

T.C.
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kolon Kanserinde GST Zeta-1, GST Sigma-1 ve P53 Ekspresyonlarının
İncelenmesi

IRMAK BULUT

Haziran 2018

Biyoloji Anabilim Dalında Irmak BULUT tarafından hazırlanılan KOLONKANSERİNDE GST ZETA-1, GST SİGMA-1 VE P53 EKSPRESYONLARININ İNCELENMESİ adlı yüksek lisans tezinin Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylarım.

Prof.Dr.İlhami TÜZÜN

Anabilim Dalı Başkanı

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

Prof. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN

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. Mustafa YİĞİTOĞLU

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

KOLON KANSERİNDE GST ZETA-1, GST SİGMA-1 VE p53 EKSPRESYONLARININ İNCELENMESİ

BULUT, Irmak

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN

Mayıs 2018, 0 sayfa

Bu çalışmada, 57 kolon adenokanserli ve normal kolon dokusunda Glutatyon S-Transferaz izozimlerinden sigma (GSTS1) ve zeta (GSTZ1) ayrıca p53'in protein ekspresyonları immünohistokimyasal metodla karşılaştırılmıştır. GST ekspresyonu ve p53 arasındaki ilişki Mann Whitney-U testi ile ve klinik parametrelerle ilişkisine spearman correlation rank testi ile bakılmıştır. Normal kolon ve adenokanserli kolon dokularında GSTS1, GSTZ1 ve p53 ekspresyonları karşılaştırıldığında kolon adenokanserli dokulardaki protein ekspresyonunun yüksek olduğu istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,05$). GSTS1, GSTZ1 ve p53 ile klinik parametreler (yaş, cinsiyet) arasında herhangi bir ilişki bulunamamıştır ($p > 0,05$). GSTS1, GSTZ1 ve p53 izozimlerinin az diferansiye, orta diferansiye ve iyi diferansiye kolon adenokanserli dokularında da istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar bulunmuştur ($p < 0,05$). Orta ve iyi differansiye kolon tümör hastalarında GSTS1, GSTZ1 ve p53 ekspresyonları normal dokuya göre daha fazla bulunmuştur ($p < 0,05$).

Anahtar kelimeler: Kolon Adenokarsinom, Glutathione S-transferase, p53, immünohistokimya

ABSTRACT

INVESTIGATION OF GST ZETA-1, GST SIGMA-1 AND p53 EXPRESSIONS IN COLON ADENOCANCER TISSUE

BULUT, Irmak

Kırıkkale University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology, M.Sc. Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN

June 2018, 48 pages

In this study we investigated the immunohistochemical staining characteristics S-of glutathione s-transferase sigma (GSTS1), and zeta (GSTZ1) , p53 in colon tumor and surrounding tumor free (normal) colon tissues from 57 patients. For immunohistochemical studiends, tissues were obtained from 57 patients with colon adenocarcinoma. Tumor and control tissues of patients were compared according to their staining intensity. Relationships between p53 and GST expressions in colon adenocarcinoma tissue were examined by the Mann Whitney-U test and the clinicopathological data were examined by the spearman correlation rank test. GSTZ1, GSTS1 and p53 expressions in colon cancer cells were significantly higher than those in colon normal epithelial cells ($p < 0.05$) In colon cancer patients the higher expresions of GSTS1, GSTZ1, and p53 proteins in tumor than nomal colon tissues could be important in colon cancer progressions and development. There was

no statistical relationship between p53 GSTS1 and GSTZ1 isoenzyme expressions and the clinicopathological data (age, gender) ($p > 0.05$). There was a statistically significant differences between GST, CYP isoenzymes expressions and tumor differentiation status. In moderate and good differentiated colon adenocarcinoma patients, GSTS1, GSTZ1 and p53 expressions were stronger than normal tissue ($p < 0.05$).

Keywords : Colon adenocarcinoma, glutathione –S-transferase,
p53, immunohistochemistry

TEŞEKKÜR

Bu tezin hazırlanmasında, ortaya çıkmasında ve yüksek lisans öğrenimim boyunca bilgi ve birikiminin yanı sıra maddi ve manevi desteğini benden esirgemeyen değerli hocam Sayın Prof. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN'e teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmamın deneysel kısmında doku kazanımı ve immünohistokimyasal boyama sonuçlarının değerlendirilmesinde bana yardımcı olan Keçiören Eğitim Araştırma Hastanesi Patoloji Uzmanı Sayın Doç. Dr. Gülçin GÜLER ŞİMŞEK'e teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmam boyunca sağladıkları imkanlardan dolayı Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Laboratuvarları Müdürlüğü'ne teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmamda desteğini hiçbir zaman esirgemeyen Annem,Babam,Kardeşim ve Eşime teşekkürlerimi iletmek isterim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	Sayfa
ÖZET	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
KISALTMALAR DİZİNİ	VIII
1.GİRİŞ	1
1.1.Kanser.....	1
1.2.Kolon Kanseri.....	5
1.2.1.Etiyoloji.....	5
1.2.2.Histopatoloji.....	6
1.2.3.Epidemiyoloji.....	6
1.2.4 Kolon Anatomisi.....	8
1.2.5.Kolon Tümörlerinin Sınıflandırılması	10
1.3.Toksik Maddelerin Matabolizması (Biyotransformasyon).....	14
1.3.1.Glutatyon-S-Transferaz	16
1.3.2.Glutatyon-S-Transferazların Sınıflandırılması.....	17
1.3.3.Zeta Sınıfı Glutatyon-S-Transferazlar.....	17
1.3.4 Sigma Sınıfı Glutatyon-S-Transferazlar.....	18
1.3.5.Glutatyon-S-Transferazların Substratları.....	18
1.3.6.Glutatyon-S-Transferazların Detoksifikasyondaki Rolü.....	19
1.4 P53 Proteini.....	20
1.5. Glutatyon S-Transferaz ve Kolon Kanseri.....	22

2.MATERYAL VE YÖNTEM	24
2.1.Materyal.....	24
2.1.1.Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	24
2.1.1.1.Solusyonların Hazırlanışı	24
2.1.2.Kullanılan Cihazlar	25
2.2.Kullanılan Metod.....	25
2.2.1.Materyal Kazanımı ve Hazırlanışı	25
2.2.2.İmmunohistokimya Prosedürü	30
2.3.İstatiksel Analiz.....	32
3. ARAŞTIRMA BULGULARI	33
4.TARTIŞMA VE SONUÇ	41
5. KAYNAKLAR	46

ÇİZELGELER DİZİNİ

ÇİZELGE	SAYFA
1.1 Yıllara ve Cinsiyete Göre Toplam Kansere İnsidansı, (100.000’de, Dünya Standart Nüfusu).....	2
1.2 Yıllara Göre Kadınlarda En Sık Görülen 10 Kansere Türünün İnsidansı,(100.000’de,Dünya Standart Nüfusu),Türkiye.....	3
1.3 Yıllara Göre Erkeklerde En Sık Görülen 10 Kansere Türünün İnsidansı,(100.000’de,Dünya Standart Nüfusu),Türkiye.....	4
1.4 Dünya Sağlık Örgütü’nün (WHO) son olarak düzenlediği kolon tümörlerinin histolojik sınıflandırılması	10
1.5 TNM’ye göre kolon kanseri evrelemesi.....	13
2. 1. Hastaların klinik verileri	27
2.2. Çalışmada kullanılan hastaların özellikleri (Yaş, cinsiyet, tanı ve tümör evre belirtilmiştir).....	28
3.1. GSTZ1 İzozimlerinin Kolon Kanserindeki Normal ve Tümörlü Dokulardaki İfadesi.....	33
3.2. GSTS1 İzozimlerinin Kolon Kanserindeki Normal ve Tümörlü Dokulardaki İfadesi.....	35
3.3. p53’ün Kolon Kanserindeki Normal ve Tümörlü Dokulardaki İfadesi.....	37
3.4 Kolon Adenokarsinomlu Hastaların Tümörlü ve Normal Dokularında GST İzozimlerinin ve p53 Proteinin Ekspresyon Farklılıkları.....	39

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL	SAYFA
1.2 Yıllara ve Cinsiyete Göre Toplam Kansere İnsidansı, (100.000'de, Dünya Standart Nüfusu).....	2
1.2 Yıllara Göre Kadınlarda En Sık Görülen 10 Kansere Türünün İnsidansı,(100.000'de,Dünya Standart Nüfusu),Türkiye.....	3
1.3 Yıllara Göre Erkeklerde En Sık Görülen 10 Kansere Türünün İnsidansı,(100.000'de,Dünya Standart Nüfusu),Türkiye.....	4
1.4 Kolon anatomisi.....	8
1.5. p53 proteininin formülü ve translasyon sonrası modifikasyon.....	20
1.6 P53 ve Hücreyel Yanıt.....	21
3.1. Normal hücrelerde zayıf şiddette (+1) ve Kolon Adenokarsinomlu hücrelerde orta şiddette (+2) immunohistokimyasal GSTZ1 proteini ekspresyonu (X100).....	34
3.2. Kolon normal hücrelerde ve Adenokarsinomlu hücrelerde zayıf şiddette (+1)immuno histokimyasal GSTS1 proteini ekspresyonu (X4).....	36
3.3. Kolon Adenokarsinomlu hücrelerde orta şiddette (+2) immuno histokimyasal p53 proteini ekspresyonu (X400).....	38

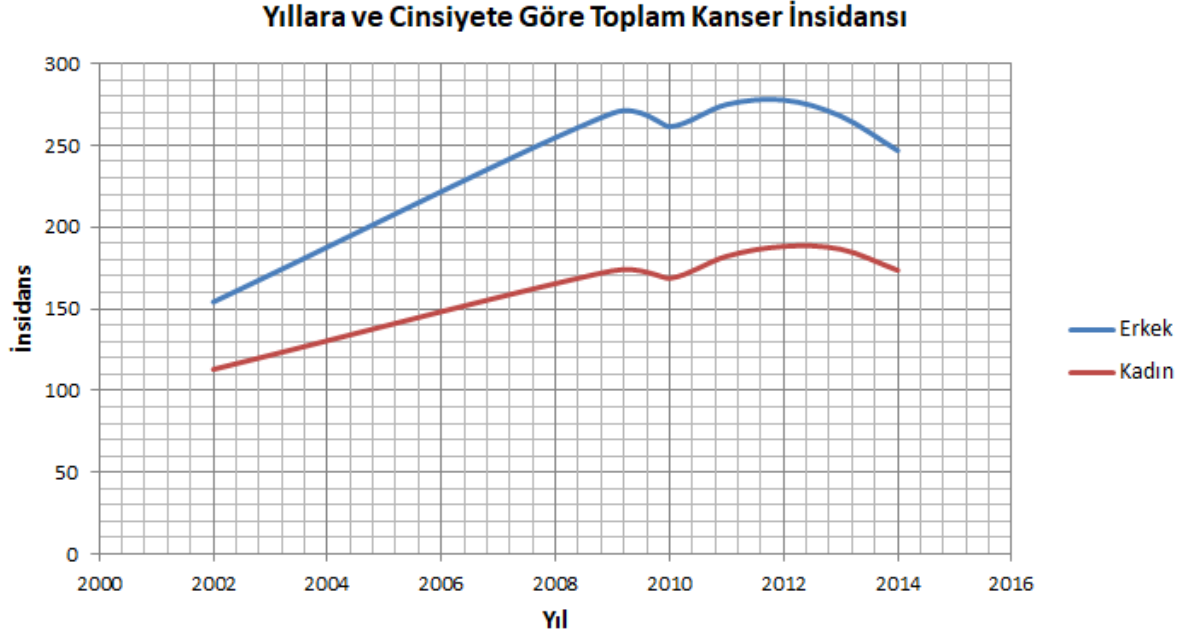
KISALTMALAR DİZİNİ

WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
TNM	: T:Primer tümör; N:Bölgesel lenf bezi; M:Uzak metastaz
CYP	: Sitokrom p450
GST	: Glutasyon S-Transferaz
GSH	: γ - Glutamil Sisteinil Glisin = Glutasyon
PAH	: Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar

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]. 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 [2]. Hücreler doğar, 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 [3]. Kanser aynı zamanda neoplazma olarak adlandırılan tümörleri oluşturan anormal hücrelerin kontrolsüz bir şekilde büyümesi olarak tanımlanmaktadır. İki çeşit tümör bulunmaktadır. Bunlar; vücutta yayılan yani metastaz özelliğine sahip malign (kötü huylu) tümörler ve vücutta yayılmayan benign (iyi huylu) tümörlerdir [4]. 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 [5].



Şekil 1.1 Yıllara ve Cinsiyete Göre Toplam Kanser İnsidansı, (100.000’de, Dünya Standart Nüfusu)

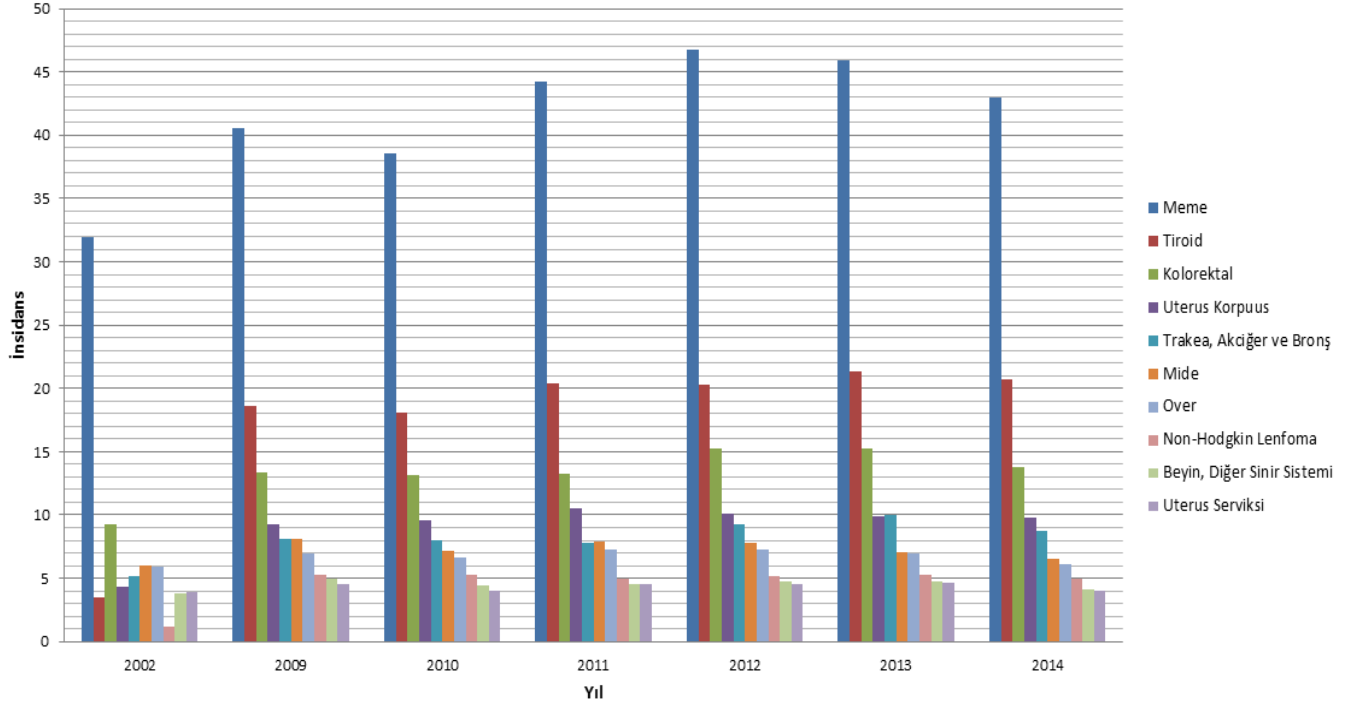
Çizelge 1.1 Yıllara ve Cinsiyete Göre Toplam Kanser İnsidansı, (100.000’de, Dünya Standart Nüfusu)

	2002	2009	2010	2011	2012	2013	2014
Erkek	154,2	269,7	261,4	275,0	277,7	267,9	246,8
Kadın	113,0	173,3	168,7	182,2	188,2	186,5	173,6
Toplam	133,5	221,5	215,1	228,6	233,0	227,2	210,2

Kaynak: Türkiye Halk Sağlığı Kurumu

Not:2009 yılından önceki verilere kapsamı ve kalitesi açısından ihtiyatla yaklaşılmalıdır

Yıllara Göre Kadınlarda En Sık Görülen 10 Kanser Türünün İnsidansı

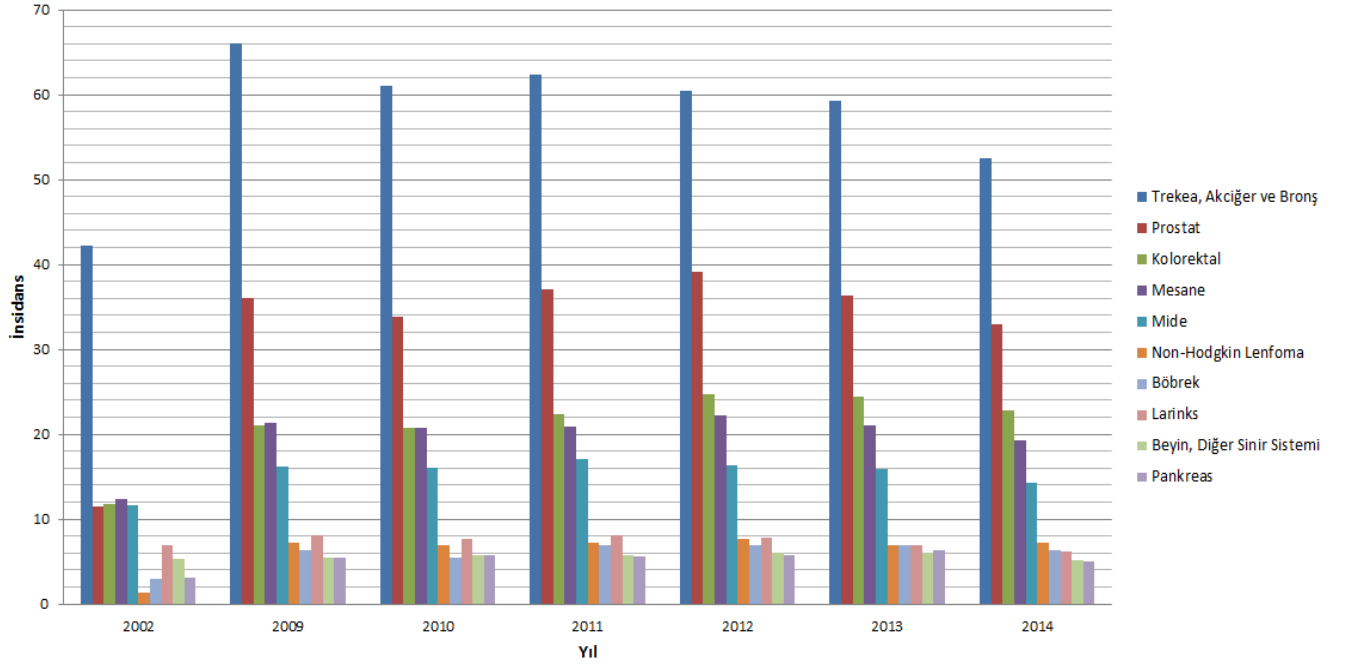


Şekil 1.2 Yıllara Göre Kadınlarda En Sık Görülen 10 Kanser Türünün İnsidansı, (100.000’de, Dünya Standart Nüfusu), Türkiye

Çizelge 1.2 Yıllara Göre Kadınlarda En Sık Görülen 10 Kanser Türünün İnsidansı, (100.000’de, Dünya Standart Nüfusu), Türkiye

	2002	2009	2010	2011	2012	2013	2014
Meme	31,9	40,6	38,6	44,2	46,8	45,9	43,0
Tiroid	3,5	18,6	18,1	20,4	20,3	21,3	20,7
Kolorektal	9,3	13,4	13,1	13,3	15,2	15,3	13,8
Uterus Korpusu	4,3	9,3	9,6	10,5	10,1	9,9	9,8
Trakea, Akciğer ve Bronş	5,2	8,1	8,0	7,8	9,3	10,0	8,7
Mide	6,0	8,1	7,2	7,9	7,8	7,1	6,5
Over	5,9	6,9	6,6	7,3	7,3	7,0	6,1
Non-Hodgkin Lenfoma	1,2	5,3	5,3	5,0	5,2	5,3	5,0
Beyin, Diğer Sinir Sistemi	3,8	5,0	4,4	4,5	4,7	4,7	4,1
Uterus Serviksi	3,9	4,5	4,0	4,5	4,5	4,6	4,0

Yıllara Göre Erkeklerde En Sık Görülen 10 Kanser Türünün İnsidansı



Şekil 1.3 Yıllara Göre Erkeklerde En Sık Görülen 10 Kanser Türünün İnsidansı, (100.000’de, Dünya Standart Nüfusu), Türkiye

Çizelge 1.3 Yıllara Göre Erkeklerde En Sık Görülen 10 Kanser Türünün İnsidansı, (100.000’de, Dünya Standart Nüfusu), Türkiye

	2002	2009	2010	2011	2012	2013	2014
Trakea, Akciğer ve Bronş	42,2	66,0	61,0	62,3	60,4	59,3	52,5
Prostat	11,5	36,1	33,8	37,1	39,2	36,4	32,9
Kolorektal	11,8	21,0	20,7	22,4	24,7	24,4	22,8
Mesane	12,4	21,4	20,7	20,9	22,3	21,1	19,3
Mide	11,6	16,2	16,1	17,1	16,4	15,9	14,3
Non-Hodgkin Lenfoma	1,4	7,2	7,0	7,2	7,7	6,9	7,2
Böbrek	3,0	6,3	5,5	6,9	7,0	7,0	6,4
Larinks	6,9	8,1	7,7	8,1	7,8	7,0	6,2
Beyin, Diğer Sinir Sistemi	5,3	5,4	5,7	5,7	6,1	6,1	5,2
Pankreas	3,1	5,4	5,7	5,6	5,8	6,3	5,1

1.2 Kolon Kanseri

Kolorektal adenokarsinomun tanımlayıcı özelliği muskularis mukozayı aşarak submukozaya girmesidir. İyi, orta ya da az derecede diferansiye olup, değişik miktarlarda müsin sekrete eden bir tümördür. Tümör; seyrek endokrin hücreler, goblet hücreleri, kolumnar hücreler ve çok nadir Paneth hücrelerinin kombinasyonundan oluşmaktadır. Gland lümenleri sıklıkla hücre kalıntıları içerir. Tümör çevre stromasında desmoplastik ve inflamatuvar reaksiyon sıklıkla belirgindir ve de metaplastik değişiklikler de görülebilir. İnflamatuvar hücrelerin büyük bir kısmını T lenfositler oluşturur, arada B lenfositler, histiositler, plazma hücreleri ve S-100 protein pozitif dentritik hücreler de görülür[6]

1.2.1.Etiyoloji

Kolorektal kanserin aile geçmişi ve kişisel kolorektal kanser, kolorektal polipler veya kronik inflamatuvar bağırsak hastalıkları geçmişi kolorektal kanser riski başlıca risk faktörleridir [7,8]. Kolorektal kanserli birinci dereceden akrabası olan kişilerin kolorektal kanser olma riski yüksektir [8,9,10,11].

Kolorektal kanserli kişilerde ilk kanser tamamen ortadan kalkmış olsa bile kolon ve rektumun diğer bölgeleri yeni kanserlerin gelişimi için oldukça uygundur. Eğer ilk kolorektal kanser 60 yaşında veya daha gençken olmuşsa, ikinci kanser riski daha fazladır [8]. Bir ya da daha fazla adenomatöz polipleri olanların kolorektal kanser riski artmaktadır [8,9,11]. Önemli süreklilikte (8-10 yıl) ve tüm bağırsağı kapsayan kronik iltihabi bağırsak hastalığı olanlarda da kolorektal kanserin gelişme riski artmaktadır [8].

Kolorektal kanserin gelişmesi beslenme alışkanlığıyla da son derece alakalıdır [12]. Epidemiyolojik çalışmalar düzenli sebze ve lif alımının riski azalttığını; kırmızı et, yağ ve alkol tüketiminin ise riski önemli oranda arttırdığını kanıtlamıştır [12,13].

Yaş da önemli bir risk faktörüdür. Kolorektal kanser %90 oranında 50 yaşından sonra görülmektedir [14].

Sigara ve alkol kullanımı kolorektal kanser riskiyle bağlantılıdır. Aşırı alkol tüketimi yüksek bir risk faktörüdür [13]. Sigaranın da kolorektal adenomlar ve karsinomların oluşumuyla ilişkili olduğu saptanmış olup, risk hem dozla hem de sigaraya başlanmasından itibaren geçen sürenin uzunluğuyla ilişkilidir [10].

1.2.2.Histopatoloji

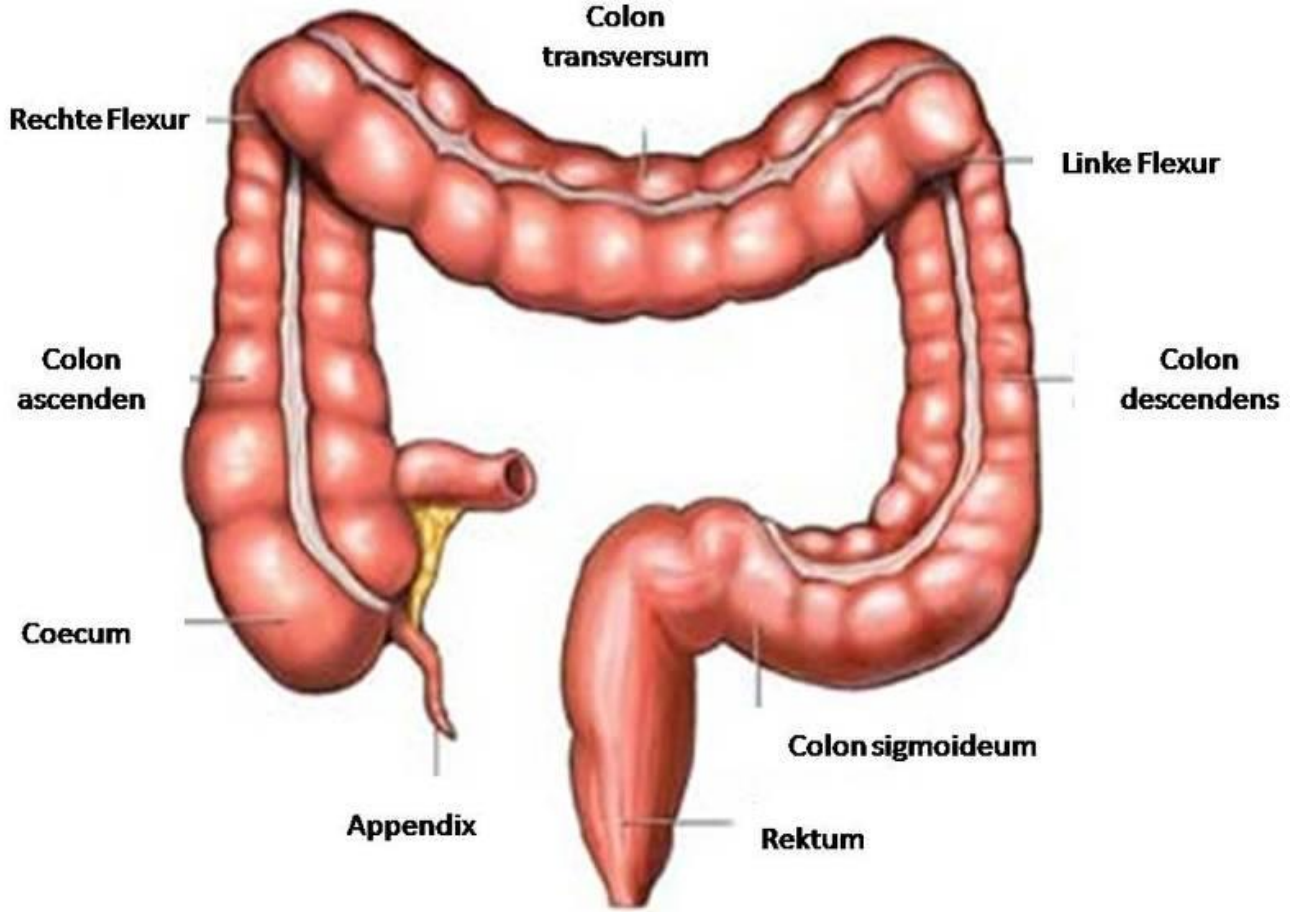
Kolorektal kanser adenom zemininden yıllar veya 10 yıllar içinde karsinoma dönüşür ve %85-90'ı adenokanser tipindedir. Adenokanserler atipik tümör hücrelerinin değişik boyutlarda ve şekillerde adenoid yapıları oluşturması ile karakterizedir. Adenoid oluşturma özelliğine ve yaygınlığına dayanılarak iyi diferansiye, orta derecede diferansiye ve az diferansiye olarak derecelendirilir [15].

1.2.3. Epidemiyoloji

Kanserden ölüm nedenleri sıralamasında erkeklerde akciğer kanserinden sonra kadınlarda meme kanserinden sonra ikinci sırayı almaktadır ([16]. Kolorektal kanser, Kuzey Amerika, Batı Avrupa, İskandinavya, Yeni Zelanda ve Avustralya gibi gelişmiş ülkeler başta olmak üzere tüm dünyada yaygın olarak rastlanan ve kanser ile ilişkili ölümlerin yaklaşık

%10'undan sorumludur [17]. En yüksek görülme oranları Avustralya, ABD ve Yeni Zelanda'da; en düşük oranlar ise Hindistan, Güney Amerika ve Ortadoğu ülkelerinde görülmektedir[18]. 1999 yılı Sağlık Bakanlığı verilerimize göre ülkemizde kolorektal kanserler tüm kanserler arasında insidans açısından erkeklerde dördüncü, kadınlarda ise ikinci sırada gelmektedir. İnsidans, erkeklerde yüzbinde 1,68, kadınlarda yüzbinde 1,28 olarak bildirilmektedir. Kolon kanser sıklığı aynı ülkede yörelere ve topluluklara göre farklılıklar göstermektedir. Bu farklılığın diyet ve çevresel faktörlerin farklılık göstermesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Düşük riskli bölgelerden yüksek riskli bölgelere göç edenlerde risk artmaktadır Kolon kanserinin üçte ikisi sol kolonda, üçte biri sağ kolonda görülmekte, %3'ünde aynı anda birden fazla odakta birden belirmektedir (Kolorektal kanserin erkek/kadın oranı 1,34'tür. Hayat boyu kolorektal kanser görülme oranı erkeklerde % 6,14, kadınlarda % 5,92'dir Yaşın ilerlemesi ile kolon kanseri gelişme riski arasında doğru orantı vardır. Genel popülasyonda 40 yaşından sonra kolon kanser gelişme riski artmaya başlar ve her dekatta katlanarak artar. Kolon kanserinin %90'dan fazlası 50 yaşından sonra geliştiğinden, tarama programlarını başlatma yaşı buna göre belirlenmiştir. En sık hastalık görülme yaşı 60-65'tir ve ortalama tanı yaşı 62'dir [19].

1.2.4 Kolon Anatomisi



Şekil 1.4 Kolon Anatomisi

Kolon gastrointestinal sistemin ileoçekal valvile rektosigmoid köşe arasında kalan yaklaşık 150 cm'lik bölümüdür. Sırasıyla çekum, çıkan kolonun, transvers kolon, inen kolon ve sigmoid kolon ile devam ederek rektosigmoid köşede rektum ile birleşir. Kolon duvarının katları: mukoza, submukoza, iç sirküler kas, dış longitudinal kas ve serozadır. Kolonun dışında 3 adet aralarında 120 derece olan tinea koli'ler vardır, bunlar appendikste birleşirler, proksimal rektumda sakral promontorium hizasında uzaklaşarak kaybolurlar. Haustra koli'ler, tinear arası keseleşmelerdir ve yarım ay şekilli plica semilunareslerle ayrılırlar.

Appendiks epiploikalar yağlı çıkıntılar olup tinealara tutunmuşlardı. Omentum, transvers kolona antero superior kenardan yapışır. Kolonun retroperitoneal kısımları: çıkan-inen kolon-hepatik ve splenik fleksuraların arka yüzleridir; intraperitoneal yapılar ise: transvers kolon - çekum ve sigmoid kolondur. Embriyolojik olarak çekum, çıkan kolon, transvers kolonun sağ yarısı midguttan gelişirken, transvers kolonun sol yarısı, inen kolon ve sigmoid kolon, rektum ve anüs hindguttan gelişmiştir. Klinik kullanım kolaylığı açısından ilk kısma sağ kolon son kısma sol kolon denilmektedir [20].



1.2.5. Kolon Tümörlerinin Sınıflandırılması:

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) son olarak düzenlediği kolon tümörlerinin histolojik sınıflandırılması aşağıda gösterilmiştir. (ÇİZELGE 1.4)



EPİTELYAL TÜMÖR

•Premalign lezyonlar

*Adenom

- Tübüler
- Villoz
- Tübülovilloz

Düşük dereceli glanduler intrepitelyal neoplazi
Yüksek dereceli glanduler intraepitelyal neoplazi

*Serrated lezyonlar

- Hiperplastik polip
- Sesil serrated adenoma/polip
- Traditional serrated adenom

*Hamartomlar

- Cowden-ilişkili polip
- Juvenil polip
- Peutz-Jegher polip

• Karsinomlar

*Adenokarsinom

- Musinoz adenokarsinom
- Taşlı yüzük hücreli adenokarsinom
- Serrated adenokarsinom
- Mikropapillar karsinoma
- Meduller karsinom
- Kribriform komedo-tip adenokarsinom

*Skvamoz hücreli karsinom

- Adenoskuamoz karsinom
- Spindle hücreli karsinom
- Andiferansiye karsinom

•Nöroendokrin neoplazmlar

*Nöroendokrin tümör (NET)

- NET G1(Carcinoid)
- NET G2

*Nöroendokrin karsinoma(NEC)

- Büyük hücreli NEC
- Küçük hücreli NEC

Mikst adenonöroendokrin karsinom

EC hücre, serotonin üreten neoplazm
L hücre, glukagon benzeri peptid ve PP/PYY
oluşturan NETs

MEZENKİMAL TÜMÖRLER	<ul style="list-style-type: none">•Leiomiyom•Lipom•Gastrointestinal stromal tumor•Leiomiyosarkom•Anjiosarkom•Kaposi sarkom
LENFOMALAR	<ul style="list-style-type: none">•Diffüz büyük B hücreli lenfoma•MALT tipi marjinal zon B hücreli lenfoma•Mantle hücreli lenfoma•Burkitt lenfoma•Burkitt” benzeri “atipik Burkitt” lenfoma•Diğer

ÇİZELGE-1.5 TNM'ye göre kolon kanseri evrelemesi

Primer tümör (T)					
TX	Primer tümör değerlendirilememiş				
T0	Primer tümör saptanamamış				
Tis	İn situ karsinom (intraepitelyal veya intramukozal)				
T1	Tümör submukozayı invaze eder				
T2	Tümör muskularis propria'yı invaze eder				
T3	Subseroza veya perikolik veya perirektal dokulara invazyon				
T4a	Tümör visceral periton yüzeyini invaze eder				
T4b	Direkt olarak diğer organları veya yapıları invaze eder				
Regional lenf nodu (N)					
NX	Regional lenf nodları değerlendirilememiş				
N0	Regional lenf nodu metastazı yok				
N1	1-3 regional lenf nodu metastazı var				
N1a	1 regional lenf nodu metastazı var				
N1b	2-3 regional lenf nodu metastazı var				
N1c	Regional lenf nodu metastazı olmadan subseroza, mezenter veya peritonsuz perikolik veya perirektal tümör adacıkları				
N2	≥4 regional lenf nodu metastazı var				
N2a	4-6 regional lenf nodu metastazı var				
N2b	≥7 regional lenf nodu metastazı var				
Uzak metastaz (M)					
M0	Uzak metastaz yok				
M1	Uzak metastaz				
M1a	Bir organ veya bölgeye sınırlı metastaz (örn., karaciğer, akciğer, over, regional olmayan lenf nodu)				
M1b	Birden fazla organ/bölge veya periton metastazı				
Evreleme					
Evre	T	N	M	Dukes	MAC
0	Tis	N0	M0	-	-
I	T1	N0	M0	A	A
	T2	N0	M0	A	B1
IIA	T3	N0	M0	B	B2
IIB	T4a	N0	M0	B	B2
IIC	T4b	N0	M0	B	B3
IIIA	T1-2	N1/N1 c	M0	C	C1
	T1	N2a	M0	C	C1
IIIB	T3-T4a	N1:/N1c	M0	C	C2
	T2-T3	N2a	M0	C	C1/C2
	T1-T2	N2b	M0	C	C1
IIIC	T4a	N2a	M0	C	C2
	T3-T4a	N2b	M0	C	C2
	T4b	N1-N2	M0	C	C3
IVA	T1-4	N0-2	M1a	-	-
IVB	T1-4	NO-2	M1b	-	-

1.3 Toksik Maddelerin Metabolizması (Biyotransformasyon)

Çeşitli yollarla organizmaya giren lipofilik kimyasal maddeler enzimlerin katalitik etkisi ile kimyasal reaksiyonlara girer ve daha polar ve hidrofilik metabolitlere dönüştürülürler. Bir ksenobiyotiğin canlı organizmada uğradığı bu kimyasal değişimlerin tümüne biyotransformasyon denir. Biyotransformasyon sonucu oluşan ürünler safra ve böbreklerden daha kolay atılır. Ksenobiyotikler, biyotransformasyon ile değişik etki gösteren metabolitlere dönüşür ve sonra da konjugasyon reaksiyonları ile inaktif hale gelerek vücuttan atılır. Genel olarak ksenobiyotik veya metabolitlerinin bu son mekanizma ile transformasyonları sonucu toksisitesi azalıyor veya ortadan kalkıyorsa bu olaya “detoksifikasyon” denir; bazı durumlarda ise kimyasal maddenin biyotransformasyonu ile çok aktif ara metabolitler oluşabilir. Bu reaktif ara ürünlerin oluşmasına “toksikasyon” veya “biyoaktivasyon” denir [21].

Ksenobiyotiklerin metabolizması iki fazlı bir işlemdir: I. Faz reaksiyonları daha çok karaciğerde gerçekleştirilir ve oksidasyon, redüksiyon, hidroliz reaksiyonlarından oluşur. Bu reaksiyonlar CYP enzimlerinin de dahil olduğu mikrozomal enzimler tarafından katalizlenir. Sınırlı olmakla birlikte akciğer, böbrek, barsak, testis, deri, plasenta, adrenal bezde de I. faz reaksiyonu gerçekleşebilir. I. Faz reaksiyonu ile lipitte çözünen ksenobiyotikler daha polar hale geçerler [22,23] II. Faz reaksiyonları ise birçok sitozolik enzim tarafından yürütülen konjugasyon reaksiyonlarıdır. II. Faz reaksiyonları ile ilişkili en az 5 tip reaksiyon vardır. Bunlar; glukuronik asitle konjugasyon, sülfat konjugasyonu, glutatyon ile konjugasyon, asetilasyon ve metilasyondur. Birinci fazda oluşan polar metabolitler, ikinci faz reaksiyonları

ile glukronik asit, glutatyon, sülfat gibi endojen maddelerle konjugasyona uğrayıp vücuttan atılırlar. Birinci fazda oluşan polar metabolitler, endojen maddelerle birleşerek inaktif şekilde eliminasyona uğrarlar [21].

Karsinojenik etkilerden hücrenin korunmasında detoksifikasyon mekanizmalarının büyük önemi vardır. Detoksifikasyon (biotransformasyon), 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 eleme 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 etkilerden korunmasını sağlar.

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

1.3.1 Glutasyon S-Transferaz (GST)

Glutasyon S-transferazlar, elektrofilik ve hidrofilik bileşiklerin glutasyon ile etkileşimlerini sağlayarak, hücrel makromolekülleri reaktif elektrofillere karşı koruyan Faz-II detoksifikasyon enzim ailesi üyesidir. Molekül ağırlıkları 20.000-25.000 daltondur ve her bir alt birim 200-240 aminoasitten oluşur. İlk kez sıçan karaciğerinde Boyland ve ark tarafından tanımlanmıştır [24].

GST'ler kataliz reaksiyonlarında, elektrofilik substratlar üzerine glutasyon (GSH) tripeptidin nükleofilik atağını kataliz ederler. Bunun yanında oksidasyonla oluşan ürünlerin ya da dışarıdan alınan yabancı toksik maddelerin, vücutta bulunan diğer makromoleküller ile birleşmesini önleyip, hücre komponentlerine zarar vermeden atılmasını sağlarlar. Bu yüzden GST'ler, çok önemli koruyuculuk görevi gören enzim gruplarından biridir [25].

Glutasyon S-transferazlar; mitokondriyal, sitosolik ve mikrozomal olmak üzere üç aileye ayrılırlar. Mitokondriyal ve sitosolik GST'ler üç boyutlu katlanmaları açısından birbirlerine benzerler ve çözünebilen GST'ler olarak isimlendirilirler. Bu gruptaki GST'ler fazla sayıda izoenzime sahiptirler; bu izoenzimler farklı dokularda farklı miktarlarda bulunabilirler. Çözünebilir GST izoenzimleri birbirlerinden izoelektrik noktaları ve aminoasit dizileri arasındaki farklılıklarla ayrılırlar. Mikrozomal GST'ler, (MAPEG) çözünebilir gruplara yapısal benzerlik göstermezler, bu yüzden mitokondriyal GST formları ve primer yapıları farklıdır [26].

1.3.2. Glutasyon S-Tranferazların Sınıflandırılması

Primer yapılarına, enzimatik özelliklerine, antikorlarla ilgili reaksiyonlarına, yapısal karakteristiklerine, kimyasal affinitelerine, aminoasit dizilerine ve enzimlerin kimyasal davranışlarına göre GST'ler sitozolik, mikrozomal ve mitokondriyal olmak üzere üç ailede sınıflandırılmıştır. Buna göre sitoplazmik GST'ler: GST Alfa (GSTA1-1, GSTA2-2, GSTA3-3, GSTA4-4, GSTA5-5), GST Mü (GSTM1-1, GSTM 2-2, GSTM3-3, GSTM4-4, GSTM5-5), GST Pi (GSTP1-1), GST Sigma (GSTS1-1), GST Teta (GSTT1-1, GSTT2-2), GST Zeta (GSTZ1-1), ve GST Omega (GSTO1-1, GSTO2-2) olmak üzere 7 sınıfa, eicosanoid ve glutasyon metabolizmasında membrana bağlı proteinler (MAPEG: Membrane-Associated Proteins in Eicosanoid and Glutathione metabolism) olarak da adlandırılan mikrozomal GST'ler; MGST1, MGST2 ve MGST3 olarak üç sınıfa ve son olarak mitokondriyal GST sınıfını oluşturan GST Kappa (GSTK1-1) olmak üzere toplam 11 sınıfta incelenmektedir [27].

1.3.3 Zeta Sınıfı Glutasyon-S-Transferazlar

GST Z1 (maleyasetoasetat izomeraz olarak da bilinir), insanlarda 14 numaralı kromozom üzerinde GSTZ1 geni tarafından kodlanan bir enzimdir. Bu gen, glutasyon ile konjugasyon yoluyla kanserojen, mutajen ve çeşitli terapötik ilaçlar da dahil olmak üzere elektrofilik moleküllerin detoksifikasyonunda önemli olan çok işlevli enzimleri kodlayan glutasyon S-transferaz (GST) süper ailesinin bir üyesidir. Bu enzim ayrıca fenilalanin ve tirozin katabolizmasında önemli bir rol oynar. Bu nedenle, bu enzimdeki kusurlar alkaptonuri, fenilketonüri ve tirozinemi gibi ciddi metabolik bozukluklara yol açabilir ve yeni bulgular enzimin oksidatif strese bağlı bazı hastalıklara karşı korunmasına izin verebilir [28].

1.3.4 Sigma Sınıfı Glutasyon-S-Transferazlar

Sigma sınıfına ait GST'lerden ve Mu, Pi ve Alfa sınıfından GST'ler de dahil olmak üzere benzer proteinlerden oluşur. GST'ler, kanserojen, terapötik ilaçlar, çevresel toksinler ve oksidatif stres ürünü içeren geniş bir yelpazedeki endojen ve ksenobiyotik alkilleyici ajanlarla glutasyon (GSH) konjugasyonunu katalize ederek hücrel detoksifikasyona katılan sitosolik dimerik proteinlerdir. GST katlaması, bir N-terminal tioredoksin katlama bölgesi ve bir C terminali alfa helikal bölgesi içerir ve iki alan arasında bir yarıktan bulunan bir aktif bölge bulunur. GSH, N-terminal alanına bağlanırken, hidrofobik substrat C-terminal alanındaki bir cebe kaplar. Omurgalı sınıfı Sigma GST'leri, GSH'ye bağlı hematopoietik prostaglandin (PG) D sentezleri olarak karakterizedir ve PGH₂'nin izomerleşmesini katalize ederek PGD₂ üretiminden sorumludur.

PGD₂'nin işlevleri, vücut sıcaklığının korunması, trombosit agregasyonunun inhibisyonu, bronkokonstriksiyon, vazodilatasyon ve alerji ve inflamasyonunda aracılık yapar [29].

1.3.5. Glutasyon S-Transferazların Substratları

GST enzimleri kemoterapötik ilaçlar (sisplatin, fosfomisin, klorambust vb), endojen moleküller (adenin propenal, dopaminokren, aminokrom vb) ve çevresel karsinojenler (bütodien, akrolein, etilenoksit vb) olmak üzere ksenobiyotiklerin geniş bir spektrumunu detoksifiye ederler [30]

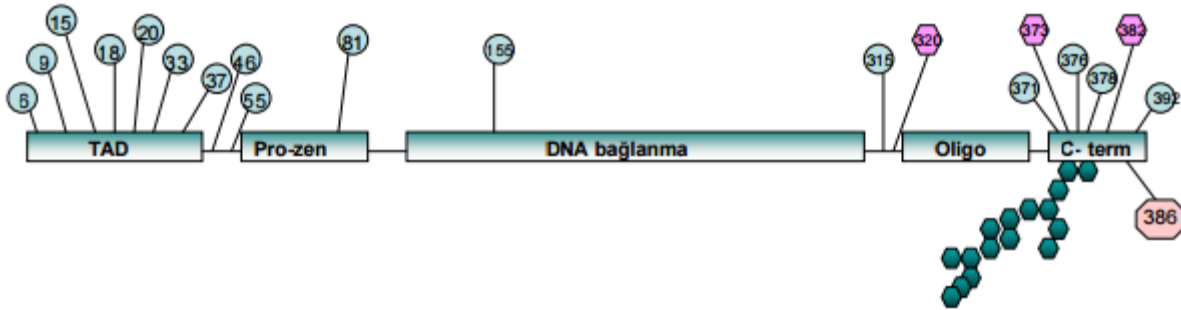
GSTA için organik hidroperoksitler, GSTP için etakrinik asit, GSTT için 1,2-epoksi-3-(p-nitro feroksi) propen, GSTM için 1,2-dikloro-4-nitrobenzen, GSTZ için z-bütül hidro peroksit, GSTS için ise 1-kloro-2,4-dinitrobenzen GST izozimlerinin spesifik substratlarıdır [31]

1.3.6. Glutasyon S-Transferazların Detoksifikasyondaki Rolü

GST'ler birçok ksenobiyotik, kanserojen ve sitotoksik ajanların metabolizmasından sorumlu enzimlerdir. Bu enzimler, konjugasyon reaksiyonlarında GSH'ın organik bileşiklerle reaksiyona girip tiyoester oluşmasını ya da detoksifikasyonun ilk basamağında yer alarak merkaptürik asit oluşumunu katalizler. Bu reaksiyonlar sonucu merkaptürik asit vücuttan idrarla atılır [35] Ayrıca GST'ler hücrede lipit peroksidasyon ve serbest radikal oluşumu ile oluşan ürünlerin detoksifikasyonunda da rol alırlar [32]

1.4. P53 Proteini

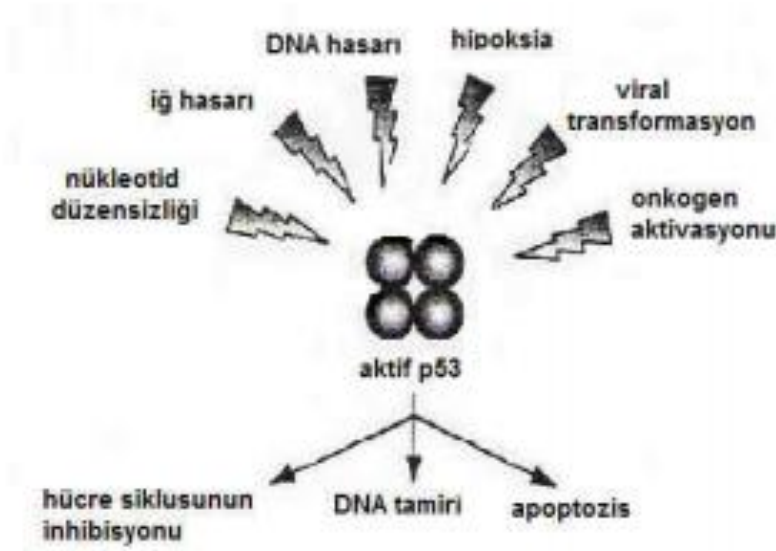
İnsan p53 proteini 393 aminoasit içermektedir ve son yıllardaki makalelerde moleküler ağırlığının 43.6 kDa olduğu belirtilmektedir. Bir transkripsiyon faktörü olarak bilinen p53, özgül özelliklere sahip farklı, ancak birbiriyle ilişkili işlevsel domainlere sahiptir. p53'ün transaktivasyon domaini (TAD; 1-42 aminoasit) proteinin N terminal ucunda bulunmaktadır. TAD'in ardından prolince zengin bir bölge gelmektedir. Bu dizinin ardından p53'te merkezi rolü üstlenen DNA bağlanma bölgesi bulunmaktadır. [33] p53'ün C terminali, esnek bağlanma bölgesi ve temel olarak C terminalini düzenleyen oligomerizasyon domainini içermektedir. (Şekil-3.1)



Şekil-1.5. p53 proteininin formülü ve translasyon sonrası modifikasyonu

1.4.1. P53 ve Hücresel Yanıt

Hücre, DNA hasarı gibi bir durumla karşılaştığında bu hasar çok çeşitli mekanizmalarla giderilmeye çalışılmaktadır. DNA hasarı söz konusu olduğunda P53 tümör baskılayıcı gen ürünü olan p53 aktive edilmekte ve bu da hücre siklus inhibisyonu, apoptozis, DNA tamiri ve yaşlanmayı içeren antiproliferatif bir etkiye neden olmaktadır [34]. Bir transkripsiyon faktörü olarak görev yapan p53, DNA hasarı, hipoksi, viral transformasyon, onkogen aktivasyonu, iğ hasarı, nükleotid düzensizliği gibi hücrede meydana gelen bir çok bozukluk sonrası aktive edilerek hasarlı hücrenin proliferatif yayılımını engelleyecek olan gen ekspresyon programını başlatmaktadır. Böylece organizmayı kanser gelişimine karşı korumaktadır. (Şekil 3.2) [35,36,37,38,39,40]



Şekil-1.6. P53 ve Hücresel Yanıt

p53 çeşitli stres koşullarıyla aktive edilir ve sonuçta p53 aracılı hücre siklus inhibisyonu ya da apoptoz gerçekleştirilir. (Leena Latonen, Marikki Laiho, 2005). Olumsuz koşullar sonrasında meydana gelen hasarların çeşitli hücreyel yollarla düzeltilmeye çalışıldığı bilinmektedir. Hücrede hasar oluşumundan sonra bu hücrenin akıbeti ile ilgili 3 temel olasılık bulunmaktadır. Hücrede meydana gelen hasar çeşitli tamir mekanizmalarıyla tamir edilmeye çalışılacak, veya hasar tamir edilmezse organizmanın korunması için hasarlı hücrenin ölümü gerçekleştirilecek ya da hücre bu hasarı ortadan kaldıramayarak çeşitli mutasyonları biriktirecek ve karsinogenez meydana gelecektir. p53, hücrenin akıbetini ilgilendiren bu 3 temel olayla yakından ilişkilidir. p53, DNA hasarı söz konusu olduğunda hücre döngüsünü durduran, DNA'nın tamirini gerçekleştiren ve hücreyi apoptozise yönlendiren çeşitli yolları harekete geçirmekten sorumludur. Aynı zamanda p53'ün hücreyi senesense ve farklılaşmaya yönlendirdiği de yapılan çalışmalarla gösterilmiştir.

1.5. Glutasyon S-Transferaz ve Kolon Kanseri

Nakajima ve arkadaşları 41 ozafagus kanserli hastada 1996 yılında yapılan çalışmada immunoblot ve enzim assay metoduyla çalışılmıştır. Tüm örneklerde GSTP1, GSTM1 ve GSTA1 kan serumlarında polimorfik olarak bulunmuştur. Sonucunda kanserli hastalarda GSTA1'in GSTM1 den daha fazla ekspresse olmuş, GSTP1 ile alkol ve sigara içimi arasında bir ilişki bulunamadığını belirtmişlerdir [41]

Lieshout ve arkadaşları 1999 yılında yaptıkları çalışmada GSTA ve GSTP izozimlerinin immunohistokimyasal metotla çalışmış ve normal gastrointestinal dokusunda (epitelinde) negatif ve 75% e kadar pozitiflik, barret epitelinde 75% ile 100 arasında, adenocarcinoma 25% ile 100% arasında, skuamoz hücreli karsinomda 27% ile 91% arasında ekspresyon göstermiştir [42]

Piao ve ark. 2009 yılında yaptıkları çalışmada GSTM1 ve GSTT1 null genotiplerinin 2213 gastrik kanserli ve 1829 kolorektal kanserli, 1699 kontrol grubu bulunan Koreli hasta grubunda kanser olma riskini polimorfik olarak ilişkilendirilmiştir. GSTM1 ve GSTT1 null genotipli bireylerin gastrik ve kolorektal kanser olma riskleri arttırmamıştır, sigara içimi, alkol kullanımı ve yaş bu riski değiştirmemiştir [43]

Yapılan bir başka çalışmada Kiss ve ark. 500 kolorektal kanserli ve 500 kontrol gurubunda GSTM1 in null olması kolorektal kanser olma riskini arttırdığını ancak GSTT1 ve GSTP1 kolorektal kanser olma riskiyle bir ilişkisi olmadığını vurgulamışlardır [44]

Yapılan bu tez çalışmasında amaç kolon kanserli hastaların tümörlü dokularında ve aynı hastanın tümörlü dokulara uzak periferde bulunan normal dokularında ksenobiyotik mekanizmasının II. Faz reaksiyonlarını katalizleyen GST enzim ailesinden GSTS1 ve GSTZ1 izozimlerinin ve p53 proteininin immunohistokimyasal farklılıkları incelenerek, kolon kanserinin patogeneğinde ksenobiyotik mekanizmasının rolünün aydınlatılması ve bulguların klinik parametrelerle (yaş, cinsiyet, sigara içimi) karşılaştırılması amaçlanmıştır.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

2.1.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Primer Antikor (GSTS1, GSTZ1, 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 (Santa Cruz)
- ABC HRP (Avidin Biotin Complex Horse Radish Peroxidase) (Santa Cruz)
- Hematoksilen (Shandon)
- DAB (Diamino benzidin) (Santa Cruz)

2.1.1.1. Solusyonların Hazırlanışı

- I. H₂O₂ Blokajı Solusyonu Hazırlanışı: 30 ml %30' luk H₂O₂ üzerine 470 ml metanol ilave edilerek hazırlandı.
- II. Antijen Retrival Solusyonunun 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 lt'ye tamamlanır. (1 ml TBS 100 ml distile suyla dilüe edilerek kullanılır.)

2.1.2. Kullanılan Cihazlar

- Etüv
- -20'lik derin dondurucu ve buzdolabı
- pH-metre
- Vortex
- Düdüklü tencere
- Isıtıcı
- Hassas terazi
- Işık mikroskobu
- Fotoğraf makinesi

2.2. Kullanılan Metot

2.2.1. Materyal Kazanımı ve Hazırlanışı

Çalışmada Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne 2009-2012 yılları arasında başvuran, kolorektal kanserli adenokarsinom tanısı konmuş 32 erkek (yaş ortalaması 67,78) ve 25 kadın (yaş ortalaması 70,32) olmak üzere 57 hastadan (yaş ortalaması 68.89) alınan kolon doku örnekleri çalışıldı.

Çalışma materyalleri klinisyen tarafından ameliyat yöntemiyle alındı ve dokulardan patoloji kliniğinde parafin bloklar hazırlandı. Bu bloklardan her bir vaka için poly-L-lysin kaplı lamlara 5 kesit alındı. 57 hastanın tamamına GSTS1, GSTZ1 ve p53 için immünohistokimya boyama prosedürü uygulandı. Hastalara ait tümör dokularının klinik evrelendirmesine TNM evreleme sistemi kullanıldı. Bu değerlendirme, patolog eşliğinde tarafımızca yapıldı. Hastalara ait yaş, cinsiyet, tanı, tümör evre durumu ile ilgili hasta bilgileri ÇİZELGE 2.1 ve 2.2’de verilmiştir.



Çizelge 2. 1. Hastaların klinik verileri

	n	n%
Kolon Adenokanser	55	100
Cinsiyet		
Erkek	30	54.5
Kadın	25	45.5
Yaş 68.8±13.7; (43-90)		
<69	26	47.3
>69	29	52.7
Tümör Derecesi		
G1	24	43.6
G2	22	40
G3	9	16.4
Tumor Evresi		
Evre 1	2	3.6
Evre 2	34	61.8
Evre 3	18	32.7
Evre 4	1	1.8

Çizelge 2.2. Çalışmada kullanılan hastaların özellikleri(Yaş, cinsiyet, tanı ve tümör evre belirtilmiştir)

Hasta	Yaş (Cinsiyet)	Tanı	Tümör Derece	Tümör Evre
H.A.	72 (E)	Adenokarsinom	Az Diferansiye	II B
Ş.K.	63 (E)	Adenokarsinom	Az Diferansiye	II B
T.K.	80 (E)	Adenokarsinom	Az Diferansiye	III B
İ.A.	67 (K)	Adenokarsinom	Az Diferansiye	I
G.G.	86 (K)	Adenokarsinom	Az Diferansiye	II B
Y.D.	45 (E)	Adenokarsinom	Az Diferansiye	II B
İ.A.	67 (K)	Adenokarsinom	Az Diferansiye	III B
H.A.	58 (E)	Adenokarsinom	Orta Diferansiye	II B
G.O.	52 (E)	Adenokarsinom	Orta Diferansiye	III B
F.İ.	81 (K)	Adenokarsinom	Orta Diferansiye	IV
D.D.	48 (E)	Adenokarsinom	Orta Diferansiye	II B
A.Ç.	69 (E)	Adenokarsinom	Orta Diferansiye	II B
A.G.	61 (E)	Adenokarsinom	Orta Diferansiye	III B
A.K.	85 (K)	Adenokarsinom	Orta Diferansiye	II B
S.A.	89 (E)	Adenokarsinom	Orta Diferansiye	III B
M.K.	85 (E)	Adenokarsinom	Orta Diferansiye	III C
A.A.	78 (E)	Adenokarsinom	Orta Diferansiye	II B
A.G.	73 (E)	Adenokarsinom	Orta Diferansiye	II B
E.A.	78 (K)	Adenokarsinom	Orta Diferansiye	II B
F.Ş.	71 (K)	Adenokarsinom	Orta Diferansiye	III B
S.B.	56 (K)	Adenokarsinom	Orta Diferansiye	III B
H.G.	80 (E)	Adenokarsinom	Orta Diferansiye	III B

C.A.	50 (E)	Adenokarsinom	Orta Diferansiye	II B
H.C.	58 (K)	Adenokarsinom	İyi Diferansiye	II B
M.Ö.	77 (K)	Adenokarsinom	İyi Diferansiye	II A
Y.A.	63 (E)	Adenokarsinom	İyi Diferansiye	I
T.Ç.	57 (E)	Adenokarsinom	İyi Diferansiye	III B
A.B.	52 (E)	Adenokarsinom	İyi Diferansiye	III B
H.E.	90 (K)	Adenokarsinom	İyi Diferansiye	III B
İ.K.	86 (E)	Adenokarsinom	İyi Diferansiye	II B
Z.D.	88 (K)	Adenokarsinom	İyi Diferansiye	II B
S.B.	78 (K)	Adenokarsinom	İyi Diferansiye	II A
İ.A.	50 (E)	Adenokarsinom	İyi Diferansiye	II B
A.D.	72 (E)	Adenokarsinom	İyi Diferansiye	II B
S.K.	57 (E)	Adenokarsinom	İyi Diferansiye	III B
F.Y.	75 (K)	Adenokarsinom	İyi Diferansiye	II B
Y.A.	89 (E)	Adenokarsinom	İyi Diferansiye	II B
H.M.	70 (E)	Adenokarsinom	İyi Diferansiye	II B
N.D.	64 (K)	Adenokarsinom	İyi Diferansiye	III B
M.Ç.	68 (K)	Adenokarsinom	İyi Diferansiye	II B
M.K.	55 (K)	Adenokarsinom	İyi Diferansiye	II B
Ş.İ.	58 (K)	Adenokarsinom	İyi Diferansiye	III B
Ö.M.	56 (E)	Adenokarsinom	İyi Diferansiye	III B
A.K.	70 (K)	Adenokarsinom	İyi Diferansiye	III B
S.A.	50 (K)	Adenokarsinom	İyi Diferansiye	II B
H.P.	76 (K)	Adenokarsinom	İyi Diferansiye	II B
M.D.	58 (E)	Adenokarsinom	İyi Diferansiye	III B

ÇİZELGE 2.2. Çalışmada kullanılan hastaların özellikleri (devamı)

M.G	69 (E)	Adenokarsinom	Az Diferansiye	III B
N.C	78 (K)	Adenokarsinom	Orta Diferansiye	II B
İ.K	64 (K)	Adenokarsinom	İyiDiferansiye	II B
Ş.I	63(K)	Adenokarsinom	İyi Diferansiye	II A
M.P	98(E)	Adenokarsinom	İyi Diferansiye	II A
Ş.M	85(E)	Adenokarsinom	İyi Diferansiye	III B
H.A.	63 (E)	Adenokarsinom	Orta Diferansiye	II A
Ü.Y	68 (E)	Adenokarsinom	Az Diferansiye	III B
V.Ç	73 (E)	Adenokarsinom	Orta Diferansiye	II B
S.A	55 (K)	Adenokarsinom	İyi Diferansiye	II B

2.2.2. İmmünohistokimya Prosedürü

I. Dokuların Deparafinizasyonu

- 1) Etüvde 70C’de 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
- %70’lik alkolde 1dakika
- %50’lik alkolde 1dakika
- 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) PBS ile 3 defa yıkama yapıldı ve her yıkama 5 dakika bekletildi.
- 7) Sekonder antikor uygulandı (15 dakika)
- 8) PBS ile yıkandı (3x5 dakika)
- 9) Streptavidin-peroksidaz kompleksi uygulandı (20 dakika)
- 10) PBS 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 kolon kanserli hastalar için bölüm 2.2.2.'de ayrıntılı olarak açıklanan prosedüre göre boyandı. IHC uygulanan preparatlar ışık mikroskopunda boyanma şiddetine bakılarak patolojla birlikte değerlendirme yapıldı ve fotoğrafları çekildi. Değerlendirme boyanma şiddeti için; boyanma olmaması durumu (-), hafif boyanma (+1), orta şiddette boyanma (+2), şiddetli boyanma (+3) olarak değerlendirme yapıldı.

2.3. İstatiksel Analiz

Yapılan çalışmada tümörlü ve normal dokular arasında GSTZ1, GSTS1 ve p53 ekspresyonlarının farklılık analizleri Mann-Whitney U Test ile, GSTZ1, GSTS1 ve p53 ekspresyonları ile hastaların tümör evre, tümör derece, yaş, cinsiyet gibi klinik bilgileri arasındaki ilişkiler Pearson Correlation Test ile incelendi. İstatistiksel olarak anlamlı ilişki görülen gruplar Fitted Line Plot analizi ile regresyon grafikleri ile gösterildi. İstatistiksel sonuçlar %95'lik güvenilirlik düzeyinde $p < 0,05$ için anlamlı kabul edildi.

3. ARAŞTIRMA BULGULARI

3.1. GST ve p53'ün Kolon Kanserindeki Normal ve Tümörlü Dokularındaki Protein İfadelerinin Sonuçları

3.1.1. GSTZ1 İzozimlerinin Kolon Kanserindeki Normal ve Tümörlü Dokulardaki İfadesi

Kolon Adenokanserli dokularda GSTZ1 izozimlerinin ekspresyonlarının immünohistokimya sonuçlarına baktığımızda; GSTZ1 izoziminin metastatik dokulardaki hastalarda (%53), normal dokudaki hastalarda (%21) protein ifadesinin olduğu ve metastatik dokularda normal dokulara oranla fazla ekspresyonun gerçekleştiği görüldü (Çizelge 3.1)

Çizelge 3.1. GSTZ1 İzozimlerinin Kolon Kanserindeki Normal ve Tümörlü Dokulardaki İfadesi

Doku Tipi	GSTZ1
Tümör (n=32)	0,95±0,11 ^a (0-3) ^b
Normal (n=32)	0,29±0,07 (0-2)
T/N* P value**	3.28 0,0000

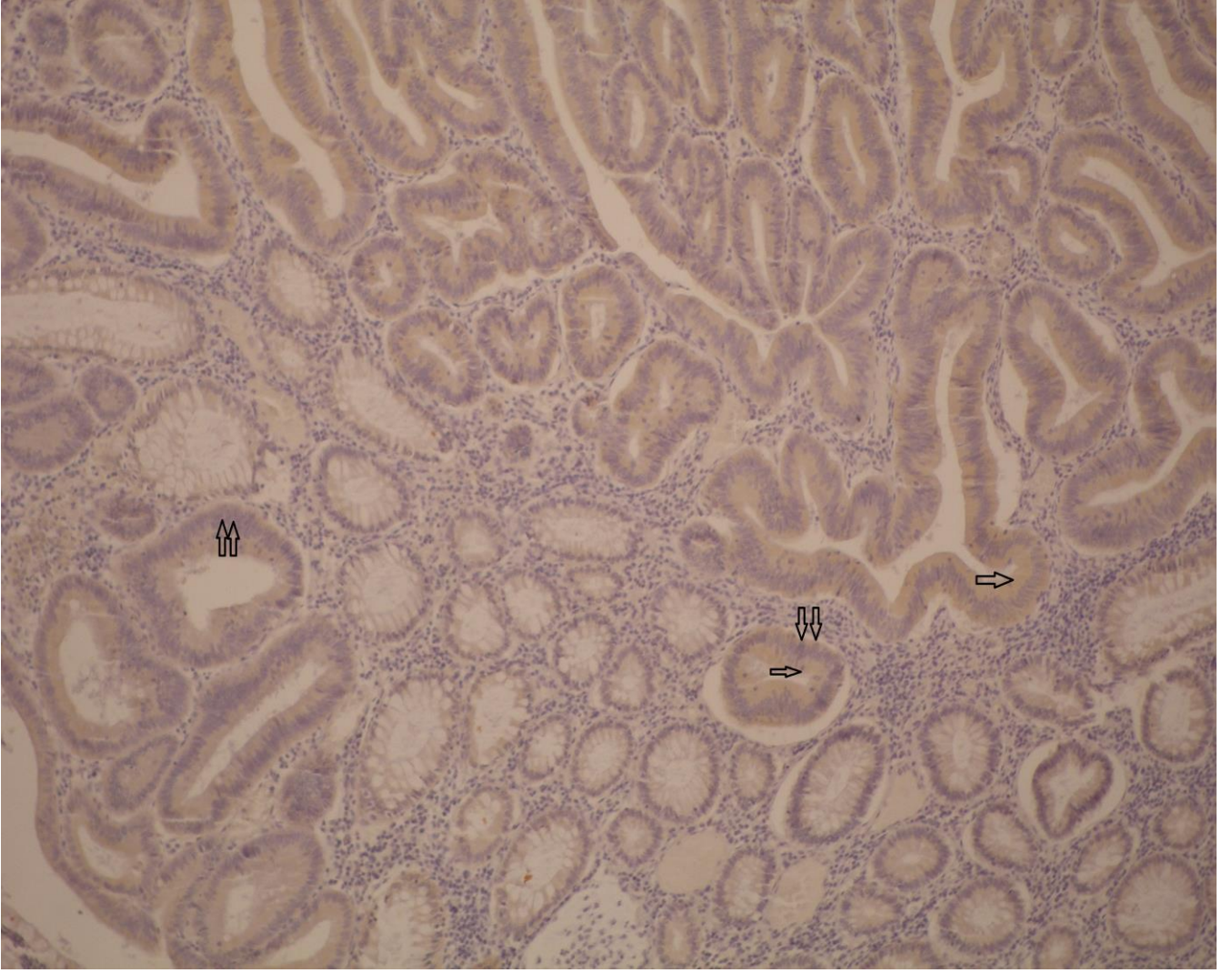
Boyanma skorları, aynı hastalara ait normal mide adenokarsinomlu ve normal hücrelerin boyanma şiddetine göre hesaplanmıştır. Buna göre 0; protein ifadesi görülmeyen, 1; hafif şiddette protein ifadesi, 2; orta şiddette protein ifadesi ve 3; şiddetli protein ifadesi şeklinde derecelendirilmiştir. Normal ve Tümörlü dokular arasındaki protein ifadelerin farklılıkları Mann-Whitney U Test ile %95'lik güvenilirlik düzeyinde incelenmiştir.

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

a: ortalama değer±standart hata

b: minimum ve maksimum boyama şiddeti

*: Tümörlü / Normal oranı



Şekil 3.1. Normal hücrelerde zayıf şiddette (+1) ve Kolon Adenokarsinomlu hücrede orta şiddette (+2) immunohistokimyasal GSTZ1 proteini ekspresyonu (X100).

Tek ok (↑) normal doku, çift ok (↑↑) tümör dokusunu işaret eder.

3.1.2. GSTS1 İzozimlerinin Kolon Kanserindeki Normal ve Tümörlü Dokulardaki İfadesi

Kolon Adenokanserli dokularda GSTS1 izozimlerinin ekspresyonlarının immünohistokimya sonuçlarına baktığımızda; GSTS1 izoziminin metastatik dokularda %0.87, normal dokularda ise %0.16 oranında protein ifadesinin olduğu ve metastatik dokularda normal dokulara oranla çok az miktarda fazla ekspresyonun gerçekleştiği görüldü (Çizelge 3.2) (Şekil 3.2).

Çizelge 3.2. GSTS1 İzozimlerinin Kolon Kanserindeki Normal ve Tümörlü Dokulardaki İfadesi

Doku Tipi	GSTS1
Tümör (n=32)	0,87±0,11 (0-3)
Normal (n=32)	0,16±0,05 (0-1)
T/N* P value**	5,44 0,0000

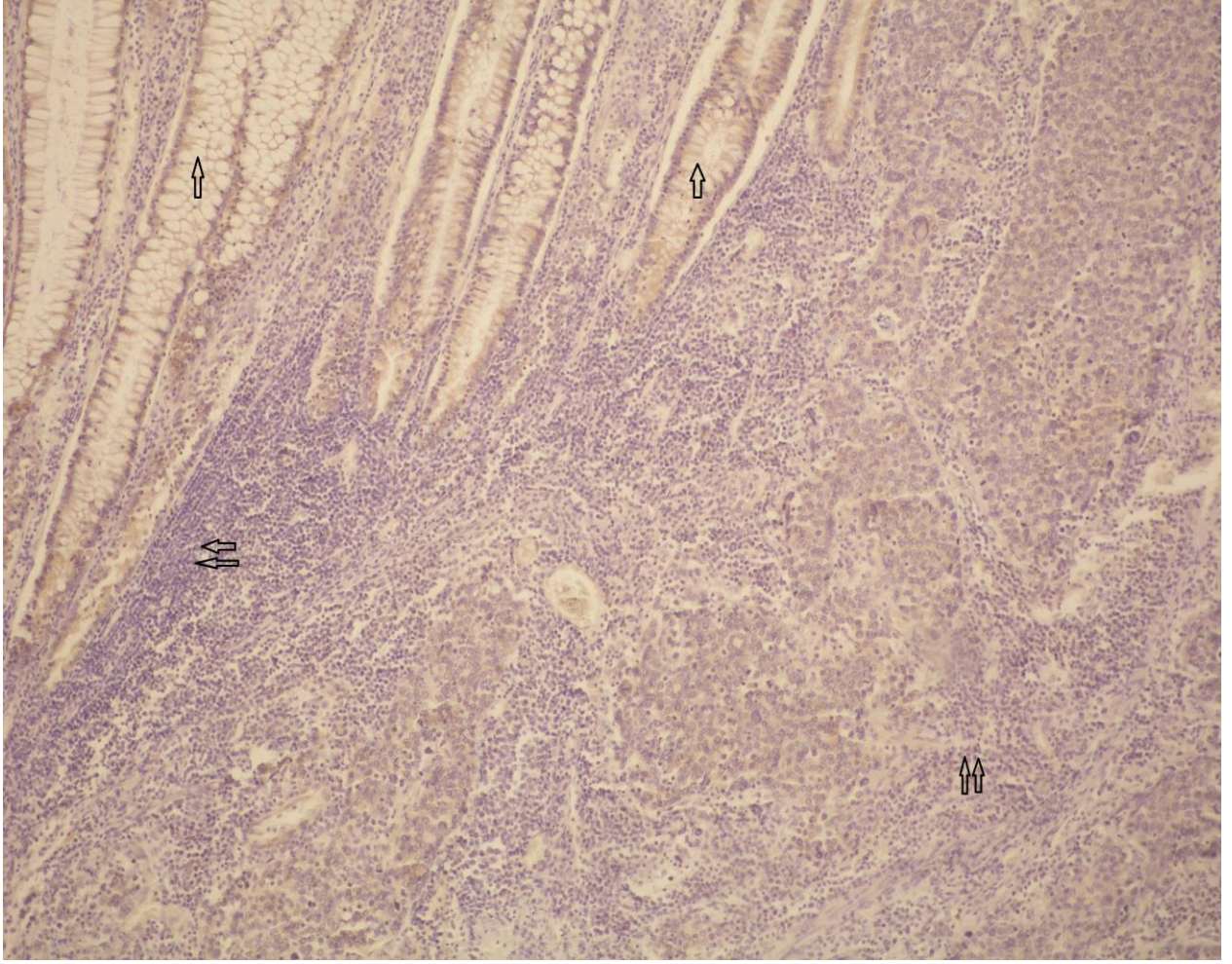
Boyanma skorları, aynı hastalara ait normal mide adenokarsinomlu ve normal hücrelerin boyanma şiddetine göre hesaplanmıştır. Buna göre 0; protein ifadesi görülmeyen, 1; hafif şiddette protein ifadesi, 2; orta şiddette protein ifadesi ve 3; şiddetli protein ifadesi şeklinde derecelendirilmiştir. Normal ve Tümörlü dokular arasındaki protein ifadelerin farklılıkları Mann-Whitney U Test ile %95'lik güvenilirlik düzeyinde incelenmiştir.

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

a: ortalama değer±standart hata

b: minimum ve maksimum boyama şiddeti

*: Tümörlü / Normal oranı



Şekil 3.2. Kolon normal hücrelerde ve Adenokarsinomlu hücrede zayıf şiddette (+1) immunohistokimyasal GSTS1 proteini ekspresyonu (X4).

Tek ok (↑) normal doku, çift ok (↑↑)tümör dokusunu işaret eder.

3.1.3. p53'ün Kolon Kanserinde Normal ve Tümörlü Dokulardaki İfadesi

Kolon Adenokanserli dokularda p53 ekspresyonlarının immünohistokimya sonuçlarına baktığımızda; p53'ün metastatik dokularda %1.86, normal dokularda ise % 0.04 oranında protein ifadesinin olduğu ve metastatik dokularda normal dokulara oranla fazla miktarda ekspresyonun gerçekleştiği görüldü (Çizelge 3.3) (Şekil 3.3).

Çizelge 3.3. p53'ün Kolon Kanserindeki Normal ve Tümörlü Dokulardaki İfadesi

Doku Tipi	p53
Tümör (n=32)	1,86±0,17 (0-3)
Normal (n=32)	0,04±0,03 (0-1)
T/N* P value**	46,5 0,0000

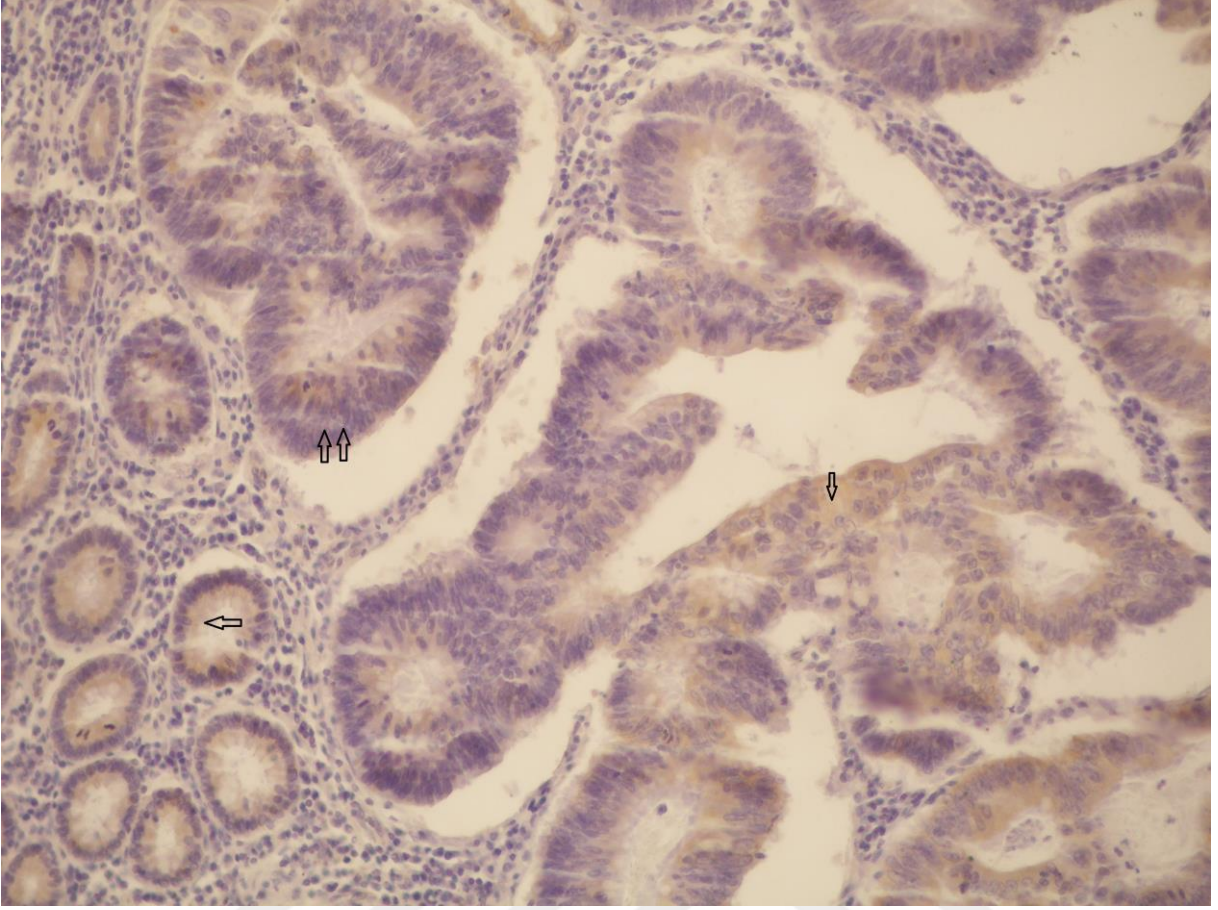
Boyanma skorları, aynı hastalara ait normal mide adenokarsinomlu ve normal hücrelerin boyanma şiddetine göre hesaplanmıştır. Buna göre 0; protein ifadesi görülmeyen, 1; hafif şiddette protein ifadesi, 2; orta şiddette protein ifadesi ve 3; şiddetli protein ifadesi şeklinde derecelendirilmiştir. Normal ve Tümörlü dokular arasındaki protein ifadelerin farklılıkları Mann-Whitney U Test ile %95'lik güvenilirlik düzeyinde incelenmiştir.

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

a: ortalama değer±standart hata

b: minimum ve maksimum boyama şiddeti

*: Tümörlü / Normal oranı



Şekil 3.3. Kolon Adenokarsinomlu hücrelerde orta şiddette (+2)immünohistokimyasal p53 proteini ekspresyonu (X400).

Tek ok (↑) normal doku, çift ok (↑↑)tümör dokusunu işaret eder.

Çizelge 3.4 Kolon Adenokarsinomlu Hastaların Tümörlü ve Normal Dokularında GST İzozimlerinin ve p53 Proteinin Ekspresyon Farklılıkları

	n	GSTZ1			GSTS1			p53		
		Tümör	Normal	T/N* p** değeri	Tümör	Normal	T/N p değeri	Tümör	Normal	T/N p değeri
Kolon Adenokarsinom	5	0.95±0.11 ^a	0.29±0.07	3.28 0.0000	0.87±0.11	0.16±0.05	5.44 0.0000	1.86±0.17	0.04±0.03	46.5 0,000
İyi Diferansiye Adenokarsinom	2	1.17±0.19	0.25±0.09	4.68 0.0006	1.00±0.15	0.13±0.07	7.69 0.0000	1.83±0.24	0.0±0.0	? 0.000
Orta Diferansiye Adenokarsinom	2	0.82±0.16	0.18±0.11	4.56 0.0050	0.82±0.20	0.18±0.08	4.56 0.037	2.05±0.27	0.05±0.05	41 0.000
Kötü Diferansiye Adenokarsinom	9	0.67±0.24	0.67±0.24	1.00 1.0000	0.67±0.24	0.22±0.15	3.05 0.216	1.44±0.44	0.11±0.11	13.09 0.034

Boyanma skorları, pozitif boyanmış neoplastik (tümör dokusu) ve non-neoplastik (periferal normal dokular) hücrelerin boyanma şiddetine göre hesaplanmıştır. Buna göre 0; protein ifadesi görülmeyen, 1; hafif şiddette protein ifadesi, 2; orta şiddette protein ifadesi ve 3; şiddetli protein ifadesi şeklinde derecelendirildi. Tümör ve Normal dokular arasındaki protein ifadelerinin farklılıkları Mann-Whitney U Test ile %95'lik güvenilirlik düzeyinde incelendi. a: ortalama değer±standart hata, b: minimum ve maksimum boyama şiddeti, *: Tümör/Normal oranı, ** p değeri 0,05 den küçük olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Kolon Adenokarsinomlu Hastaların tamamında, İyi ve orta diferansiye adenokarsinomlu hastaların tamamında GSTZ1, GSTS1 ve p53 proteinlerinin ekspresyonları hastaların tümörlü dokularında normal dokularına oranla daha fazla olduğu istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$) (Çizelge 3.4). Ancak kötü diferansiye adenokarsinomlu hastalarda sadece p53 proteini tümörlü dokularda normal dokulara oranla bu hastalarda anlamlı derecede yüksekti ($p<0,05$) (Çizelge 3.4). Bu grup hastalarda GSTZ1 ve GSTS1 izozimlerinin protein ekspresyonları tümörlü dokularda normal dokulara oranla sırasıyla 1.00 ve 3.05 kat daha fazla olmasına rağmen bu sonuç istatistiksel olarak doğrulanamadı ($p>0,05$)



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 supressör genlerin inaktivasyonu gibi başlıca nedenler kanser mekanizmasında aydınlatılmaya çalışılmaktadır. Tedaviye yönelik bu araştırmalar arttıkça gelinen noktada her defasında yapılan ve bulunan bir etyolojik 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, kolon kanserinin oluşmasında ve gidişatında büyük bir rol oynayan glutatyon-S-trasferaz (GSTs) sigma ve zeta izozimlerinin dağılımları immünohistokimya metoduyla çalışılmıştır. GSTS1 ve GSTZ1 izozimlerinin benign ve karsinom hücrelerindeki dağılımları tespit edilmiş ve kanser biyolojisindeki rolü ve klinikte kullanılması değerlendirilmiştir. Ayrıca GST sigma ve zeta izozimlerinin benign ve karsinom hücrelerindeki dağılımlarıyla hastaya ait klinik parametreleri (yaş, cinsiyet, tümör evre ve derecesi) istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır.

Kolon kanserli dokularda yapılan çalışmada, GST izozimlerinden GSTO1 ve GSTK1' in oranını normal kolon dokularına göre anlamlı bulunmuş ve kolon kanserinde bu izozimlerinin rolü olabileceğini vurgulamıştır.[Şimşek ark] [45]

Yapılan polimorfizm çalışmalarına bakıldığında Piao ve ark. 2009 yılında yaptıkları çalışmada GSTM1 ve GSTT1' in null tipinin kolon kanseri olma riskini arttırmadığını [46] vurgulamışlardır yapılan bu tez çalışmasında GSTT1 in protein ifadesinin kolon kanseri riskini arttırdığı vurgulanmıştır.

Yapılan bir başka çalışmada Kiss ve ark. 500 kolorektal kanserli ve 500 kontrol grubunda GSTM1 in null olması kolorektal kanser olma riskini arttırdığını ancak GSTT1 ve GSTP1 kolorektal kanser olma riskiyle bir ilişkisi olmadığını vurgulamışlardır [47]

Cai ve ark. 2001 yılında yaptıkları polimorfizm çalışmasında GSTM1 null genotipli bireylerin gastrik kansere yakalanma riski yüksek fakat GSTT1 in herhangi bir fark oluşturmadığı bulmuşlardır . [48]

Ye Zheng ve ark. 2002 yılında yaptıkları çalışmada GSTM1, GSTT1'in kolon kanseri riski polimorfik olarak çalışılmış. Yaptıkları çalışmanın sonucunda kanserli hastalarda GSTM1 ve GSTT1 null genotipi kanser oluşumunda önemli bir risk oluşturmadığı göstermişlerdir [49].

Masoudi ve arkadaşları GSTO2, GSTM1, ve GSTT1 izoenzimlerini, gastrik kanser vakasında çalışmışlardır. Çalışmanın sonucunda GSTO2 nin null genotipinin gastrik kanser olma riskini düşürdüğünü göstermişlerdir . [50]

Yapılan bir başka çalışmada 31 kolorektal kanser vakası, ve 98 kontrol grubunda, GSTO1 ve GSTO2 polimorfizmi çalışmışlardır. Çalışmada, *GSTO2*NI40D* polimorfizmi nin kanser oluşumunda herhangi bir risk faktörü oluşturmadığı gösterilmiştir . [51]

Djukic ve ark. mesane kanserinde sağkalımı izleyerek GSTT1, GSTP1(rs1695), GSTO1(rs4925), GSTO2(rs156697), GSTM1, GSTA1(rs3957357) genleriyle polimorfizmi ile kemoterapiye etkisini araştırmışlardır. GSTP1, GSTM1 ve GSTA1 polimorfizmi ile kemoterapi alan hastalarda sağkalım arasında önemli bir ilişki gözlenmemiştir. Fakat, GSTT1, GSTO1 ve GSTO2 polimorfizmi ile sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gözlenmiştir. GSTT1, GSTO1 ve GSTO2 null genotipli bireylerin ölüm riskleri artmıştır . [52]

Marahatta ve ark.'nın yaptıkları çalışmada GSTO1 (A140D) polimorfizminin hepatoselüler karsinoma, kolanjiokarsinoma ve meme kanseri risklerini anlamlı olarak arttırdığını saptamışlardır [53]

Oğuztüzün ve arkadaşları 2013 yılında yaptıkları çalışmada tiroid 15 Foloküler Adenokarsinom, 16 Tiroid Papiller Karsinom (TPK) ve 27 Nodüler Hiperplazili(NH) hastanın GSTO1 ve GSTK1 protein ekspresyonlarını immunohistokimyasal olarak incelemişlerdir. NH'lı hastaların %81.48, FA'lı hastaların %80 ve TPK'lı hastaların %60'ında GSTO1'in eksprese olduklarını ve GSTK1 izoziminin ise NH'lı hastaların %48,14'ünde, FA'lı hastaların %60'ında ve TPK'lı hastaların %87,5'inde eksprese olduğunu göstermişlerdir. GSTO1 izoziminin TPK'lı hastaların dokularında, FA'lı hastalara oranla 1,91 ($p=0,0023<0,05$); NH'lı hastalara oranla 2,1 kat ($p=0,0003<0,05$) daha fazla eksprese olduğu; GSTK1 izoziminin TPK'lı hastaların dokularında, FA'lı hastalara oranla 2,08 ($p=0,011<0,05$); NH'lı hastalara oranla 3,73 kat ($p=0,0002<0,05$) daha fazla eksprese olduğu istatistiksel olarak anlamlı bulduklarını bildirmişlerdir . [54]

Wang ve ark. GSTO1 (A140D) polimorfizminin ürotelyal karsinoma riskini anlamlı olarak değiştirmediğini saptamışlardır. [55]

Yapılan bu tez çalışmasında GSTS1 ve GSTZ1 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.



KAYNAKLAR

[1]Stewart B.W., Kleihues P., World Cancer Report. 11-21. International Agency For Research On Cancer Publications, 2003

[2] Hanahan D.Weinberg RA The hallmarkers of cancer. Cell:2000;100(1):57-70. Epub

[3] Buęra, D., 2004. Kolon, Rektum, Anal Bölge Anatomisi. Kolorektal Özel Sayısı Türkiye Klinikleri Journal of Surgery 2004;9(1):1-9.

[4]Ogden J. Health Psychology: A Text Book. Buckingham, UK: Open University Press. 1998.

[5] Ed. P. Boyle, B. Levin, Lyon Cedex http://www.iarc.fr/en/publications/pdfs-online/wcr/2008/wcr_2008.pdf 08, Fransa 2008.

[6]Bozfakıoğlu Y., Müslümanoęlu M., Kolon Hastalıkları. Değerli Ü., Bozfakıoğlu Y., (Editörler). Cerrahi Gastroenteroloji. 4.baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 1997.s.142-68.

[7]Farrow B, Evers BM. Inflammation and the development of pancreatic cancer. Surgical Oncology 2002; 10: 153-169.

[8]American Cancer Society. Colorectal Cancer Facts & Figures Special Edition 2005. Atlanta: American Cancer Society; 2005.

[9]Winawer SJ. Colorectal cancer screening. Practice & Research Clinical Gastroenterology 2007; 21(6): 1031-1048.

[10] Toribara NW, MD, D Ph, Sleisenger MH, MD, et al. Screening for colorectal cancer. The England Journal of Medicine 1995; 332(13): 861-867.

[11] Garcea G, Sharma RA, Dennison A, Steward WP, et al. Molecular biomarkers of colorectal carcinogenesis and their role in surveillance and early intervention. European Journal of Cancer 2003; 39: 1041-1052.

[12]Ribeiro ML, Priolli DG, Miranda DDC, Arçari DP, et al. Analysis of oxidative DNA damage in patients with colorectal cancer. Clin Colorectal Cancer 2008; 7(4): 267-272.

[13]Bond JH, MD. Polyp guideline: Diagnosis, treatment and surveillance for patients with colorectal polyps. AJG 200; 95(11): 3053-3063.

[14]Hagggar, F.A. and R.P. Boushey, Colorectal cancer epidemiology: incidence, mortality, survival, and risk factors. Clin Colon Rectal Surg, 2009.

[15]Chandrosoma P (ed). Colorectal malignant neoplasms. In: Gastrointestinal Pathology. Appleton-Large, Stamford 1999:339-59.

[16] Jemal A., Siegel R., Xu J., Ward E., Cancer statistic. 2010. CA Cancer J Clin. 2011; 61(2): 133-4.

[17] Kuşakçıoğlu Ö., Kolorektal Kanser Hastalıkları. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 2013:1-27.

[18] Parkin DM., Pisani P., Ferlay J., Global cancer statistic. 1999. CA Cancer J Clin.1999; 49(1):33-64.

[19] Kuşakç1oğlu Ö. Kolorektal Kanser Hastalıklar1. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2003:1-27.

[20] Buđra D. Genel Konular. Kolon Rektum ve Anal Bölge Hastalıkları. Alemdarođlu K, Akçal T, Buđra D. 2.Baskı: 17-20, İstanbul, 2004

[21] Vural N., Toksik maddelerin metabolizması. Ankara Üniv. Yayınevi, 2005.

[22] Mannervik B., The isoenzymes of glutathione S-transferase. Adv. Enzymol. 57; 357-417, 1985

[23] Guengerich F.P., Characterization of human microzomal P450 enzymes. Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 29; 241, 1989.

[24] Hayes J.D., Flanagan, J.U., Jowsey, I.R. Glutathione Transferases, Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol., 45:51–88, 2005.

[25] Güven A, GüvenA,GülmezM. The effect of kefir on the activities of GSH -Px, GST, CAT, GSH and LPO levels in carbon tetrachloride-induced mice tissues.Journal of Veterinary Medicine B 2003; 50: 412

[26]Mannervik B, Board PG, Hayes JD, Listowsky I, Pearson WR. Nomenclature for mammalian soluble glutathione transferases. Methods in Enzymology 2005; 401, 1-8.

[27]Hayes J.D., Flanagan, J.U., Jowsey, I.R. Glutathione Transferases, Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol., 45:51–88, 2005

[28]Entrez Gene: GSTZ1 glutathione transferase zeta 1 (maleylacetoacetate isomerase)
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/2954>

[29] GSTS1 Glutathione S transferase S1 [*Drosophila melanogaster* (fruit fly)]Gene ID: 36927, updated on 5-Feb-2017

[30] Hirvonen A., Polymorphisms of xenobiotic-metabolizing enzymes and susceptibility to cancer. *Environ Health Prospect.* 107; 37-47, 1999.

[31] Blackburn A.C., Woollat E., Sutherland G.R., Board P.G., Characterization and chromosome location of the gene GSTZ1 encoding in human zeta class glutathione transferase and maleylacetoacetate isomerase. *Cytogenet. Cell Genet.* 83; 109-114, 1998.

[32] Rushmore T.H, Pickett C.B., Glutathione S-Transferases, Structure, Regulation and Therapeutic Implications. *J. Biol. Chem.* 268; 11475, 1993.

[33] Oren M and Rotter V. Introduction: p53 - the first twenty years. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 1999; 55: 9.

[34] (Adimoolam S. ve J. Ford M., 2003, Brooks C. L. & Gu W., 2003, Latonen L. & Laiho M., 2005

[35,36,37,38,39,40] Vousden K.H., 2000, Vogelstein B. Ve ark., 2000, Liang S.H. ve Clark M.F., 2001, Vousden K.H. ve Lu X., 2002, Sharpless E.N. ve DePinho A. R.,2002, Wesierska-Gadek J. ve Schmid G., 2005

[41] Nakajima, Tamie, et al. "CARCINOGENESIS: Expression of cytochrome P450s and glutathione S-transferases in human esophagus with squamous-cell carcinomas." *Carcinogenesis* 17.7: 1477-1481. 1996.

[42] Lieshout, Esther MM, et al. "Immunohistochemical Localization of Glutathione S-Transferase α and π in Human Esophageal Squamous Epithelium, Barrett's Epithelium and Carcinoma." *Cancer Science* 90.5 : 530-535, 1999

[43] Piao, Jin-Mei, et al. "Glutathione-S-transferase (GSTM1, GSTT1) and the risk of gastrointestinal cancer in a Korean population." *World journal of gastroenterology: WJG* 15.45: 5716. 2009

[44] Kiss, Istvan, et al. "Polymorphisms of glutathione-S-transferase and arylamine N-acetyltransferase enzymes and susceptibility to colorectal cancer." *Anticancer research* 24.6: 3965-3970, 2004.

[45] SIMSEK Gulcin G., OGUZTUZUN Serpil, BOZER Busra, KILIC Murat, KOCDOGAN Arzu K., KAYGIN Pinar, GURBUZ Nurdan, BULUS Hakan. Expressions of CYP and GST Isoenzymes in Human Gastric Tumor and Non-Tumor Tissues. *International Journal of Hematology and Oncology* 2018, 28(1)

[46] Piao, Jin-Mei, et al. Glutathione-S-transferase (GSTM1, GSTT1) and the risk of gastrointestinal cancer in a Korean population. *World journal of gastroenterology: WJG* 15.45: 5716. 2009

[47] Kiss, Istvan, et al. Polymorphisms of glutathione-S-transferase and arylamine N-acetyltransferase enzymes and susceptibility to colorectal cancer. *Anticancer research* 24.6: 3965-3970, 2004.

[48] Cai, Lin, Shun-Zhang Yu, and Zuo-Feng Zhang. "Glutathione S-transferases M1, T1 genotypes and the risk of gastric cancer: a case-control study." *World Journal of Gastroenterology* 7.4 (2001): 506-509.

- [49] Ye, Zheng, and James M. Parry. Genetic polymorphisms in the cytochrome P450 1A1, glutathione S-transferase M1 and T1, and susceptibility to colon cancer. *Teratogenesis, carcinogenesis, and mutagenesis* 22.5 (2002): 385-392.
- [50] Masoudi, Mohammad, et al. "Genetic polymorphisms of GSTO2, GSTM1, and GSTT1 and risk of gastric cancer." *Molecular biology reports* 36.4 (2009): 781-784.
- [51] Marahatta SB, Punyarit P, Bhudisawasdi V, Paupairoj A, Wongkham S, Petmitr S. Polymorphism of glutathione S-transferase omega gene and risk of cancer. *Cancer Lett.* 2006;236(2):276-81.
- [52] Djukic, Tatjana I., et al. "Glutathione S-Transferase T1, O1 and O2 Polymorphisms Are Associated with Survival in Muscle Invasive Bladder Cancer Patients." *PloS one* 8.9 (2013): e74724.
- [53] Marahatta, Sujan Babu, et al. "Polymorphism of glutathione S-transferase Omega gene and risk of cancer." *Cancer letters* 236.2 (2006): 276-281.
- [54] Serpil Oğuztüzün, Murat Kilic, Gulcin Guler Simsek, Busra Moran, Yagmur Akdemir, Hakan Bulus, Zuhul Yazici Gokbulut. Tiroid Papillar Karsinom, Foliküler Adenom, Nodüller Hiperplazide GSTO1 ve GSTK1 Ekspresyonları. 25. Ulusal Biyokimya Kongresi, 3 - 6 Eylül 2013 Kaya Otel & Convention Center, İzmir [25th National Biochemistry Congress, Izmir / Turkey], *Turk J Biochem.*, 38 (Suppl. 1); P-133, 2013
- [55] Wang, Yuan-Hung, et al. "A significantly joint effect between arsenic and occupational exposures and risk genotypes/diplotypes of CYP2E1, GSTO and GSTO2 on risk of urothelial carcinoma 241.1 (2009): 111-118.