguyu desteklemektedirler.

Glutatyon-S-Transferaz enzim ailesi, detoksifikasyon metabolizmasında, ksenebiyotiklerin zararlı etkilerini zararsız hale getirerek vücuttan elemine edilmesini sağlayan Faz II reaksiyonlarını oluşturan bir enzim sistemini oluşturur. Aynı zamanda ilaç metabolizmasında ve hücre içi oksidatif hasarın giderilmesinde önemli görevleri bulunan Faz II reaksiyonlarını katalizleyen GST enzimleri, reaktif ara ürünlerin detoksifikasyonunu sağlayarak hücrenin kanser, nekroz, doku hasarı, hücre ve DNA hasarı gibi etkilere korunmasını sağlar.

Bu bilgiler ışığında literatürde, kanser oluşumunda, gerek normal hücre içi antioksidan aktivite, gerek ilaç metabolizmasında ilaç dirençliliği, gerek detoksifikasyon metabolizması gibi çoğu çalışmalarda bu enzim ailesinin rolleri açıklanmıştır. Ne yazık ki GSTM1 ve GSTP1 izozimlerinin kanser oluşumundaki rolleri tam olarak çalışılmamıştır.

Yapılan bu tez çalışmasında 99 benign, malign over tümör dokularında ve metastaz dokularında hastaların GSTM1, GSTP1 ve p53 ekspresyonları değerlendirilmiştir.

Over malign tümör dokularında, GSTP1 ve p53 ekspresyonları metastatik dokulara oranla daha fazla olduğu bulunmuştur.

Bizim çalışmamıza benzer olarak, Marks ve arkadaşları (1991) yaptıkları çalışmada 107 epitelyal over kanserinde 54'ünde (%50) malign epitelyumda yüksek düzeyde nükleer p53 proteini ekspresyonu saptanmıştır [78].

Bizim çalışmamıza benzer olarak, Green ve arkadaşları (1993) yaptıkları çalışmada 109 over kanserinde (86'sı kanser 23'ü normal) normal ve malign dokularda GSTP1 fark yaratamamış fakat malign epitelde daha fazla şiddette boyanmıştır. Kemoterapide direnç gösteren hastalarda GSTP1 daha yüksek şiddette boyanmıştır. GSTA1 ve GSTM1 malign ve benign vakalarda bir fark yaratmamış fakat malignde daha yüksek şiddetle boyanmıştır [79].

Yapılan bu tez çalışmasında kullanılan dokular kemoterapi almamış hastalara aittir. GST izozimlerinden GSTM1 ve GSTP1'in malign over tümör dokularındaki oluşumu ve rolü bu çalışmayla ilk defa ortaya konmuştur. Bu izozimlerin substratları ve kanser ilaçlarının öncü maddeleri karşılaştırılmalı ve substratlarla öncü maddelerin eşleşmesi durumunda karşılaşılan ilacın verilmemesi çünkü verilen ilaca karşı hücrelerin bu enzimler sayesinde bir direnç göstereceği düşünülmektedir. Ayrıca elimizde yeterli hasta sayısı olmadığından klinik parametreler ve hasta prognozları hakkında net bilgiye ulaşılamadığından bu izozimlerin diğer kanser çeşitlerinde de daha fazla hasta grubuyla çalışılması ve hasta klinik parametreleriyle karşılaştırılarak hastalığın prognozuna katkıda bulunulması gerektiği düşünülmektedir.

5. KAYNAKLAR

- [1] Stewart B.W., Kleihues P., World Cancer Report. 11-21. International Agency For Research On Cancer Publications, 2003.
- [2] Wilkins, M. R., Sanchez, J. C., Gooley, A. A., Appel, R. D., Humphery-Smith, I., Hochstrasser, D. F., ve Williams, K. L. Progress with proteome projects: why all proteins expressed by a genome should be identified and how to do it. *Biotechnology and genetic engineering reviews*, 13(1): 19-50, 1996.
- [3] Alacalı, M., Mide kanseri, mide kanseri taramaları ve mide kanserinden korunma. *Ankara Medical Journal*, 12(4): 195-198, 2012.
- [4] Hanahan, D., and Weinberg, R. A., The hallmarks of cancer. *cell*, 100(1): 57-70, 2000.
- [5] Vardar, A., Kanserin Tanımı, Belirtileri ve Çeşitleri. *Avrasya Hospital Sağlık Dergisi Kanser Özel Sayısı*, 53: 34-35, 2015.
- [6] Ogden, J., *Health psychology*. McGraw-Hill Education (UK). 2012.
- [7] P. Boyle, and B. Levin (Eds.). *Dünya kanser raporu 2008*. Uluslararası Kanser Araştırma Kurumu. 2008.
- [8] Tuncer, M., T.C. Sağlık Bakanlığı Kanserle Savaş Dairesi Başkanlığı Ulusal Kanser Programı. 2009.
- [9] Edmondson, R. J., Monaghan, J. M. , The epidemiology of ovarian cancer, *Int. J. Gynecol. Cancer*, 11: 423-429, 2001.

[10] Chu, C.S., Rubin, S.C., Screening for ovarian cancer in the general population, *Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*, 20(2): 307-320, 2005.

[11] Allain, D.C., Genetic counseling and testing for common hereditary breast cancer syndromes: a paper from the 2007 William Beaumont hospital symposium on molecular pathology, *J. Mol. Diagn*, 10(5): 383–395,2008.

[12] American Cancer Society, *Ovarian Cancer, Global Cancer Fact & Figures* American Cancer Society, Atlanta, GA, USA. 2011.

[13] Dina, R.and, G. Rustin, Carcinoma of the ovaries and fallopian tubes' in Shaw, Soutter WP, Stanton SL (eds) *Gynaecology*, London: Churchill Livingstone. 2002.

[14] Berek, J.S., Novak Jinekoloji. Erk A (Ed). *Over Kanseri'nde*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi. 1245-321, 2004.

[15] Köse, M. The Ministry of Health of Turkey Health Statistics Yearbook 2015. Edited by Berrak Basara, Cemil Guler, and Gokalp Yentur. Ankara: Ministry of Health. 2016.

[16] Roett, M.A., Evans, P., Ovarian cancer: an overview, *Am Fam Physician*, 80(6): 609-616, 2009.

[17] Pearce, C.L., Templeman, C., Rossing, M.A., Lee, A., Near, A.M., ve diğ, Association between endometriosis and risk of histological subtypes of ovarian cancer: a pooled analysis of case–control studies, *Lancet Oncol.*, 13(4): 385– 394, 2012.

- [18] Siegel R.L.; Kimberly D. Miller; Ahmedin Jemal. Cancer Statistics, *Ca Cancer J Clin*, 65: 5–29, 2015.
- [19] Kindelberger, D.W., Lee, Y., Miron A ve diğ, Intraepithelial carcinoma of the fimbria and pelvic serous carcinoma: evidence for a causal relationship. *Am. J. Surg. Pathol.* 31(2): 161–169, 2007.
- [20] Kopuz, E., Saip, E., Salihoglu, Y., Jinekolojik tümörler, *Klinik Onkoloji*. 2000: 289-290.
- [21] Kurman RJ, Carcangiu ML, Herrington CS, Young RH. WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs. *WHO* 4(6): 307-316. 2014
- [22] Danijela Jelovac D, Armstrong DK. Recent progress in the diagnosis and treatment of ovarian cancer. *CA Cancer J Clin.* 61(3): 183-203, 2011.
- [23] Bodurka DC, Deavers MT, Tian C, Sun CC, Malpica A, Robert L et al. Reclassification of serous ovarian carcinoma by a 2-tier system: a Gynecologic Oncology Group Study. *118(12)*: 3087-3094, 2012.
- [24] Hong MK, Chu TY, Ding DC. The fallopian tube is the culprit and an accomplice in type II ovarian cancer: A review. *TZU CHI medical.* 25(4): 203-205, 2013.
- [25] Kadar N., Krumerman M., possible metaplastic origin of lymph node metastases in serous ovarian tumor of low malignant potential (borderline serous tumor). *Gynecol Oncol* 59: 394-397, 1995.
- [26] Tavassoli FA., Devilee P. WHO Histological Classification of Tumours of the ovary. *Pathology and genetics of tumours of the breast and female genital organs.* 113-145, 2003.

[27] Türk Patoloji Derneği Meslek İçi Eğitim Kursları 2002 Over Tümörleri Z Calay, Ş ilvan, A İplikçi, S Tuzlalı, E Yavuz 1-19.

[28] Kumar V., Abbas A.K., Fausto N; The femalle genital tract, Chapter 22, in Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease,Elsevier Saunder, Philladellphia, 7: 1059-1118, 2005.

[29] Rosai J, Female reproductive system, Chapter 19, in Rosai and Ackerman's Surgical Pathology, 2(9): 1659–1681, 2004.

[30] Berek, J.S., Crum, C., Friedlander, M., Cancer of the ovary, fallopian tube, and peritoneum. International journal of gynaecology and obstetrics: the official organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics, 119(2): 118-129, 2012.

[31] Anonim, Society of Gynecologic oncology, <https://www.sgo.org/clinical-practice/guidelines/new-figo-ovarian-cancer-staging-guidelines> (Erişim tarihi: 17.01.2019)

[32] Prat J; FIGO Committee on Gynecologic Oncology. Staging classification for cancer of the ovary. J Gynecol Oncol 26(2): 87-89, 2015.

[33] Clark TG, Stewart ME, Altman DG. A prognostic model for ovarian cancer. Br J Cancer 85: 944-52, 2001.

[34] Cragun, J.M., Screening for ovarian cancer, Cancer Control. 18(1): 16-21, 2011.

[35] Nyugen, L., Cardenas-Goicoechea, S.J., Gordon, P., Curtin, C., Momeni, M., Chuang, L., Fishman, D., Biomarkers for early detection of ovarian cancer, Women's Health, 9(2): 171-187, 2013.

[36] Myers, E.R., Bastian, L.A., Havrilesky, L, ve diğ, Management of adnexal mass. Evid. Rep. Technol. Assess. 130, 1-145, 2006.

[37] Granberg, S., Wikland, M., Jansson, I., Macroscopic characterization of ovarian tumors and the relation to the histological diagnosis: criteria to be used for ultrasound evaluation, *Gynecol Oncol.* 35(2): 139–144,1989.

[38] Lewis, S., Menon, U., Screening for ovarian cancer, *Reviews in Gynaecological Practice.* 4: 156–161, 2004.

[39] Fishman, D.A., Cohen, L., Blank, S.V., ve diğ, The role of ultrasound evaluation in the detection of early-stage epithelial ovarian cancer, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 192(4): 1214–1221,2005.

[40] Cohen, L.S., Escobar, P.F., Scharm, C., Glimco, B., Fishman, D.A., Threedimensional power Doppler ultrasound improves the diagnostic accuracy for ovarian cancer prediction, *Gynecol Oncol.* 82(1): 40–48, 2001.

[41] Kurjak, A., Kupesic, S., Sparac, V., Kosuta, D., Three-dimensional ultrasonographic and power Doppler characterization of ovarian lesions, *Ultrasound Obstet Gynecol,* 16(4): 365–71, 2000.

[42] American College of Obstetricians and Gynecologists. *Prolog Gynecology and Surgery.* American College of Obstetricians and Gynecologists, Washington, DC, USA.2009.

[43] D Pessayre., *Cytocroms P450 s in formain of metabolic reactivs Therapie,* 48: 537-542, 1993.

[44] N Vural., *Toksik maddelerin metabolizması. Toksikoloji,* Ankara Üniv. Yayınevi 73: 43-45, 2005.

[45] PJ Donald., *Marisuana smoking-possible cause of head and neck carcinoma in young patients.**Otolaryngol Head Neck Surg,* 94: 517, 1986.

- [46] FP Guengerich. Characterization of human microzomal P450 enzymes. *Ann. Rev. Pharmacol.Toxicol*, 29: 241-246, 1989.
- [47] J Caldwell. Conjunction reactions in foreing compound metabolism: defenitanion, consequens and specific variation. *Drug Metab.Rev.* 13: 745-777, 1982.
- [48] Cengiz, M., Hacıhanefioglu, S., & Cenani, A. Glutathione and related enzymes in rat liver treated with methyl nitrosoarea. *Journal of basic and clinical physiology and pharmacology*, 7(4): 341-346, 1996.
- [49] Boar, P., Coggan, M., Johnston, P., Ross, V., Suzuki, T., & Webb, G. Genetic heterogeneity of the human glutathione transferases: A complex of gene families. *Pharmacology & therapeutics*. 48(3): 357-369, 1990.
- [50] Halliwell, B. Establishing the significance and optimal intake of dietary antioxidants: the biomarker concept. *Nutrition reviews*. 57(4): 104-113, 1999.
- [51] Hayes, J. D., & Pulford, D. J. The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the Isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance part II. *Critical reviews in biochemistry and molecular biology*. 30(6): 521-600, 1995.
- [52] Commandeur J.N.M, Stijntjes G.J, Vermeulen N.P.E. Enzymes and transport systems involved in the formation and disposition of glutathione S-conjugates. *Phar Rev.* 47: 271-330, 1995.
- [53] Whalen R, Boyer T.D. Human Glutathione-S-Transferases. *Sem Liver Dis.* 18(4): 345-58, 1998.
- [54] Mannervik, B., & Widersten, M. Human glutathione transferases: classification, tissue distribution, structure, and functional properties. *Advances in drug metabolism*

in man; Pacifici, G.M., Frachia, G.N., Eds.; European Commission: Luxembourg, 407-459, 1995.

[55] Board, P. G. Biochemical genetics of glutathione-S-transferase in man. *American journal of human genetics*. 33(1): 36-43, 1981.

[56] Hayes, J. D., & Strange, R. C. Glutathione S-transferase polymorphisms and their biological consequences. *Pharmacology*. 61(3): 154-166, 2000.

[57] Di Pietro, G., Magno, L. A. V., & Rios-Santos, F. Glutathione S-transferases: an overview in cancer research. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology*, 6(2): 153-170, 2010.

[58] Takahashi, Y., Campbell, E. A., Hirata, Y., Takayama, T., & Listowsky, I. A basis for differentiating among the multiple human Mu-glutathione S-transferases and molecular cloning of brain GSTM5. *Journal of Biological Chemistry*, 268(12): 8893-8898, 1993.

[59] Strange, R. C., Spiteri, M. A., Ramachandran, S., & Fryer, A. A. Glutathione-S-transferase family of enzymes. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 482(1): 21-26, 2001.

[60] Meyer D. J., Coles B., Pemble S. E., Gilmore, K. S., Fraser, G. M., & Ketterer B. Theta, a new class of glutathione transferases purified from rat and man. *Biochemical Journal*. 274(2): 409-414, 1991.

[61] Ginsberg, G., Smolenski, S., Hattis, D., Guyton, K. Z., Johns, D. O., & Sonawane, B. Genetic polymorphism in glutathione transferases (GST): population distribution of GSTM1, T1, and P1 conjugating activity. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*. 12(5-6): 389-439, 2009.

- [62] Coggan M., Whitbread A., Whittington A., Board P., Structure and organization of the human theta-class glutathione s-transferase and D-dopachrom tautomerase gene complex. *Biochemical Journal*. 334: 617-623, 1998.
- [63] Mainwaring, G. W., Williams, S. M., Foster, J. R., Tugwood, J., & Green, T. The distribution of theta-class glutathione S-transferases in the liver and lung of mouse, rat and human. *Biochemical Journal*. 318(1): 297-303, 1996.
- [64] JA Moscow, AJ Towvsted, ME Goldsmith, et al. Isolation of the human anionic glutathione transferase cDNA and reletion of its gene expresseion to estrogen receptor content in primary breast cancer. *Proc Natl Acad SCI USA*. 85: 6518-6522, 1988.
- [65] B Mannevrík. The isozyme of glutathione transferase. *Avdan Enzymol*. 57: 357-417, 1985.
- [66] JD Hayes, TJ Mantle. Use of immünoblot techniques to discriminate between the glutathine transferase Yf, Yk, Yn/Yb, and Yc subunits and to study their extra hepatic distribution. *Biochemical Journal*. 233: 779-778, 1986.
- [67] J.A. Moscow, C.R. Fairchld, M.J.Madden, D.T.Ransom, H.S.Wieand ve diğ, Expression of anionic glutathione-S-transferase and P-glycoprotein genes in human tissues and tumors. *Cancer Res*. 49: 1422-8, 1989.
- [68] RS Cotran, V Kumor, T Collins: Robbins Pathologic basis of disease, 6th Edition, W. B. Saunders Coy, Philadelphia. 6: 276-302, 1999.
- [69] AJ., Levine, J Momand, CA Finlay: The p53 tumour supressor gene, xlatüre 351: 453-456, 1991.
- [70] LJ .Ko, C Prives, P53: puzzle and paradigm. *Genes Dev*.10: 1054-1072, 1996.

[71] AJ Levine: p53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell* 88:323-331, 1997.

[72] C.Prives and PA Hall: The p53 pathway, *J Pathol* 187: 112-126, 1999.

[73] K Somasundaram, *Front Biosci: Tumor supressor p53: regulation and function*.5: 424-437, 2000.

[74] DP Lane, Benchimol S:P53: Oncogene or anti oncogene *Genes Dev.* 4(1): 1-8, 1990.

[75] A Maity, WG Mckenna, Muschel Rj. The molecular basis for cell cycle delays following ionizing radiation: A review. *Radiother Oncol* 31: 1-13, 1994.

[76] J. R. Marks, A. M. Davidoff, B. J. Kerns, P. A. Humphrey, J. C. Pence, R. K. Dodge, D. L. Clarke-Pearson, J. D. Iglehart, R. C. Bast, Jr., And A. Berchuck, Ovarian Expression And Mutation of p53 In Epithelial Ovarian Cancer. *Cancer Research* 51: 2979-2984, 1991.

[77] J.A. Green, L.J. Robertson & A.H. Clark Clatterbridge Centre for Oncology, Merseyside L63 4JY; Glutathione-S-Transferase expression in benign and malignant ovarian tumors. *Br. J. Cancer* 68: 235-239, 1993.

[78] J. Kupryjańczyk, A D Thor, R Beauchamp, V Merritt, S M Edgerton, D A Bell, and D W Yandell. P53 gene mutations and protein accumulation in human ovarian cancer. *90(11): 4961-4965, 1993.*

[79] J.Jonathan, O. Herod, Aristides, Eliopoulos, Jane Warwick, Gerald Niedobitek, Lawrence S. Young and David J. Kerr. The Prognostic Significance of Bcl-2 and p53 Expression In Ovarian Carcinoma. *Cancer Research* 56: 2178-2184, 1996.

- [80] S.W. Baxter, E.J. Thomas and I.G. Campbell. GSTM1 null polymorphism and susceptibility to endometriosis and ovarian cancer. *Carcinogenesis*, 22(1): 63-65, 2001.
- [81] S. Oğuztüzün, M. Kılıç, N. Tandoğan, L. Öztürk. Usefulness of CA 15-3 for breast or ovarian primary sites in metastatic adenocarcinoma of pleural fluid. *Türk J Biol* 36: 171-175, 2012.
- [82] Strange RC, Fryer AA. The Glutathione S Transferases: influence of polymorphism on cancer susceptibility. *IARC Sci Publ.* 148: 231-49, 1999.
- [83] Fariba Abbasi, Arefeh Esmaili, Zahra Yekta, Abbas Saffarifar. Expression of p53 in ovarian epithelial tumors and its correlation with histopathological parameters. *28(1): 3-6*, 2016.
- [84] Karen S. Anderson, Jessica Wong, Allison Vitonis, Christopher P. Crum, Patrick M. Sluss, Joshua LaBaer and Daniel Cramer. Serous Potentials In Ovarian Cancer and p53 Autoantibodies As Prognostic Biomarkers In Serous Ovarian Cancer. *Cancer Epidemiology And Prevention Biomarkers.* 19(3): 859-868, 2010.
- [85] Toyomi Satoh Masato Nishida Hajime Tsunoda Takeshi Kubo. Expression of glutathione-s-transferase GSTP1 in human malignant ovarian tumors *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 96: 202-208, 2001.