

**KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**MİTOKONDRIYAL GST KAPPA1'İN MESANE KANSERİNDEKİ PROTEİN**  
**EKSPRESYONUNUN İNCELENMESİ**

**PINAR KAYGIN**

**Eylül, 2016**

**Biyoloji Anabilim Dalında** PINAR KAYGIN tarafından hazırlanan MİTOKONDRIAL GST KAPPA1'İN MESANE KANSERİNDEKİ EKSPRESYONUNUN İNCELENMESİ adlı Yüksek lisans Tezinin Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylarım.

Prof.Dr.Nazife YİĞİT KAYHAN

Anabilim Dalı Başkanı V.

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

Doç. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN

Jüri Üyeleri

Başkan :Prof.Dr. Nazife YİĞİT KAYHAN \_\_\_\_\_

Üye (Danışman) :Doç. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN \_\_\_\_\_

Üye : Doç. Dr. Ahmet Oğuz ADA \_\_\_\_\_

...../...../.....

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

Prof.Dr. Mustafa YİĞİTOĞLU

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## ÖZET

### MİTOKONDRIYAL GST KAPPA1'İN MESANE KANSERİNDEKİ PROTEİN EKSPRESYONUNUN İNCELENMESİ

KAYGIN, Pınar

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN

Eylül 2016, 52 sayfa

Glutation-S-transferaz (GST) enzim ailesi hücrelerin hemen hemen her türünde mevcuttur ve birçok reaksiyonlarda ve endojen maddelerin metabolizmasında çok önemli bir rol oynar. Bu enzim sistemi ilaçlar, çevre kirliliği ve kanserojen biyotransformasyonunda çok önemlidir. Bu çalışmada, mesane kanseri patogeneğinde, GSTK1 izoenziminin olası etkisini immünohistokimyasal boyama ile araştırdık. Yapılan çalışmada altmış mesane papiller ürotelyal karsinom vakasında, GST Kappa (K1) izoziminin immünohistokimyasal bulguları değerlendirildi. Bu hastalara ait dokular boyanma şiddetine göre karşılaştırıldığında; Mesane karsinomada GSTK1 izoziminin protein ekspresyonunun tümörlü dokularda normal dokulara oranla daha fazla olduğu bulunmuştur ( $p=0,0000$ ;  $0,000<0,05$ ). GSTK1 izoziminin immünohistokimya boyama sonuçları, klinik parametrelerle karşılaştırıldığında; bu izozimlerin ekspresyonları hastalık durumlarında yaşa, cinsiyete, tümör evre, derece, sigara içiminde farklılık göstermedi ( $p>0,05$ ). Bu

bulgulara göre GSTK1 izoziminin mesane kanserinde diagnostik olarak önemi olabileceđi söylenebilir.

**Anahtar kelimeler:** Mesane karsinom, GSTK1, İmmünohistokimya



## **ABSTRACT**

### **EXAMINATION OF MITOKONDRIAL GST KAPPA1 ISOENZYME PROTEIN EXPRESSIOS IN BLADDER CANCER**

KAYGIN, Pınar

Kırıkkale University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology, M.Sc. Thesis

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN

September 2016, 52 pages

Glutathione-S-transferase (GST) enzyme family is present in almost all type of cells and can play a critical role in several reactions and metabolism of endogen materials. This enzyme system is important for drugs, enviromental pollution and carcinogen biotransformation. In this study, we investigated GSTK1 isoezyme with immunohistochemical staining for possible effect on the patogenesis of bladder cancer. GST Kappa (K1) isozyme immunohistochemical finding was evaluated in sixty papillary urothelial bladder carcinoma cases. When the tissues of these cases were compared according to their staining intensity, GSTK1 expression in bladder carcinoma was significantly higher than normal bladder tissues ( $p=0,0000$ ;  $0,000<0,05$ ). When the immunohistochemical result of GSTK1 isoenzyme was correlated with the clinical parameters, they were not correlated with age, gender, tumor stage, grade, smoking status, ( $p>0,05$ ). According to these findings, it is likely to be of importance GSTK1 isozyme in the diagnosis of bladder cancer.

**Keywords:** Bladder carcinoma, GSTK1, immunohistochemistry



## TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın bütün aşamalarında tecrübelerinden yararlandığım, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle bana yardımcı olan hocam Sayın Doç. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN'e teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarımın deneysel kısmında doku kazanımı ve immünohistokimyasal boyama sonuçlarının değerlendirilmesinde bana yardımcı olan Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Uzmanı Dr. Şeyma ÖZKANLI'ya, teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmam boyunca sağladıkları imkanlardan dolayı Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Laboratuvarları Müdürlüğü'ne teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca her konuda yardımlarını, desteklerini ve dostluklarını benden esirgemeyen, her zaman yanımda olan Kırıkkale Üniversitesi'nden Özlem ERDURAN'a desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Bu zamana kadar maddi ve manevi her konuda her zaman arkamda olan ve destekleriyle bana güç veren sevgili annem Melek KAYGIN'a, babam Dursun KAYGIN 'a ve kardeşlerime sonsuz teşekkürlerimi bir borç bilirim.

# İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

<b>ÖZET</b> .....	i
<b>ABSTRACT</b> .....	iii
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	v
<b>İÇİNDEKİLER DİZİNİ</b> .....	vi
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	ix
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	x
<b>KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	xi
<b>1.GİRİŞ</b> .....	1
1.1 Mesane Kanseri .....	2
1.1.1 Evreleme .....	3
1.1.2 Mesane Tümörlerinin Histolojik Derecelendirmesi.....	5
1.1.3 Patoloji.....	6
1.1.3.1 Normal Mesane Ürotelyumu.....	7
1.1.3.2 Ürotelyal Karsinoma .....	7
1.1.3.3 Karsinoma İn Situ .....	8
1.1.3.4 Skuamoz Hücreli Karsinom .....	8
1.1.3.5 Adenokarsinoma .....	9
1.1.4 Mesane Karsinomunun Yayılma Şekilleri .....	9
1.1.4.1 Direk Yayılım .....	9
1.1.4.2 Metastatik Yayılım.....	10
1.1.4.3 Lenfatik Yayılım .....	10
1.1.4.4 Hematojen yayılım.....	10



1.2 Mesane Kanserine Yol Açtığı Düşünülen Mesleki,Çevresel, ve Genetik Faktörler.....	10
1.2.1 Epidemiyoloji .....	11
1.2.1.1 İnsidans ve Prevalans.....	11
1.2.1.2 Yaş.....	11
1.2.1.3 Bölgesel ve Ulusal Farklılıklar.....	11
1.2.2 Etiyoloji ve Risk Faktörleri .....	12
1.3 Ksenobiyotiklerin Metaboizması.....	15
1.3.1 Glutasyon ve Glutasyon S- Transferazlar.....	18
1.3.2 GST'lerin Substratları .....	19
1.3.3 GST'lerin Sınıflandırılması.....	21
1.3.4 GST Ailesi .....	24
1.3.4.1 GST Alfa Sınıfı.....	24
1.3.4.2 GST Mü Sınıfı .....	24
1.3.4.3 GST Pi Sınıfı .....	24
1.3.4.4 GST Teta Sınıfı .....	25
1.3.4.5 GST Omega Sınıfı .....	25
1.3.4.6 GST Kappa Sınıfı .....	26
1.3.5 Glutasyon S- Transferaz ve Mesane Kanseri.....	27
<b>2. MATERYAL VE YÖNTEM .....</b>	<b>29</b>
2.1 Materyal .....	29
2.1.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler .....	29
2.1.1.1 Solusyonların Hazırlanışı .....	30
2.1.2 Kullanılan Cihazlar .....	30

2.2 Kullanılan Yöntem .....	31
2.2.1 Hasta Dokuların Toplanması ve Klinik Bilgi .....	31
2.2.2 İmmünohistokimya Prosedürü.....	32
2.3 İstatiksel Analiz .....	34
<b>3.BULGULAR .....</b>	<b>35</b>
<b>4.TARTIŞMA VE SONUÇ .....</b>	<b>41</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>44</b>



## ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. Mesane kanserinin 2009 TNM sınıflandırması.....	3
1.2. 1973 ve 2004 WHO derecelendirmesi.....	6
1.3. Bilinen Mesane Karsinojenleri ve Bunlara Maruz Kalınan Endüstriyel Alanlar.....	14
1.4. Faz I Reaksiyonları ve Rol Oynayan enzimleri.....	17
1.5. Faz II Reaksiyonları ve Rol Oynayan Enzimler .....	18
1.6. GST'lerin Substratları .....	21
1.7. GST Ailesinin İzozimleri ve Buldukları Organlar .....	23
2.1. Tez çalışmasına Konu Olan Mesane Kanseri Hastaların Klinik Bilgileri.....	32
3.1. Tanımlayıcı Özelliklerin Dağılımı .....	35
3.2. Sigara kullanımına ilişkin Dağılımlar .....	35
3.3. Tanı ve Evrelere İlişkin Dağılımlar .....	36
3.4. Glutasyon S-Transferaz kappa izozimin ekspresyonunun dağılımı .....	37
3.5. Normal ve Tümörlü dokudaki GSTK ekspresyon düzeylerinin değerlendirilmesi.....	37
3.6. Cinsiyet ,mortalite ,sigara kullanımı ile tümörlü dokularda GSTK ekspresyon ilişkisi.....	38
3.7. Yaş,sigara kullanım süresi ve sayısı ile tümörlü dokularda GSTK ekspresyon ilişkisi.....	39
3.8. Tanı ve stage ile tümörlü dokularda GSTK ekspresyon ilişkisi.....	40

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sekil

### Sayfa

1.1. Mesane Kanserinin 2009 TNM Sınıflandırması.....5



## KISALTMALAR DİZİNİ

CYP	Sitokrom P450
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
GST	Glutasyon S-Transferazlar
PAH	Polisiklik Aromatik Hidrokarbon
ISUP	International Society of Urological Pathology
UICC	International Union Against Cancer
TNM	T: primer tümör; N: bölgesel lenf bezleri; M: uzak metastaz
DNA	Deoksiribonükleik asit
HPV	Human Papilomavirüs Enfeksiyonu
NCSS	Number Cruncher Statistical System
PASS	Power Analysis and Sample Size

## 1.GİRİŞ

Kanser Dünya Sağlık Örgütlerine(WHO) göre insan sağlığına tehdit eden problemlerden birisi olan kanser, hücre düzeyinde meydana gelen kalıtsal değişimlerin (Transformasyon) sonucudur [1]. Kanserdeki bu kalıtsal değişimler belirli genlerde bir takım etkilerle oluşan mutasyon sonucu veya gen ifadesinin miktarında ve zamanlamasında meydana gelen farklılıklarla ortaya çıkan hücresel seviyedeki genetik bir bozukluktur. Bunun sonucunda hücre döngüsünün zarar görmesiyle sürekli olarak yeni kanser hücrelerinin meydana gelmesi ve hücre ölümü(apoptozis) gerçekleşmemesi sonucu oluşan karakterize bir hastalıktır. Kanser hem dünyada hem de ülkemizde %22'lik oran ile kardiyovasküler hastalıklardan sonra gelen ikinci ölüm sebebidir [2]. 2002 yılında ülkemizde kanserden ölenler tüm ölümlerin %12'sini oluşturmuşken bu oran 2009'da %21'e çıkmıştır. Özellikle ortaya çıkışının önlenemediği, taramalarla ölümün yok edilemediği ve erken teşhis edildiğinde tedavinin yaşam kalitesine çok şey katabildiği kanser türlerini göz önüne alırsak korunmanın önemi artmaktadır [3].

Mesane kanseri bugün dünyada en çok görülen kanser türleri arasında erkeklerde dördüncü, kadınlarda yedinci sırada yer almaktadır ve idrar yollarında görülen en önemli kanserdir [4,5,6]. En yüksek oranlar Kuzey Amerika, Batı Avrupa, Doğu Avrupa'nın güneyi ve Asya'nın pek çok bölümünde görülmüştür [7]. 2000 yılında dünyada yaklaşık 336000 yeni vaka teşhis edilmiştir [5]. Amerika'da 2005 yılında 63210 yeni vaka bildirilmiş ve mesane kanseri 13100 kişinin bu nedenden dolayı ölmüştür [8]. Mısır gibi gelişmekte olan ülkelerde ise toplam kanser vakalarının %

30,8'ini mesane kanseri oluşturmaktadır [9]. Türkiye'de ise Türk Kanser Araştırma ve Savaş Kurumu'nun hazırladığı Kanser Yüğü 2006 Raporu'na göre mesane kanseri, görülen kanser türleri arasında yaklaşık % 7,8 ile üçüncü sırada yer almaktadır.

Mesane kanseri yüzeysel, kas invaziv ve metastatik olmak üzere 3 grupta incelenir. Histopatolojik olarak %90 ürotelyal karsinom, %5-7 skuamoz hücreli karsinom, %1-2 adenokarsinom, %1-2 oranında non-diferensiye karsinom ve mikst tümörler izlenmektedir. Nadir görülen mesane epitelyal tümörleri villöz adenom, karsinoid tümör, karsinosarkom ve melanomdur. Nadir görülen non epitelyal tümörleri feokromositoma, lenfoma, koryokarsinom ve mezenkimal tümörlerdir [10].

Bu tez çalışmasında mesane kanserinin oluşmasında ve gidişatında büyük bir rol oynayan glutatyon- S-transferaz (GST) GSTK1 izoziminin dağılımları immünohistokimya metoduyla çalışılacaktır. GSTK1 izoziminin bening ve karsinom mesane hücrelerindeki dağılımları tespit edilecek ve kanser biyolojisindeki rolü ve klinikteki kullanılması değerlendirilecektir. Ayrıca GST izozimlerinin bening ve karsinom hücrelerindeki dağılımlarıyla hastaya ait klinik parametreleriyle (tümör evre, tümör derecesi ve sigara içimi) istatistiksel olarak karşılaştırılacaktır.

### **1.1.Mesane kanseri**

Mesane kanseri, mesaneyi oluşturan hücrelerin kontrolsüz olarak çoğalması sonucu meydana gelir. Mesane kanseri idrar kesesinin içini döşeyen hücre tabakasından kaynak alır. Eğer bu hücre çoğalması yalnızca mesanenin yüzeysel katmanı ile sınırlıysa buna yüzeysel mesane kanseri denir. Eğer hücre çoğalması derinleşip kas ve

yağ tabakasına da geçerse buna derin (invaziv) mesane kanseri denir. Kas tabakasına geçmiş mesane kanseri çevre dokulara yayılabilir. Kan dolaşımı sayesinde dokulara ulaşır uzak metastaz yapabilir, akciğer, karaciğer gibi organlara atlayabilir [11].

Ayrıca mesane kanseri kanser olguları içinde tanı anından ölüme kadar, birim hastaya uygulanan tedavi açısından en pahalı kanser türüdür [10]. Etiyolojide sigara kullanımı, çeşitli karsinojenler, suni tatlandırıcılar, kronik sistit ve diğer enfeksiyonlar, pelvik radyoterapi gibi faktörler rol oynamaktadır.

### **1.1.1. Evreleme**

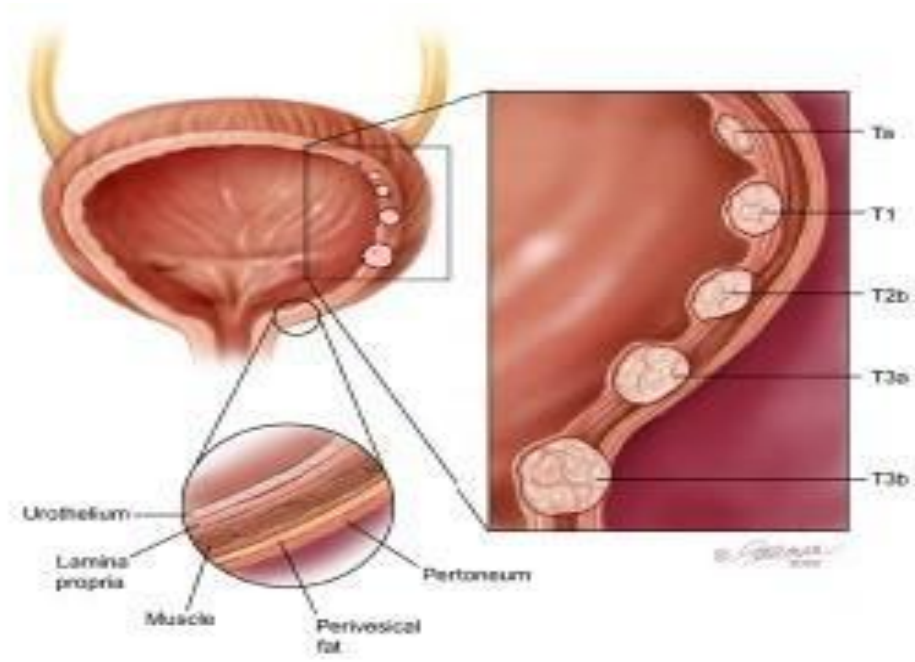
Mesane kanserinde temel evreleme sistemi, International Union Against Cancer (UICC) tarafından onaylanmış TNM 2009 yaygın kabul görmüştür. TNM 2009 çizelge 1.1'de gösterilmiştir.

**Çizelge 1.1.** Mesane kanserinin 2009 TNM sınıflandırması

<b>T-Primer tümör</b>
<b>Ta</b> Non-invaziv papiller karsinoma
<b>Tis</b> Karsinoma in situ —düz tümör
<b>T1</b> Lamina propria invazyonu
<b>T2</b> kas dokusu invaze
<b>T2a</b> Tümör yüzeysel kasa invaze (iç yarı)
<b>T2b</b> Tümör derin kasa invaze (dış yarı)
<b>T3</b> Tümör perivezikal dokuya invaze



<b>T3a</b> Mikroskopik olarak
<b>T3b</b> Makroskopik olarak (mesane dışı kitle)
<b>T4</b> Tümör şu dokulardan herhangi birini tutar; prostat, uterus, vajina, pelvik duvar, abdominal duvar
<b>T4a</b> Tümör prostat, uterus veya vajeni tutar
<b>T4b</b> Tümör pelvik duvar veya abdominal duvarı tutar
<b>N-Lenf nodları</b>
<b>NX</b> Bölgesel lenf nodları değerlendirilemez
<b>N0</b> Bölgesel lenf nodu metastazı yok
<b>N1</b> Pelviste (hipogastrik, obturator, eksternal ilyak veya presakral) tek bir lenf nodu metastazı
<b>N2</b> Pelviste (hipogastrik, obturator, eksternal ilyak veya presakral) multiple lenf nodu metastazı
<b>N3</b> Kommon ilyak lenf nodu metastazı
<b>M-Metastaz</b>
<b>MX</b> Uzak metastazlar değerlendirilemiyor
<b>M0</b> Uzak metastaz yok
<b>M1</b> Uzak metastaz var



**Şekil 1.1.** Mesane Kanserinin 2009 TNM Sınıflandırması [40].

Mesane içi boş ve esnek bir organdır. Mesane tümörleri yüzeysel (Ta ve T1) ve invazif (T2, T3, T4) oluşlarına göre derecelendirilir (Şekil 1.1). Ta tümörleri ekzofitik olarak dışa doğru büyüme gösterirken ürotelyumun ötesine geçmezler. T1 tümörleri lamina propriyaya invaze olmuştur, fakat muskularis propriya'ya geçmemiştir. T2 tümörleri musküler propriyaya, T3 tümörleri perivezikal dokuya invaze olmuştur. T4 tümörleri ise diğer organ yapılarına ulaşmıştır [40].

### **1.1.2. Mesane Tümörlerinin Histolojik Derecelendirilmesi**

1998'de WHO ve "The 2005 International Society of Urological Pathology( (ISUP)" tarafından yeni non-invaziv ürotelyal tümör sınıflaması teklif edildi ve 2004'te WHO tarafından yayınlandı [12] (Çizelge 1.2).

## WHO/ISUP Derecelendirmesi

Düşük malign potansiyeli olan papiller ürotelyal neoplazmlar, malign sitolojik özellikleri olmayan ama normal ürotelyal hücrelerin papiller konfigürasyonda gözlemlendiği lezyonlardır. Progresyon riskleri önemsiz olmakla beraber, tamamıyla benign değillerdir ve tekrarlama eğilimleri vardır [12].

### Çizelge1.2.1973 ve 2004 WHO derecelendirmesi [12]

1973 WHO derecelendirmesi
Ürotelyal papillom
Grade 1: İyi diferansiye
Grade 2: Orta diferansiye
Grade 3: Kötü diferansiye

2004 WHO derecelendirmesi
Ürotelyal papillom
Düşük malign potansiyelli papiller ürotelyal neoplazmlar
Düşük derece papiller ürotelyal karsinom
Yüksek derece papiller ürotelyal karsinom

### 1.1.3. Patoloji

Papiller ürotelyal karsinom genitoüriner sistemin en yaygın tümörüdür ve genitoüriner sistemin en fazla ölüme neden olan 2. tümörüdür.

### **1.1.3.1. Normal Mesane Ürotelyumu**

Normal mesane epiteli 3 ile 7 katman kalınlığında olan bir ya da daha çok tabakadan oluşan ara hücreler, bazal hücre tabakasının üzerinde yer alır. En yüzeyel katman ise düz, büyük ve şemsiye hücrelerinden oluşur. Mesanenin en iç yüzünü kaplayan ürotelyum, lamina propriya bazal membranı üzerinde yerleşir. Lamina propriya, içinde düz kas lifleri bulunan tunika muskularis mukozayı içerir [10].

### **1.1.3.2. Ürotelyal Karsinom**

Mesane tümörlerinin %90'dan fazlası ürotelyal karsinomdur. Ürotelyal (transizyonel hücreli) kanserler normal ürotelyumdan, mukoza da papiller katlantıları olan artmış sayıda epitelyal hücre tabakaları, artmış çekirdek/stoplazma oranı, belirgin nükleoli, kromatin kümeleşmesi ve artmış sayıda mitoz ile ayrılır. Ürotelyal karsinomlar tümör büyüme yapılarına göre, papiller, sesil, çevreye yayılan, nodüler, mikst ve yassı, epitelyum içine doğru büyüyen (karsinoma in situ) olarak sayılabilir. Mesane tümörlerinin yaklaşık %70'i papiller, %10'u nodüler ve %20'si mikst tiptedir. Tümör derecesi (grade) ve evresi (stage) arasında güçlü bir bağlantı bulunmaktadır. Buna göre düşük derecede ve orta derecede diferansiye tümörler yüzeyel olmaya meyilliyken az diferansiye olan daha çok kas invaziv tiptedir. Düşük dereceli (tamamı iyi diferansiye ve birçoğuda orta derece diferansiye) tümörlerin ve yüksek dereceli (kötü diferansiye) tümörlerin temelde birbirinden farklı orjinleri vardır. İyi diferansiye (grade 1) tümörlerince bir fibromüsküler sapla birlikte yedi kattan daha fazla tabakaya kalınlaşmış bir ürotelyuma sahip ve hücrelerinde az miktarda anaplazi ve pleomorfizm bulunan tümörlerdir. Düşük malign potansiyeli olan papiller ürotelyal tümörler olarak adlandırılmaktadır. WHO ve ISUP sınıflandırmasında

düşük dereceli (low grade) ürotelyal karsinom olarak adlandırılmıştır. Kötü diferansiye (grade 3) tümörler yeni WHO ve ISUP sınıflandırmasında yüksek dereceli (high grade)ürotelyal karsinom olarak adlandırılmıştır. Tabandan yüzeye doğru gidildikçe hücrelerde farklılaşma görülmez. Yüksek çekirdek ve stoplazma oranı ile birlikte belirgin nükleer pleomorfizm göze çarpar. Mitotik şekillere sık rastlanır [10].

### **1.1.3.3. Karsinoma İn Situ**

Karsinoma in situ mukozanın lezyonu olarak görünürse de sıklıkla endoskopik olarak tanınmaz. Histolojik olarak az diferansiye transizyonel hücreli karsinomdan oluşur. Karsinoma in situ asemptomatik olabilir ya da şiddetli semptomlar oluşturabilir. Karsinoma in situ olan hastaların % 80 ile %90'ında idrar sitolojisi pozitifdir. Yüksek gradeli yüzeysel tümörü olan hastaların % 25 ya da daha fazlasında karsinoma in situ mevcuttur ve bunların %40'ı ile %83'ü ilerleyerek kasa invaziv kansere dönüşür. Yaygın karsinoma in situ nedeniyle sistektomi yapılan hastaların %20'sinde mikroskopik kas tutulumu olan kanser görülmektedir [10].

### **1.1.3.4. Skuamoz Hücreli Karsinom**

Schistosoma hematobium enfeksiyonuna bağlı skuamoz hücreli kanserler ekzofitik, nodüler ve dallanan lezyonlar olup genellikle iyi diferansiyedirler, lenf nodu ve uzak metastaz oranları daha düşüktür. Schistosoma haematobium enfeksiyonuna bağlı olmayan skuamoz hücreli kanserler genellikle üriner taşların ya da uzun uzun süreli kateterizasyonun kronik irritasyonuna, kronik üriner enfeksiyonlara ya da mesane divertikülüne bağlı ortaya çıkmaktadır. Skuamoz hücreli karsinoma karakteristik

olarak squamoz inciler adı verilen birbirinden ayrık hücre topluluklarında oluşan keratinize adalar şeklindedir. Değişik derecelerde histolojik farklılıklar gösterebilir [10].

#### **1.1.3.5. Adenokarsinoma**

Adenokarsinomalar primer mesane kanserlerinin %2'sinden azını oluşturur. Adenokarsinomalar aynı zamanda barsaklardaki üriner kalıntılarda görülebilir [10].

#### **1.1.4. Mesane Karsinomanın Yayılma Şekilleri**

##### **1.1.4.1. Direk Yayılım**

Malign transizyonel epitel hücrelerinin bazal laminayı aşarak alttaki lamina proprianın bağ dokusuna erişmeleri ve sonrasında muskularis propria ve perivezikal yağ dokusuna kadar ulaşmalarıdır. Mesane kanserinin lokal invazyonu üç yolla gerçekleşir. En sık görülen şekli tümörlerin yaklaşık %60'ında görülen ve primer mukozal lezyonun altında geniş bir yüzeye yayılmış kanser hücreleri ile karakterize kitlesel yayılımdır. Tümörlerin yaklaşık %25'inde (tentacle-like) dokunaç benzeri invazyon ve yalnızca %10'unda da normal görünümlü mukoza altında büyüyen tümör hücrelerinin bulunduğu lateral yayılım görülür. Lamina propriya ve daha sıklıkla muskularis propriaya giren malign ürotelyal hücreler kan damarlarına ve lenfatiklere ulaşarak buralardan bölgesel lenf nodlarına ve uzakbölgelere metastaz yaparlar [10].

#### **1.1.4.2. Metastatik Yayılım**

Mesane kanserinde vasküler ya da lenfatik yayılım görülür. Yüzeysel kanseri olan bazı hastalarda latent uzak metastazlar bulunur ve bu hastaların büyük çoğunluğu, lezyonları patolojik evreleme sırasında daha düşük gösterilen ve aslında kasa invaziv tümörleri olan hastalardır [10].

#### **1.1.4.3. Lenfatik Yayılım**

Mesane kanserlerinin en sık metastaz yaptıkları yerler pelvik lenf nodlarıdır. Bunlar arasında paravezikal nodlara yayılım %16, obturator nodlara %74 eksternal iliak nodlara yayılım %65 ve presakral nodlara yayılım da kabaca %25 civarındadır [10].

#### **1.1.4.4. Hematojen Yayılım**

Vasküler metastazlar en sık karaciğere (%38), akciğere(%36), kemiğe (%27), adrenal bezlere (%21) ve bağırsaklara (%13) olur. Bunların dışındaki herhangi bir organa da metastaz olur [13].

### **1.2. Mesane Kanserine Yol Açtığı Düşünülen Mesleki, Çevresel ve Genetik Faktörler**

Mesane kanseri, akciğer kanseri ile birlikte ciddi epidemiyolojik araştırmalar yapılan ilk kanser türlerinden biridir. Sigara içimi, meslek yüzünden maruz kalınan kimyasallar ve kronik enfeksiyonlar gibi mesane kanserine yol açan faktörler yıllardır bilinmektedir.

## **1.2.1. Epidemiyoloji**

### **1.2.1.1. İnsidans ve Prevalans**

Kanser insidansı bir yılda 100,000 insanda yeni tanı almış olgu sayısı olarak ifade edilir. Mesane kanseri erkeklerde kadınlardan 2-3 kat daha fazla görülmektedir. Mesane kanseri 2002 yılında tutulan kayıtlara göre Dünya’da 357, 000 olguyla en sık gözlenen 9. Kanserdir [15]. Erkeklerde prostat, bronş ve akciğer kanserlerden sonra % 6,3 ile tüm kanserler içinde en sık 4. kanserdir. Kadınlarda %2,6 ile tüm kanser olgularında 7. sırada görülen kanserdir. Ülkemizde yapılan bir çalışmaya göre Türkiye’de erkeklerde en sık görülen üçüncü, kadınlarda ise en sık görülen 13. kanser türüdür [15].

### **1.2.1.2. Yaş**

Mesane kanseri genellikle orta ve ileri yaşın hastalığıdır. Mesane kanseri insidansı direk olarak yaşla artar. 65–69 yaşlarında erkeklerde 100.000’de 33’ten, 85 yaşın üstündeki erkeklerde 100.000’de 75’e çıkar. Mesane kanseri adolesanlarda ve 30–40 yaş arasındaki genç yetişkinlerde iyi diferansiye histolojilidir ve daha sessiz biçimde davranır. Genç insanlarda prognoz çok daha iyidir, çünkü daha çok yüzeysel tümörler görülür; bununla beraber hastalığın progresyon riski gençlerde yaşlılardaki ile aynıdır [14].

### **1.2.1.3. Bölgesel ve Ulusal Farklılıklar**

Mesane kanserinin Ortadoğu ve Kuzey Afrika ülkelerinde insidans hızı çok yüksektir. Mesane kanseri insidansı Orta Afrika, Güney Asya ve uzak doğu ülkelerinde en düşük olduğu bildirilmiştir [14].



### **1.2.2. Etiyoloji ve Risk Faktörleri**

Mesane kanseri gelişiminde ve progresyonunda rol oynayan faktörler arasında; mesleki kimyasallara maruziyet; kahve, sigara, analjezik ya da yapay tatlandırıcı kullanımı; viral enfeksiyonlar, bakteriyel mantar ve genotoksik kemoterapötik ajanlar sayılabilir. Karsinojenler hedef hücre DNA'sında lezyonlar oluştururlar ve tümöröenezisi hem başlatır hem de devam ettirirler [16].

#### **a) Onkogenler**

Mesane kanseri gelişiminde suçlanan mekanizmalardan biri onkogenlerin indüksiyonu olup, bu normal genin değişik malign fenotip kodlayan gene dönüşmesi ve normal büyüme mekanizması kontrolünden kaçmaya imkân veren hücrelere dönüşmesine neden olur [10].

#### **b) Tümör Süpresör Genler**

Karsinogenez sürecinde onkogenlerin yanısıra, hücre büyümesi kontrolü, DNA tamiri ya da apoptozisi sağlayan proteinleri kodlayan genlerinin inaktivasyonu da önemli rol oynar. Tümör süpresör genler olarak adlandırılan bu genlerdeki inaktivasyon ya da delesyon kontrolsüz büyümeye da hasarlı DNA hücrelerini öldürme programında bir bozukluğa neden olur, bunun sonucunda genetik olarak değişik hücreler kontrolsüz çoğalır. Etkilenmiş hücrelerde hatalı DNA hücreleri oluşur [10].

### c) Mesleki Faktörler

Sigara içiminden sonra, meslek faktörü de mesane kanseri için en büyük ikinci risk sayılmaktadır. 1985 yılında ilk defa Alman cerrah Rehn, magenta üreticilerindeki artmış mesane kanseri oranlarına dikkat çekti. 1954 yılında ise kimya endüstrisinde çalışanlarda  $\beta$ -naftilaminin mesane kanseri riskini 200 kat arttırdığı gösterildi [17].  $\beta$ -naftilamin, kömür ve kömür katranının distilasyonu sonucunda elde edilen bir aromatik amin dir. Karsinojik etkileri yüzünden endüstride kullanımı (İsviçre, İngiltere ve İtalya gibi) pek çok ülkede yasaklanırken Amerika gibi bazı ülkelerde de kullanımı kısıtlanmış ve denetim altına alınmıştır. Aromatik aminlerin yanında boyalar, metaller, endüstriyel yağlar ve polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH) da mesane kanseri riskinin artması ile alakalıdır. Organik materyallerin piroliz veya pirosentezindeki tamamlanmamış yanmayı içeren işlemler PAH'ları ortaya çıkarmaktadır. Sonuç olarak maden işçileri, baca temizleyiciler, ocakçılar, demirciler, zift ve asfalt yapanlar gibi pek çok endüstriyel meslek sahibi PAH'lara maruz kalmaktadır. Aromatik amin üretiminde, boyayla alakalı üretimde, kauçuk ve kablo üretiminde, tekstil ve deri işlerinde, kömür, alüminyum ve petrol endüstrilerinde bahsi geçen kimyasal ajanlara maruz kalınmaktadır. En bilinen mesane karsinojenleri ve bu karsinojenlere maruz kalınabilecek endüstriyel alanlar Tablo 3'de verilmiştir [18]. Çoğu zaman maruz kalınan çevresel veya mesleki kimyasallar tamamen aktif halde değildirler. Bu kimyasalların etkileri vücutta birtakım aktive veya inaktive edici enzim veya yolaklarla düzenlenir [20]. Kimyasal prokanserojenik bileşikler gibi çevresel risk faktörleri potansiyel kanserojen formlarına dönüşebilmek için oksidatif (Faz I) enzimlerle (çoğunlukla CYP enzimleri) metabolik olarak aktive edilmelidir. Çoğu kanserojen ise Faz II enzimleri

ile detoksifiye edilir. Sonuç olarak, çevresel kimyasalların kanserojenik etkilerine karşı hastalığa yatkınlıkta kişisel varyasyonlara sebep olur [21].

**Çizelge1.3.** Bilinen Mesane Karsinojenleri ve Bunlara Maruz Kalınan Endüstriyel Alanlar [19].

<b>Mesane Karsinojenleri</b>	<b>Endüstriyel Alanlar</b>
• 2-naftilamin	Kimyasal boya üretimi
• Benzidin	• Kauçuk üretimi (özellikle lastik ve kablolar)
• 4-aminobifenil	• Kömür gazı üretimi
• Diklobenzidin	• Arıtma
• Ortodianizidin	• Ateşleyici üretimi
• Ortolidin	• Tarım ilaçları
• Fenasitin	• Tekstil baskı atölyeleri
• Klornafazin	
• Siklofosfamid	

#### **d) Sigara İçimi**

Sigara mesane kanseri için gösterilebilmiş ana risk faktörüdür. Ürotelyal karsinomlu erkeklerde %60, bayanlarda ise %30 sigara öyküsü vardır [22]. Sigara içimi tüketilen sigara miktarına göre mesane kanseri riskini 2 ila 6 kat arası artırır [22]. Pasif içicilerde mesane kanseri gelişme riski içmeyenlere oranla istatistiksel anlamda farklı saptanmamıştır [23]. Tütünde yaklaşık olarak 3800 kimyasal vardır, fakat bu kimyasallardan 2-naftilamin ve 4-aminobifenil en şüpheli iki kimyasal ajan olarak görülmektedir. Sigaradaki bileşiklerin mesane üzerindeki kanserojenik etkilerinin

yanında, mesane epitelindeki hiperplazi temel alınarak sigara içiminin proliferasyonu arttırdığı bulunmuştur [23].

#### **e) Kahve ve Çay Tüketimi**

Mesane kanseri riski kahve ve çay tüketenlerde hafif yüksek bulunmuş olsa da bu durum çay kahve tüketenlerin sigara tüketimi ve diyet alışkanlıkları ile ilgili olabilir [24].

#### **f) Enflamasyon ve Enfeksiyonlar**

Erkeklerde şistozomiazisin endemik olduğu Mısır'da mesane squamoz hücreli karsinomu en sık görülen malignensidir [25]. Ayrıca şistozomiazisli erkeklerde transizyonel hücreli karsinom riski de artmıştır. Yapılan bir çalışmada HPV(Human papilomavirus enfeksiyonu enfeksiyonunun rölatif olarak mesane kanseri gelişme riski 2,3 kat arttırdığı öne sürülmüştür [26].

#### **g) Kemoterapotik Ajanlar**

Mesane kanseri gelişiminde rolü ispatlanmış tek kemoterapotik ajan sisklofosfamittir. Siklofosfamidin üriner bir metaboliti olan akrolein hem hemorajik sistitten hem de mesane kanserinden sorumlu tutulmaktadır. Bununla beraber hemorajik sistit gelişimi mesane kanseri ile ilişkili değildir [27].

### **1.3. Ksenobiyotiklerin Metabolizması**

Çeşitli yollarla besin amaçlı doğal bileşikler dışında vücuda (oral, inhalasyon, deriden emilim gibi)giren ve vücuda yabancı olan bileşiklerin tümüne ksenobiyotik

denir. Bu ksenobiyotiklerin bazıları suda çözünebilir(hidrofilik) özellikte iken bazılarıda suda çözünemeyen (lipofilik)özelliklerdir. Bu olaylara dayanarak oluşan biyolojik reaksiyonlar sonucu suda çözünebilen bileşikler kolayca idrar ve safra ile dışarıya atılabilmektedir. Böylece bir ksenobiyotiğin canlı organizmada uğradığı bu kimyasal değişimlerin bütününe biyotransformasyon denir. Biyotransformasyon sırasında bazı ksenobiyotiklerin biyolojik etkisini kısmen ve tamamen kaybettiği düşünülmesine rağmen bu durumlarda oluşan ürünler kendisinden daha etkin veya daha toksik bileşik olarak gösterebilir. Bu çok aktif ara ürünlerin oluşmasına "toksikasyon" veya "biyoaktivasyon" ksenobiyotiğin ve metabolitlerin biyotransformasyon sonucu toksik etkisi azalıyor veya ortadan kalkıyorsa bu olaya "biyoinaktivasyon" ya da "detoksifikasyon"denir [28-29].

Ksenobiyotiklerin biyotransformasyon mekanizmaları iki faz da gerçekleştirir. Faz I reaksiyonları yükseltgenme(oksidasyon), indirgenme (redüksiyon) ve hidroliz reaksiyonlarından oluşur. En çok karaciğerde, mikrozomal enzim mekanizması içinde yer alan Sitokrom P-450(CYP) reaksiyonlarında görev alır. Sınırlı olmakla beraber akciğer, böbrek, barsak, testis, deri, plasenta, adrenal bezde de faz I reaksiyonu gerçekleşebilir. Faz I reaksiyonu ile lipitte çözünen ksenobiyotikler daha polar hale gelerek vücuttan atılımları kolaylaşır [30-31-32-33].

Ksenobiyotik biyotransformasyon mekanizmalarında rol oynayan Faz I ve Faz II enzimleri ve reaksiyon tipleri Çizelge 1.4 ve Çizelge 1.5' de gösterilmiştir.

**Çizelge1.4.** Faz I reaksiyonları ve rol oynayan enzimler [29].

<b>Reaksiyon Tipi</b>	<b>Enzimler</b>
Yükseltgenme (oksidasyon)	Sitokrom P450(CYP)'ler Ksantin okidaz Peroksidazlar Aminooksidaz Dioksijenaz Süperoksit dismutaz
İndirgenme (redüksiyon)	Sitokrom P450(CYP)'ler Ketoredüktaz Glutasyon peroksidazlar
Hidroliz	Epoksit hidrolaz Karboksiesteraz Amidazlar

CYP enzimleri multigen süper enzim ailesi olan, karsinojenlerin ve özellikle antikanser ilaçların biyoaktivasyon ve inaktivasyonunda önemli rol oynadıkları için kanserin etiolojisinde ve tedavisinin belirlenmesinde önemli yer tutmaktadır. CYP metabolizması, sırasında oluşan reaktif ara ürünler genellikle toksik ve karsinojendir. Fakat bunlar metabolizma sırasında hemen faz II enzimleri olan GST 'ler tarafından, başta konjügasyon olmak üzere, çeşitli reaksiyonlarla inaktif polar ürünlere dönüştürülerek böbreklerden atılırlar [34].

Faz II reaksiyonları genellikle konjugasyon reaksiyonlarıdır. Detoksifikasyon olarak kabul görünen konjugasyon reaksiyonları ile endojen maddelerle birleşen polar metabolitleri etkisiz hale getirerek uzaklaştırır [29-35].

**Çizelge 1.5.** Faz II reaksiyonları ve rol oynayan enzimler [29].

<b>Reaksiyon Tipi</b>	<b>Enzimler</b>
Konjugasyon Reaksiyonları	Glukronil transferaz Sülfonil transferaz <b>Glutasyon S-transferaz(GST)</b> Glukozil transferaz Tiyol transferaz
Asetilasyon	N-asetiltransferaz Açıltransferaz
Metilasyon	N-asetiltransferaz
Diğerleri	O,N,S-metiltransferazlar

### **1.3.1. Glutasyon ve Glutasyon S-transferazlar**

Glutasyon (GSH); sistein, glutamik asid ve glisinden oluşan, intraselüler konsantrasyonu olan bir tripeptittir. Glutasyon iki önemli yapısı olan tiyol grubu ve  $\gamma$ -glutamin bağı bulundurur. Genelde "GSH" olarak gösterilir. Karsinojenik etkilere korunmada glutasyonun önemli bir rolü vardır. Bu rol GSH konjugasyon

reaksiyonların çoğunu glutatyon S-transferaz (GST)denilen enzimler tarafından gerçekleştirir. GST izoenzimlerin dokuların oksidatif stresten korunmasında, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda, ilaç dirençliliği ve apoptoziste önemli rol alan çok fonksiyonlu enzim grubudur [36].

Glutatyon S-Transferaz (GST) elektrofilik ve hidrofilik bileşiklerin glutatyon ile etkileşimlerini sağlayarak, hücrel makromolekülleri reaktif elektrofille karşı koruyan Faz-II detoksifikasyonunda yer alan multigen ailesidir. Bu enzimler genellikle hayvanlarda, bitki ve birçok mikroorganizmalarda bulunur. Moleküler 25kD'dur ve her bir alt birim 200-240 aminoasitten oluşur [37]. En çok rastlandığı dokular, başta karaciğer olmak üzere, kalınbağırsak, incebağırsak, akciğer, böbrek, kas, meme, dalak, plasenta ve testis gibi birçok organın sitosolü ve membranıdır [38]. En çokta sıçanlarda ve insanlarda bulunur [39]. GST, reaktif oksijen radikallerinin ve sigara tütününde bulunan karsinojenlerin detoksifikasyonunda, lipid peroksidasyonu sonucu oluşan 4-hidroksinonenal gibi ajanların metabolizmasında önemli bir role sahiptir [31-42].

Bireyler arasında görülen bazı kanser türlerine yatkınlığın artması veya azalmasının temelinde yatan neden ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda (biotransformasyon) rol oynayan enzimlerin gösterdiği genetik polimorfizmler ve bu enzimlerin genlerinin ve/veya proteinlerindeki ekspresyonlarının değişkenliğidir [43-44].

### **1.3.2. GST'lerin Substratları**

Glutatyon S-Transferaz enzimleri çevresel karsinojenler (Stiren oksit, Trikloroetilen, Akrolein, vb) endojen moleküller (Adenin propenal, 9-Hidropeksi-linoleik,



Kolesterol-5,6-oksit) kemoterapik ilaçlar(Cis-platin, Klorambusil, siklofomid)gibi çok sayıda toksik bileşikler GST'lerin substratlarındandır (çizelge1.6) [41]. GST, çok substratlı bir enzimdir. Endojen yağ asidi oksidasyonu ürünleri, çevresel karsinojen ve toksik bileşikler GST'lerin substratıdır. GSH'un kosubstratına özgül olan bir G bölgesi ve hidrofobik elektrofilik substratların bağlandığı H bölgesi vardır. GSH'un tiyol grubu, cebin açık olan kısmına dönüktür. Diğer substratlara bağlanan grup, bu tiyol grubudur [45-46].

GST, besinlerle birlikte alınan toksik maddelerin uzaklaşmasını sağladığı gibi, prostoglandinlerin izomerizasyonu, hem bilirubin, yağ asitleri ve safra tuzları gibi nonsubstrat ligandları GSH ile bağlayarak taşınmasını da sağlamaktadır. Ayrıca reaktif elektrofilik bileşiklerin vücuda zarar vermesini, aynı tür bileşikleri birbirine kovalent bağlayarak da önleyebilmektedir [41].

GST'in etkilediği bu ksenobiyotik akseptörler içinde nitrojenli, halojenli bileşikler, polisiklik aromatik hidrokarbonlar, organofosfatlar yer almaktadır. Bu moleküller için ilk biyolojik reseptör, endoplazmik retikulum ve elektron taşıma sisteminin oluşturan mikrozomal oksijenazlardır. Ksenobiyotikler, bu enzim sistemi ile oksijenlenir, oksijen atlı ürünlerin sonraki mekanizması, daha fazla oksijenasyon ve bu ürünlerin suda daha kolay çözünür hale gelmesidir [37]. Çizelge 1.6'da GST'lerin substratları detaylı olarak gösterilmektedir [42].

**Çizelge1.6.** GST'lerin substratları [42].

<b>Çevresel karsinojenler</b>	<b>Pestisidler</b>	<b>İlaçlar</b>	<b>Endojen Moleküller</b>
Stiren oksit	Lindan	Cis-platin	4-Hidroksi-2-nonenal
4-Nitrokinolin oksit	Alaklor	Klorambusil	Kolesterol-5-6-oksit
Akroleyn	Atrazin	Siklofosfamid	Adenin propenal
Hekzaklorobutadien	DDT	Tiyotepa	9-hidropeksi-linoleik asit
Trikloroetilen	Metil paration	Fosfomisin	Dopaminokrom
Metilen klorür		Adriamisin	Kateşol estrogenleri
Etien oksit		Nitrogliserin	

### 1.3.3 GST'lerin Sınıflandırması

Glutatyon-S transferazlar memelilerde ilk kez bilgileri 1961 yılında, fare karaciğerinde glutatyonun (GSH) konjugasyonunun gözlenmesi üzerine elde edilmiştir.

Yapılan sınıflandırmaya 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 glutatyon 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. Çizelge 1.7'de GST ailesinin izozimleri ve buldukları organlar detaylı bir şekilde verilmiştir [47] .



**Çizelge 1.7.** GST ailesinin izozimleri ve bululdukları organlar [47].

Süperaile	Sınıf	Protein	Organ
Sitozolik	Alfa	GSTA1	Testis, karaciğer, böbrek, adrenal, pankreas
		GSTA2	Karaciğer, testis, pankreas, böbrek, adrenal, beyin
		GSTA3	Plesanta
		GSTA4	İnce bağırsak, dalak, karaciğer, böbrek, beyin
Sitozolik	Mu	GSTM1	Karaciğer, testis, beyin, adrenal, böbrek, akciğer
		GSTM3	Testis, beyin, ince bağırsak, iskelet kası, akciğer
		GSTM4	Beyin, kalp, iskelet kası
		GSTM5	Beyin, kalp, akciğer, testis
Sitozolik	Pi	GSTP1	Beyin, kalp, akciğer, testis, böbrek, pankreas
Sitozolik	Teta	GSTT1	Böbrek, karaciğer, ince bağırsak, beyin, prostat
		GSTT2	Karaciğer
Sitozolik	Sigma	GSTS1	Fetal karaciğer, kemik iliği
Sitozolik	Zeta	GSTZ1	Fetal karaciğer, iskelet kası
Sitzolik	Omega	GSTO1	Karaciğer, kalp, iskelet kası, pankreas, böbrek
		GSTO2	Karaciğer
Mitokondriyal	Kappa	GSTK1	Karaciğer mitokondrisi
		GSTK2	Karaciğer mitokondrisi
Mikrozomal (MAPEG)		MGST1	Karaciğer, pankreas, prostat, kolon, böbrek, beyin
		MGST1	Testis, prostat, ince bağırsak, kolon
		MGST2	Karaciğer, iskelet kası, ince bağırsak, testis
		MGST3	Kalp, iskelet kası, adrenal bez, tiroid
		LTC4S	Trombosit, akciğer, karaciğer
		FLAP	Akciğer, dalak, timus, ince bağırsak

### **1.3.4. Glutasyon S-Transferaz Ailesi**

#### **1.3.4.1. GST Alfa Sınıfı**

Alfa gen ailesi tarafından eksprese edilen dört GST izoenzimi tanımlanmıştır. GSTA1 ve GSTA2 insan dokularında bol miktarda eksprese edilir; ancak ekspresyon düzeyleri farklı doku ve bireylerde farklılık gösterir [48]. Karaciğer, böbrek ve adrenal dokuda bol miktarda eksprese edilir ve insan karaciğerinde total GST'lerin %80'ininden fazlasını kapsar [47].

#### **1.3.4.2. GST Mü Sınıfı**

GST mü sınıfı, 1981 yılında Board tarafından karaciğerde tanımlanan insanlarda M1'den M5'e kadar numaralanan 5 izoenzimi bulunmaktadır [49]. Bu izozim genleri 1. kromozom (1p13), üzerinde bulunurlar. GSTM1 Mü sınıfı ailesinden en yaygın eksprese edilenidir, esas olarak karaciğer, mide ve beyinde salınmakla birlikte; kemik, beyin, paratiroid (PTH), akciğer, kalp, böbrek, uterus, over organlarında bulunur [50-51].

#### **1.3.4.3. GST Pi Sınıfı**

GST'ler arasında en yaygın olan pi sınıfıdır. Akciğer, özafagus, böbrek, adrenal bez, kalp, beyin ve plasenta gibi birçok organda eksprese edilir [41-49]. GSTP1' in, ilk olarak insan plasentasında bulunan anyonik GST olduğu bulunmuştur [52].

Sonradan beyin, akciğer, kalp, testis, adrenal bez, böbrek, pankreas ve karaciğer olmak üzere dokuların büyük bir kısmında sentezlendiği görülmüştür [47]. Glutatyon-S Transferaz P1 (GSTP1) geni ksenobiyotik metabolizmasının faz II evresinde rol oynayan GST enzim ailesinin bir üyesidir. Sigara dumanında bulunan polisiklik aromatik hidrokarbonlar gibi bazı kanserojen maddelerin glutatyonla konjugasyon reaksiyonlarını katalizler [53].

#### **1.3.4.4. GST Teta Sınıfı**

İnsanlarda GSTT1 ve GSTT2 olmak üzere iki sınıfı bulunmuştur [54]. GSTT1 239 aminoasitten oluşan bir homodimerdir., Kolon beyin, böbrek, kalp, prostat ,overler, tonsil, uterus testis, gibi organlarda ekspresyonu tespit edilmiştir [54]. GSTT1 geninde enzimin fonksiyonel yetersizliğine yol açan gen kanser riskini artırdığı bildirilmiştir [47-54].

#### **1.3.4.5. GST Omega Sınıfı (GSTO)**

Omega gen ailesi 10. Kromozomun büyük kolonunda bulunur(hGSTO3p). Yapısal olarak benzemelerine rağmen diğerlerinin substratlarıyla çok etkileşime girmezler. GST ailesinin diğer üyelerinin aktif bölgelerinde serin ya da tirozin bulunurken GSTO sınıfında sistin bulunmaktadır.

Omega sınıfının insanda, farede, sıçanda, Drosophila melanogaster'de bulunduğu tespit edilmiştir. GSTO sınıfının GSTO1 ve GSTO2 olmak üzere iki izoenzimi bulunmaktadır.

Omega sınıfı indirgeme reaksiyonlarını kataliz eder. İlaç dirençliliğinde, radyasyon dirençliliğinde, içme suyuyla arseniği indirgemedede, oksidatif streste rolü olduğu gibi alzaymır, Parkinson, sinir sistemi hastalıklarında da koruyucu role sahiptir [55]

#### **1.3.4.6. GST Kappa Sınıfı (GSTK)**

GST ailesinin bu sınıfı hakkında literatürde pek bilgiye rastlanamamıştır. GSTK1(GSTK1-1) enziminin 1-kloro-2,4-dinitrobenzen ve etakrinik asit substratlarına aktiviteleri bulunmaktadır. Önceleri GSTT izoziminin alt grubundan olduğu düşünülür. GSTK1-1 ve GSTK2 olmak üzere iki adet izoenzimi bulunmaktadır. Hücrede mitokondride ve peroksizomda bulunur. Kemiriciler, insan ve C.elegans da bulunan GST kappa mitokondri ve peroksizomda enerji ve lipit metabolizmasında görevlidir. GST' lerin aktivitelerine benzemesine karşın mitokondri ve peroksizomda bulunmaktadır. Glutatyon transferaz (GST) kappa mitokondrial GST olarakta bilinir. Bakteri ve ökaryotlarda bulunur. GSTK ayrıca adiponektin (beyaz yağ) biyosentezinde anahtar görevindedir ve proteinlerin doğru katlanmasında şaperon proteini olarak fonksiyon göstermektedir.

GSTK insülin resistansı, obesite ve diyabette de rolü vardır. Yapılan bir çalışmada Fare ve insan yağ dokusunda GSTK1 obesite ile negatif korelasyon göstermiştir. GSTK1 Böylece metabolik hastalıklarda rolü olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, GSTK1 polimorfizm çalışmaları insülin salınımı ve yağ depolamanın ilişkili olduğunu göstermiştir.

GSTK1-1 bir çok dokuda özellikle beyaz yağ dokusunda eksprese olmaktadır. GSTK1-1 fare ve insanda obesite ile negatif olarak ilişkilidir ve insülin direnci

hastalığının tedavisinde geliştirilen ilaçlar için hedef olarak düşünülmektedir [56-57-58].

### **1.3.5. Glutasyon S-Transferazlar ve Mesane Kanseri**

İnsanlarda detoksifikasyon sistemleri arasındaki genetik farklılıklar, mesane kanserine neden olan çevresel faktörlerin etkinliğinin de farklı olmasına neden olmaktadır. Bizim çalışmamızda ilk önce mesane kanserli hastaların tümörlü ve normal dokusunda, GSTK1 izoziminin protein ekspresyon farklılıkları iki grup arasında incelendi.

Simic ve arkadaşları 24 mesane kanserli hastada 2005 yılında yapılan çalışmada enzim assay metodu ile çalışılmıştır. 11 hastada GSTM1 aktivitesi bulunmuş ve tümörlü dokularda GSTP1 ve GSTT1 normal dokuya göre yüksek aktivite olduğu bulunmuştur. GSTT1 ile tümör evresi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Tümör evresi artarken GSTT1 aktiviteside artmıştır [59].

Berendsen ve arkadaşları 1997 yılında yaptıkları çalışmada 46 mesane kanserli hastada GSTA1 ve GSTM1, GSTP1 izozimlerini enzim assay metoduyla çalışmışlardır. Tümörlü dokuda normal mesane dokusuna göre GSTP1 ve GSTM1 yüksek aktivitede bulunurken GSTA1 düşük aktivitede bulunmuştur [60].

Oğuztüzün ve ark. 2011 yılında, 124 mesane kanser hastasında immünohistokimya metoduyla çalışmıştır. Bu çalışmada, GSTA1, GSTM1, GSTP1 ve GSTT1 izozimlerinin ekspresyonlarını GSTA ürotelyal tümörlü hücrelerin %48'inde, GSTP1 %46'inde, GSTM %38'inde ve GSTT %42'inde benign epitel hücrelerden daha



şiddetli boyandıklarını göstermişlerdir. Papiller mesane kanserinde GSTA1, GSTM1, GSTP1 ve GSTT1 negatif ekspresyon, benign hücrelerde pozitif ekspresyon bulunmuştur [61].

Ercegovac ve ark. 2011 yılında 84 mesane kanser hastasında immünohistokimya metoduyla çalışmıştır. Yaptıkları çalışmada GSTP1 ve apoptotik proteinleri karşılaştırmıştır. GSTP1'in bcl-2 ile pozitif fakat caspase-3 ile negatif korelasyon olduğu gösterilmiştir [62].

Literatür verilerine göre, GSTK1 izoziminin çalışmalarının sınırlı sayıda olduğu görülmektedir. Bu nedenle yapılan bu tez çalışmasında; mesane karsinomalı dokularda ve tümörün uzağında bulunan normal dokularda detoksifikasyon metabolizmasının Faz II reaksiyonlarını katalizleyen GST enzim ailesinden GSTK1 izoziminin protein ekspresyonunun farklılıklarının araştırılması ve mesane kanserinin patogeneziindeki rolünün araştırılması amaçlanmıştır.

## 2. MATERYAL VE YÖNTEM

### 2.1. Materyal

#### 2.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Primer Antikor(GSTK1)
- Sekonder Antikor (Biotinylated secondary antikor), (Santa Cruz)
- TBS buffer (Santa Cruz)
- %30' luk H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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)
- 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)

### 2.1.1.1. Solusyonların Hazırlanışı

- I. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Blokajı Solusyonu Hazırlanışı: 30 ml %30' luk H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üzerine 470 ml metanol ilave edilerek hazırlandı.
- II. Antijen Retrieval 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
- Hassa terazi
- Işık mikroskobu
- Fotoğraf makinesi

## 2.2. Kullanılan Yöntem

### 2.2.1. Hasta Dokularının Toplanması ve Klinik Bilgiler

Çalışmada İstanbul Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nden onayı alınan ve adı geçen hastaneye 2012-2016 yılları arasında başvuran 60 mesane kanserli hasta yaş ortalaması  $70\pm 9.82$  olan hastalardan patoloji kliniği tarafından yapılan parafin bloklardan her bir vaka için poly-L-lysin kaplı lamlara 1 kesit alındı.

Alınan kesitlere GSTK1 izozimi immunohistokimyasal olarak uygulandı. Çalışmaya konu olan Mesane papiller karsinomlu hastanın 31 (%51,6)'u Azdiferansiyel Adenokarsinom, 29 (%48,3)'sı İyi Diferansiye Adenokarsinom şeklinde tümör alt tiplerine ayrılmaktadır. Hastaların yaş ortalamaları  $70\pm 9.82$  olup, 60 hastanın 10 (%16,66)'ini kadınlar geri kalan kısmını ise 50 (%83,33) erkekler oluşturmaktadır.

Hastaların geneline bakıldığında 10 hasta ((%16,66), hastalık teşhisleri konulduğu güne kadar sigara içmekteyken 40 (%66,66) hasta hayatları boyunca sigara içmediği 10 hasta ((%16,66), ise hayatların belli dönemlerinde sigara içtiği daha sonra sigarayı bıraktığı bilinmektedir (Çizelge 2.1).

**Çizelge 2.1.** Tez çalışmasına konu olan mesane kanserli hastaların klinik bilgileri

		<b>Mesane papiller karsinom</b>	
		<b>N</b>	<b>%</b>
			60
<b>Tümör Tip</b>	<b>Düşük dereceli</b>	31	51.6
	<b>Yüksek dereceli</b>	29	48.3
<b>Yaş</b>		70±9.82	
<b>Cinsiyet</b>	<b>Kadın</b>	10	16,66
	<b>Erkek</b>	50	83,33
<b>Sigara</b>	<b>İçiyor</b>	10	16,66
	<b>İçmiyor</b>	40	66,66
	<b>Bırakmış</b>	10	16,66

### 2.2.2. İmmünohistokimya Prosedürü

#### **I.Basamak: 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) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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 mesane kanserli hastalar için GSTK1 1:300

dilüsyonunda 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.

### **2.2.3 İstatiksel Analiz**

İstatistiksel analizler için NCSS (Number Cruncher Statistical System) 2007&PASS (Power Analysis and Sample Size) 2008 Statistical Software (Utah, USA) programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların (Ortalama, Standart Sapma, Medyan, Frekans, Oran, Minimum, Maksimum) yanısıra niceliksel verilerden normal dağılım göstermeyen parametrelerin iki grup karşılaştırmalarında Mann Whitney U testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen üç ve üzeri grupların karşılaştırmalarında ise Kruskal Wallis test kullanıldı. Parametreler arası ilişkilerin değerlendirilmesinde de Spearman's Korelasyon Analizi kullanıldı. Normal ve tümörlü dokunun GSTK1 ekspresyon düzeylerinin değerlendirilmesinde Wilcoxon Ranks test kullanıldı. Anlamlılık  $p < 0.01$  ve  $p < 0.05$  düzeylerinde değerlendirildi.

### 3. BULGULAR

Çalışma 2012-2016 tarihleri arasında Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Üroloji Kliniği'nde %16.66'ü (n=10) kadın, %83.33'si (n=50) erkek olmak üzere toplam 60 olgu ile yapılmıştır. Olguların yaşları 45 ile 90 arasında değişmekte olup, ortalama  $70\pm 9.82$  yıldır.

**Çizelge 3.1: Tanımlayıcı Özelliklerin Dağılımı**

		Min-Mak	Ort±SD
Yaş (yıl)		45-90	70±9.82
		N	%
Cinsiyet	Kadın	10	16.66
	Erkek	50	83.33
Mortalite	Yok	50	83.33
	Var	10	16.66

Olguların %83.33'sinde (n=50) mortalite görülmezken, %16.66'ünde (n=10) mortalite görülmektedir.

**Çizelge 3.2: Sigara kullanımına İlişkin Dağılımlar**

		Sigara kullanımı		
		İçmiyor	İçiyor	Bırakmış
Sigara kullanım oranı	<i>n (%)</i>	40 (66.66)	10 (16.6)	10 (16.66)
Sigara kullanım süresi (yıl)	<i>Min-Mak (Medyan)</i>	-	20-40 (40)	15-30 (20)
	<i>Ort±SD</i>	-	33.10±10.17	46.70±13.5
Günlük kullanım sayısı (adet)	<i>Min-Mak (Medyan)</i>	-	10-30 (20)	15-35 (23)
	<i>Ort±SD</i>	-	21.33±16.35	20.60±10.10



Olguların %66.66'ünde(n=40) sigara kullanımını görülmezken, %16.66'ü (n=10) bırakmış, %16.66'sinde (n=10) ise sigara kullanımını görülmektedir. Sigara kullanan olguların; sigara kullanım süreleri 20 ile 40 yıl arasında değişmekte olup, ortalama  $33.10 \pm 10.17$  ve medyanı 40 yıldır. Günlük sigara kullanım sayıları ise 10 ile 30 adet arasında değişmekte olup, ortalama  $21.33 \pm 16.35$  ve medyanı 20 adettir. Sigarayı bırakmış olguların sigara kullanım süreleri ise 15 ile 30 yıl arasında değişmekte olup, ortalama  $46.70 \pm 13.5$  ve medyanı 20 yıldır. Günlük sigara kullanım sayıları ise 15 ile 35 adet arasında değişmekte olup, ortalama  $20.60 \pm 10.10$  ve medyanı 23 adettir.

**Çizelge 3.3: Tanı ve Evrelere İlişkin Dağılımlar**

		<b>n</b>	<b>%</b>
<b>Papiller ürotelyalkarsinom tanısı</b>	<b>Düşük dereceli</b>	30	50
	<b>Yüksek dereceli</b>	30	50
<b>Evre</b>	<b>PTa</b>	10	16.6
	<b>PT1</b>	30	50
	<b>PT2</b>	10	16.6

Olguların %50'sinin (n=30) tanısı düşük dereceli papiller ürotelyal karsinom ve %50'sinin (n=50) yüksek dereceli papiller ürotelyal karsinomdur.

**Olguların evreleri incelendiğinde;** %16.6'sı (n=10)PT a iken, %50'si (n=30) PT 1 ve %16.66'sı (n=10) PT 2'dir.

**Çizelge 3.4: Glutasyon S-Transferaz Kappa1 İzozimin Ekspresyonunun Dağılımı**

		<b>Min-Mak (Medyan)</b>	<b>Ort±SD</b>
<b>GSTK1 ekspresyon</b>	<b>Tümör</b>	0-3 (2)	2.00±0.86
	<b>Normal</b>	0-2 (0)	0.40±0.46

Olguların tümörlü dokudaki GSTK ekspresyonları 0 ile 3 arasında değişmekte olup, ortalama 2.00±0.86 ve medyanı 2 iken; normal dokudaki GSTK ekspresyonları 0 ile 2 arasında değişmekte olup, ortalama 0.40±0.46 ve medyanı 0'dır.

**Çizelge 3.5: Normal ve Tümörlü Dokudaki GSTK1 Ekspresyon Düzeylerinin Değerlendirilmesi**

		<b>Tümör</b>	<b>Normal</b>
		<b>n (%)</b>	<b>n (%)</b>
<b>GSTK ekspresyon</b>	<b>0</b>	10 (16.6)	40 (66.6)
	<b>1</b>	10 (16.6)	10 (16.6)
	<b>2</b>	20 (33.3)	10 (16.6)
	<b>3</b>	10 (16.6)	-
	<b>Min-Mak (Medyan)</b>	0-3 (2)	0-2 (0)
<b>Ort±SD</b>		2.00±0.86	0.40±0.46
<b><sup>a</sup>p</b>		<b>0.001**</b>	

<sup>a</sup>WilcoxonRanks Test

\*\*p<0.01

Olguların tümörlü dokudaki GSTK ekspresyon düzeyleri 0 ile 3 arasında değişmekte olup, ortalama 2.00±0.86 ve medyanı 2'dir. Olguların %16.6'sinin (n=10)

ekspresyonu 0, %16.6'ünün (n=10) ekspresyonu 1, %33.3'sinin (n=20) ekspresyonu 2 ve %16.6'sinin (n=10) ekspresyonu 3'dür.

Olguların normal dokudaki GSTK ekspresyon düzeyleri 0 ile 2 arasında değişmekte olup, ortalama  $0.40 \pm 0.46$  ve medyanı 0'dır. Olguların %66.6'sinin (n=40) ekspresyonu 0, %16.6'ünün (n=10) ekspresyonu 1 ve %16.66'sinin (n=10) ekspresyonu 2'dir.

Olguların tümörlü ve normal dokularındaki GSTK ekspresyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p=0.000$ ;  $p<0.01$ ). Normal dokuya göre tümörlü dokudaki GSTK ekspresyonu iki birim daha yüksektir.

**Çizelge 3.6: Cinsiyet, Mortalite, Sigara Kullanımı İle Tümör GSTK Ekspresyon İlişkisi**

		Tümör GSTK ekspresyon		
		<i>n</i>	Min-Mak (Medyan)	<i>P</i>
Cinsiyet	Kadın	10	1-3 (2)	<sup>b</sup> 0.413
	Erkek	50	0-3 (2)	
Mortalite	Yok	50	0-3 (2)	<sup>b</sup> 0.400
	Var	10	1-3 (2)	
Sigara kullanımı	İçiyor	10	0-3 (1)	<sup>c</sup> 0.172
	İçmiyor	40	0-3 (2)	
	Bırakmış	10	0-3 (2)	

<sup>b</sup>MannWhitney U Test

<sup>c</sup>Kruskal Wallis Test

Cinsiyetlerine göre olguların tümör GSTK ekspresyon düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ( $p>0.05$ ).

Mortalite varlığına göre olguların tümör GSTK ekspresyon düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ( $p>0.05$ ).

Sigara kullanımına göre olguların tümör GSTK ekspresyon düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ( $p>0.05$ ).

**Çizelge 3.7: Yaş, Sigara Kullanım Süresi ve Sayısı İle Tümör GSTK Ekspresyon İlişkisi**

	Tümör GSTK ekspresyon		
	<i>n</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
<b>Yaş (yıl)</b>	51	0.20	<b>0.378</b>
<b>Sigara kullanım süresi (yıl)</b>	20	-0.19	<b>0.334</b>
<b>Günlük sigara kullanım sayısı (adet)</b>	25	0.40	<b>0.213</b>

*r*: Spearman's Korelasyon Katsayısı

Yaş, sigara kullanım süresi ve günlük sigara kullanım sayısı ile tümör GSTK ekspresyon arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ( $p>0.05$ ).

**Çizelge 3.8: Tanı ve Evre İle Tümör GSTK Ekspresyon İlişkisi**

		Tümör GSTK ekspresyon		
		<i>n</i>	Min-Mak (Medyan)	<i>P</i>
<b>Tanı</b>	<b>Düşük dereceli</b>	30	0-3 (2)	<sup>b</sup> <b>0.732</b>
	<b>Yüksek dereceli</b>	30	0-3 (2)	
<b>Evre</b>	<b>PTa</b>	10	1-3 (2)	<sup>c</sup> <b>0.673</b>
	<b>PT1</b>	30	0-3 (2)	
	<b>PT2</b>	10	1-3 (2)	

<sup>b</sup>*MannWhitney U Test*      <sup>c</sup>*Kruskal Wallis Test*

Tanılara göre olguların tümör GSTK ekspresyon düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ( $p>0.05$ ).

Evrelere göre olguların tümör GSTK ekspresyon düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ( $p>0.05$ ).

#### 4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bir ksenobiyotik veya metabolitin biyotransformasyon sonucu toksisitesi azalıyor veya ortadan kalkıyorsa bu olaya detoksifikasyon denilmektedir. Bazen de, kimyasal maddenin biyotransformasyonu ile çok aktif ara metabolitler oluşabilir. Bu olaya ise toksikasyon veya biyoaktivasyon denir [29-47].

Glutasyon S-transferazlar, elektrofilik ve hidrofilik bileşiklerin glutasyon ile etkileşimlerini sağlayarak, hücrel makromolekülleri reaktif elektrofillere karşı koruyan II. Faz detoksifikasyon enzim ailesi üyesidir [30]. Kemoterapötik ilaçlar, karsinojenler, çevre kirliliği etkenleri ve ksenobiyotikler ile glutasyon arasında konjugasyonu katalizleyen dimerik enzimler ailesidir. GST, reaktif oksijen radikallerinin ve sigara tütününde bulunan karsinojenlerin detoksifikasyonunda önemli bir role sahiptir [31-42].

Yapılan bu tez çalışmasında mitokondriyal GSTK1 çalışılmıştır. GSTK1'in GSTK1-1 ve GSTK2 olmak üzere iki adet izoenzimi bulunmaktadır. Glutasyon transferaz (GST) kappa mitokondriyal GST olarak bilinir. Bakteri ve ökaryotlarda bulunur. GSTK ayrıca adiponektin (beyaz yağ) biyosentezinde anahtar görevindedir ve proteinlerin doğru katlanmasında şaperon proteini olarak fonksiyon göstermektedir.

GSTK insülin resistansı, obesite ve diyabette de rolü vardır. Yapılan bir çalışmada Fare ve insan yağ dokusunda GSTK1 obesite ile negatif corelasyon göstermiştir. GSTK1 Böylece metabolik hastalıklarda rolü olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, GSTK1

polimorfizm çalışmaları insülin salınımı ve yağ depolamanın ilişkili olduğunu göstermiştir. GSTK1-1 fare ve insanda obesite ile negatif olarak ilişkilidir ve insülin direnci hastalığının tedavisinde geliştirilen ilaçlar için hedef olarak düşünülmektedir [63-64].

Oğuztüzün ve ark. 2011 yılında, 124 mesane kanser hastasında immünohistokimya yöntemiyle çalışmıştır. Bu çalışmada, GSTA1, GSTM1, GSTP1 ve GSTT1 izozimlerinin ekspresyonlarını GSTA ürotelyal tümörlü hücrelerin %48'inde, GSTP1 %46'inde, GSTM %38'inde ve GSTT %42'inde benign epitel hücrelerden daha şiddetli boyandıklarını göstermişlerdir. Papiller mesane kanserinde GSTA1, GSTM1, GSTP1 ve GSTT1 negatif ekspresyon, benign hücrelerde pozitif ekspresyon bulunmuştur [61].

Simic ve arkadaşları 24 mesane kanserli hastada 2005 yılında yapılan çalışmada enzim assay yöntemiyle çalışılmıştır. 11 hastada GSTM1 aktivitesi bulunmuş ve tümörlü dokularda GSTP1 ve GSTT1 normal dokuya göre yüksek aktivite olduğu bulunmuştur. GSTT1 ile tümör evresi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Tümör evresi artarken GSTT1 aktiviteside artmıştır [59].

Berendsen ve arkadaşları 1997 yılında yaptıkları çalışmada 46 mesane kanserli hastada GSTA1 ve GSTM1, GSTP1 izozimlerini enzim assay yöntemiyle çalışmışlardır. Tümörlü dokuda normal mesane dokusuna göre GSTP1 ve GSTM1 yüksek aktivitede bulunurken GSTA1 düşük aktivitede bulunmuştur [60].

Yapılan bu tez çalışmasında 60 Mesane kanserli hastanın GSTK1 izoziminin ekspresyonları değerlendirilmiştir. Mesane kanserli dokularında, GSTK1 izozimlerinin ekspresyonları normal dokulara oranla daha fazla olduğu bulunmuştur

( $p=0,0000;0,0000<0,05$ ); ( $p=0,0000, 0,0000<0,05$ ). Literatüre bakıldığında mesane kanserinde GSTK1'in protein ekspresyonlarıyla ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanamamıştır. İlk defa bu çalışmada mesane kanserinde GSTK1' in protein ekspresyonları gösterilmiştir. 2011 yılında Oğuztüzün ve arkadaşları GSTA1, GSTM1, GSTP1 ve GSTT izozimlerinin ekspresyonlarını mesane kanseri hastalarında incelemişler ve tümör dokularında normal dokulardakine oranla daha fazla olduğu gösterilmiştir.

GSTK izoziminin mesane kanserinin oluşumundaki önemi bu çalışmayla ilk olarak ortaya konmuştur. Fakat bu izozimlerin diğer kanser çeşitlerinde de daha fazla hasta grubuyla çalışılması ve hasta klinik parametreleriyle karşılaştırılarak hastalığın prognozuna katkıda bulunulması beklenmektedir.



## KAYNAKLAR

- [1] Cumming, M.R.,ve Klug W.S 2002 Genetik 6.baskı Palme Yayıncılık Ankara 816.
- [2] A.Murat tuncer Sağlık bakanlığı daire başkanlığı Türkiye'de kanser kontrolü Aralık 2009 /ANKARA
- [3] Ulusal Kanser Kontrol Planı2013- 2018;37 kanser.gov.tr/Dosya/NCCP\_2013-2018. (Erişim tarihi:01.01.2014)
- [4] Sobti, R.C., Al-Badran, A.I., Sharma, S., Sharma, S.K., Krişhan, A., Mohan, H., "Genetic polymorphisms of CYP2D6, GSTM1, and GSTT1 genes and bladder cancer risk in North India", Cancer Genet. Cytogenet., Sayı:156, 68-73, Ocak 2005.
- [5] Shen, M., Hung, R.J., Brennan, P., Malaveille, C., Donato, F., Placidi, D., Carta, A., Hautefeuille, A., Boffetta, P., Porru, S., "Polymorphisms of the DNA repair genes XRCC1, XRCC3, XPD, interaction with environmental exposures, and bladder cancer risk in a case-control study in northern Italy", Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev., Sayı:12, 1234-1240, Kasım 2003.
- [6] Sanyal, S., Festa, F., Sakano, S., Zhang, Z., Steineck, G., Norming, U.Wijkstrom, H., Larsson, P., Kumar, R., Hemminki, K., "Polymorphisms in DNA repair and metabolic genes in bladder cancer", Carcinogenesis, Sayı:25, 729-734, Mayıs 2004

- [7] Moore, L.E., Wiencke, J.K., Bates, M.N., Zheng, S., Rey, O.A., Smith, A.H., "Investigation of genetic polymorphisms and smoking in a bladder cancer case- control study in Argentina", *Cancer Lett.*, Sayı:211, 199-207, Ağustos 2004.
- [8] Lin, J., Dinney, C.P., Grossman, H.B., Jhamb, M., Zhu, Y., Spitz, M.R., WU, X., "E- cadherin promoter polymorphism (C-160A) and risk of recurrence in patients with superficial bladder cancer", *Clin. Genet.*, Sayı:70, 240-245, Eylül 2006.
- [9] Anwar, W.A., Abdel-Rahman, S.Z., EL-Zein, R.A., Mostafa, H.M., AU, W.W., "Genetic polymorphism of GSTM1, CYP2E1 and CYP2D6 in Egyptian bladder cancer patients", *Carcinogenesis*, Sayı:17, 1923-1929, Eylül 1996.
- [10] Wood David P . Wein J. , Kavoussi R. , Novick C. ,Partin W. , Peters A. Benign and Malign Disorders of Bladder. *Campbell-Walsh Urology 10th Edition 2012: Bölüm XV: 2309-2506.*
- [11] [www.urotip.com.tr/mesane-kanseri-mesane-tumoru.html](http://www.urotip.com.tr/mesane-kanseri-mesane-tumoru.html).  
(Erişim Tarihi:01.01.2014)
- [12] Makro B, Willien O, Richen S, Eero K, Andros B, Juan PR. EAU Guideline on Non-Muscle Invasive Urothelial Carcinoma of Bladder The 2011 Update .*European Urology* 2011;59(6):997-1008.
- [13] Delclos G.L, Lerner S.P. Occupational Risk Factors. *Scand J Urol .Nephrol Supp.* 2008;4;58- 63

- [14] Parkin D.M. The Global Burden of Urinary Bladder Cancer. Scand J Urol Nephrol Suppl. 2008;218:1220
- [15] Eser S, Yakut C, Özdemir R. Cancer İncidence in Turkey 2006: A Detailed Registry Based Estimation. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention 2010;11:1731-39
- [16] Knowles M.A, Platt F.M, Ross R.L, Hurst C.D. Phosphatidylinositol 3-Kinase (PI3K)Pathway Activation in Bladder Cancer. Cancer Metastasis Rev. 2009;28(3-4):305-316.
- [17] Case, R.A., Hosker, M.E., Mcdonald, D.B., Pearson, J.T., "Tumours of the urinary bladder in workmen engaged in the manufacture and use of certain dyestuff intermediates in the British chemical industry. I. The role of aniline, benzidine, alpha-naphthylamine, and beta- naphthylamine ", Br. J. Ind. Med., Sayı:11, 75-104, Nisan 1954
- [18] Alberts B., Johnson a., Lewis J., Raff M., Roberts K., Walter P., Molecular Biology of the Cell, Garland Science, New York, 2002
- [19] Bailey M., Sarosdy M., Fast Facts – Mesane Kanseri, Çev. Murat Kahramanoğlu, And Danışmanlık ve Yayıncılık, 2001
- [20] Thier, R., Bruning, T., Roos, P.H., Rihs, H.P., Golka, K., KO, Y., Bolt, H.M., "Markers of genetic susceptibility in human environmental hygiene and toxicology: the role of selected CYP, NAT and GST genes ", Int. J. Hyg. Environ. Health, Sayı:206, 149-171, Haziran 2003.

- [21] Longuemaux, S., Delomenie, C., Gallou, C., Mejean, A., Vincentviry, M., Bouvier, R., droz, D., Krishnamoorthy, R., galteau, M.M., Junien, C., Beroud, C., Dupret, J.M., "Candidate genetic modifiers of individual susceptibility to renal cell carcinoma: a study of polymorphic human xenobiotic-metabolizing enzymes", *Cancer Res.*, Sayı:59,2903-2908, Haziran 1999.
- [22] Baffa R, Letko J, Mc Clung C, Lenoir J, Vecchione A, Gomella LG. Molecular genetics of Bladder Cancer: Targets For diagnosis and Therapy. *J Exp Clin Cancer Res.* 2006;25:145-60.
- [23] Zeegers, M.P., Kellen, E., Buntinx, F., Van Den Brandt, P.A., "The association between smoking, beverage consumption, diet and bladder cancer: a systematic literature review", *World J. Urol.*, Sayı:21, 392-401, Şubat 2004.
- [24] Pelucchi C, Tavani A, La Vecchia S. Coffee and Alcohol Consumption and Bladder Cancer. *Scand J Urol Nephrol Suppl.* 2008;(218):37 -44
- [25] Abol-Enein H. Infection: Is It A Cause of Bladder Cancer? *Scand J Urol Nephrol Suppl.* 2008;(218):79- 84.
- [26] Gutierrez, Jimenez A., Juan De Dios Luna, Maria Jose Soto, Antonio Sorlozano. Meta-Analysis Of Studies Analyzing The Relationship Between Bladder Cancer And Infection By Human Papillomavirus. *J Urol.* 2006 Dec;176:2474- 81

- [27] Nillson S, Ullen A. Chemotherapy-Induced Bladder Cancer. Scand J Urol Nephrol Suppl. 2008;218:89- 92
- [28] D.Pessayre, Cytocroms P450s in formain of metabolic reactivess Therapie,48,537(1993).
- [29] N.Vural,Toksik Maddelerin Metabolizması .Toksikoloji,Ankara Üniv.Yayınevi,73,2005.
- [30] Pemples, Schroeder, K., Spencer, S., Meyer, D., Hallier, H., Bollt, H., Human glutathione S-transferase theata (GSTT1): c DNA cloning and the characterization of genetic polymorphism, Biochemical Journal, 282, 305-6 p. 1994
- [31] Strange,R.C.,Spiteri,M.A.,Ramachandran,S.,Fryer,A.A.,2001, Glutathione-S-transferase family of enzymes, Mutation Research, 482, 21-6 p.
- [32] PJ Donald ,Mariswana smoking-possible cause of head and neck carcinoma in young patients.Otolaryngol Head Neck Surg 94,517,(1986)
- [33] F.P Guengerich .Characterization of human microzomal P450 enzymes.Ann.Rev.Pharmacol Toxicol,29,241(1989).
- [34] Antona R.C. and Sundberg M.I. (2006). Cytochrome p450 pharmacogenetics and cancer. Oncogene, 25, 1679–1691.
- [35] J.Caldwell. Conjunction reactions in foreing compoun metabolis:definition consequences and species variations: Drug metab.Rev.13 745(1982).

- [36] Orhan H.Şahin Gönül (1995)Clinical and Toxicological Importance of Glutathione S-Transferases.T Klinik Tıp Blimleri 1995,15
- [37] Sandra Gottschling, Philipp A. Schnabel, Felix J.F. Herth And Esther Herpel, Are We Missing The Target–Cancer Stem Cells And Drug Resistance In Non-Small Cell Lung Cancer, Cancer Genomics & Proteomics 9: 275-286, 2012.
- [38] H. W. Habig, J. M. Pabst, W. B. Jakoby J. Biol. Chem Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation., 1974, 249 (22), 7130-7139.
- [39] Booth,J.,Boyland,E.and Sims,P(1961)An enzym from rat liver catalysing congugations with glutathione.Biochem.J.79:516-524.
- [40] Luis, N.M., Lopez-Knowles, E., Real, F.X., "Molecular biology of bladder cancer", Clin. Transl. Oncol., Sayı:9, 5-12, Ocak 2007. Moore
- [ 41] Eaton, D.L.And Bammler,T.K. (1999). Concise review of glutathione Stransferase and their significance to toxicology. Toxicological science, 49:156-164
- [42] Boyer, T.D.1989. The Glutathione S-transferases: An Update Hepatology, 9 (3), 486-96
- [43] Figen Hançer, Akciğer Kanserinde Metabolik Polimorfizmi (Gstp1 Ala114val) İlaç Rezistansındaki Rolü, Ankara Üni. Y. Lisans Tezi 2006
- [44] Lafuente A, Pujol F, Carretero P, Villa JP, Cuchi A, Human Glutatione s transferase mu (GST mu) deficiency as a marker fort he susceptibility to

bladder and larynx cancer among smokers. *Cancer Lett* 1993, Jan 15;68(1):49-54

- [45] Gulick, A. M., Fahl W. E. (1995) Mammalian glutathione S-transferase: regulation of an enzyme system to achieve chemotherapeutic efficacy. *Pharmacol ther.*, 66: 237-257.
- [46] E. P. Anton, B. Johannes, G. Arne Vander, J. M. Gerard. *J. Biochem*, 1990. 265, 47-54.
- [47] Hayes J.D., Flanagan, J.U., Jowsey, I.R. Glutathione Transferases, *Annu.Rev.Pharmacol. Toxicol.*, 45:51–88, 2005
- [48] Seidgard J., Ekstöm G., The role of human GST's and epoxide hydrolases in metabolism of xenobiotics. *Environ Health Perspect.* 105 (4): 791, 1997.
- [49] La Torre G, Boccia S, Ricciardi G. Glutathione S-transferase M1 status and gastric cancer risk: a meta-analysis. *Cancer Lett.* 2005 Jan 10;217(1):53-60.
- [ 50] Strange R.C., Fyer A.A., Matterro B., Zhao L., Broome J., Campille D., Jones P., Pastor I., Singh R., The glutathione S-transferase: comparison of isoenzymes expression in normal and astrocytoma brain. *Biochem. Biophys. Acta.* 1139; 222, 1992.
- [51] Guthenberg, C., Akorfeldt, K., Mannervick, B. (1979). Purification of glutathione S-transferase from human placenta. *Acta chem. Scand. Ser. B*, 33:595-596.
- [52] Etseller, M., Corn, P.G., Urena, J.M., Gabrielson, E., Baylin, S.B., Herman,

- J.G., 1998, Inactivation of glutathione S-transferase P1 gene by promoter hypermethylation in human neoplasia, *Cancer Research*, 58, 4515–4518 p.
- [53] 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. *Biochem. J.* 334; 617, 1998.
- [54] Mainwaring G.W., et al., The distribution of theta class glutathione transferase in the liver and lung of Mouse rat and human. *Biochem. J.* 318; 297, 1996.
- [55] Harju, Terttu H., et al. "Glutathione S-transferase omega in the lung and sputum supernatants of COPD patients." *Respir Res* 8 (2007): 48.
- [56] Morel, Fabrice, et al. "Gene and protein characterization of the human glutathione S-transferase kappa and evidence for a peroxisomal localization." *Journal of Biological Chemistry* 279.16 (2004): 16246-16253
- [57] Li, Jie, Zongxiang Xia, and Jianping Ding. "Thioredoxin- like" domain of human  $\kappa$  class glutathione transferase reveals sequence homology and structure similarity to the  $\theta$  class enzyme." *Protein science* 14.9 (2005): 2361-2369.
- [58] Hong SH, Kim HG, Chung WB, et al. DNA Hypermethylation of Tumor-Related Genes in Gastric Carcinoma. *J Korean Med Sci* . 2005; 20: 236-41., Fourth Edition, 2003 LWW, 480–490.
- [59] Simic T, Mimic-Oka J, Savic-Radojevic A, Opacic M, Pljesa M, Dragicevic D, Djokic M, Radosavljevic R. Glutathione S-transferase T1-1 activity



upregulated in transitional cell carcinoma of urinary bladder. *Urology* 2005;65:1035-1040

- [60] Chris L. Berendsen , Wilbert H. M. Peters, Peter G. Scheffer Anneke A. Bouman, Epie Boven, And Don W. W. Newling Glutathione S-Transferase Activity And Subunit Composition IN Transitional Cell Cancer And Mucosa Of The Human Bladder *Urology* 49: 644-65 1, 1997
- [61] Serpil Oğuztüzün, Ph, Yasemin Sezgin, Ph.D.Sertaç Yazıcı, M.D.Pınar Fırat, M.D. Müzeyyen Özhavzalı ,Haluk Özen, Expression of glutathione-S-transferases isoenzymes and p53 in exfoliated human bladder cancer cells *Urology* 29 : 538–544 2011
- [62] Enhanced GSTP1 expression in transitional cell carcinoma of urinary bladder is associated with altered apoptotic pathways Marija Pljesa-Ercegovac, **M.D.**, Ph. D. Ana Savic-Radojevic, M. D., Ph.D., Dejan Dragicevic, M.D., Ph.D. Jasmina Mimic-Oka, M. D., Ph.D. Marija Matic, M.D., M.S. Tatjana Sasic, M .D. Tatjana Pekmezovic, M. D., Ph. D. Aleksandar Vuksanovic, M.D., Ph. D. Tatjana Simic MD. *Urology* 29 : 70–77, 2011
- [63] Blackburn, Anneke C., et al. "Glutathione transferase kappa deficiency causes glomerular nephropathy without overt oxidative stress." *Laboratory Investigation*.11 (2011): 1572-1583.
- [64] Shield, Alison J., et al. "Polymorphisms in the human glutathione transferase Kappa (GSTK1) promoter alter gene expression. *Genomics* 95.5 (2010): 299-305.





