

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

CYP VE GST İZOZİMLERİNİN EKSPRESYONLARININ KÜÇÜK HÜCRELİ AKCİĞER  
KANSERİ DOKULARINDA ARAŞTIRILMASI

Ayşegül AYZAZ YÜKSEL

ŞUBAT 2015

**Biyoloji Anabilim Dalında** Ayşegül AYAZ YÜKSEL tarafından hazırlanan CYP ve GST İzozimlerinin Ekspresyonlarının Küçük Hücreli Akciğer Kanseri Dokularında Araştırılması adlı Yüksek Lisans Tezinin Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylarım.

PROF. DR. İLHAMİ TUZUN  
Anabilim Dalı Başkanı

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

Doç.Dr.Serpil Oğuztüzün

Danışman

*Jüri Üyeleri*

Başkan : PROF.DR.NAZİFE YİĞİT KAYHAN

Üye (Danışman) : DOÇ.DR.SERPİL OĞUZTÜZÜN

Üye : PROF. DR. SİYAMİ KARAHAN

03/02/2015

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

PROF. DR. MUSTAFA YİĞİTOĞLU

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

*Sevgili Merhum Babama*

## ÖZET

### CYP VE GST İZOZİMLERİNİN EKSPRESYONLARININ KÜÇÜK HÜCRELİ AKCİĞER KANSERİ DOKULARINDA ARAŞTIRILMASI

AYAZ YÜKSEL, Ayşegül

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans tezi

Danışman: Doç. Dr. Serpil Oğuztüzün

Şubat 2015, 80 sayfa

Yirmi dokuz adet küçük hücreli akciğer kanserli hasta dokularında, glutatyon-S-transferaz (GST) pi(P1), GST mü(M1), GST teta(T1) ve sitokrom P450(CYP)1A1, CYP1B1'in immünohistokimyasal bulguları değerlendirildi. Bu hastalara ait dokular boyanma şiddetine göre karşılaştırıldığında; CYP1A1 izoziminin CYPB1, GSTM1, GSTP1 ve GSTT1 izozimlerine göre daha fazla eksprese edildiği ( $p < 0,05$ ) tespit edildi. Primer ve metastatik küçük hücreli akciğer kanseri olarak iki gruba ayrılarak yapılan değerlendirme sonucunda primer dokularda pozitiflik oranları CYP1A1 (%71,43) ve CYP1B1 (%35,71), GSTM1 (%7,2), GSTP1 (%0) ve GSTT1 (%28,6) olarak bulunmuş olup metastatik dokulardaki pozitiflik oranları ise CYP1A1 (%80), CYP1B1 (%60), GSTM1 (%13,3), GSTP1 (%6,7) and GSTT1 (%60) olarak bulunmuştur. Metastatik dokulardaki ekspresyon düzeyleri primer dokulardaki ekspresyon düzeylerine göre daha yüksektir. GST ve CYP izozimleri immünohistokimya sonuçları, klinik parametrelerle karşılaştırıldığında; sigara içimi ve cinsiyet ile CYP ve GST izozimlerinin ekspresyon düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. ( $p > 0,005$ ) Tümör evresi ile CYP1A1 boyanma şiddeti arasında istatistiksel olarak anlamlı, pozitif yönde zayıf bir ilişki saptanmıştır. ( $r = 0,383$   $p = 0,040$ ). Tümör evresi arttıkça CYP1A1 izoziminin ekspresyonun düzeyi artmıştır. Ancak CYP1B1, GSTM1, GSTP1, GSTT1 izozimlerinin ekspresyon düzeyleri ile tümör evresi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Yaş ile CYP1A1, CYP1B1, GSTM1 ve GSTP1

izozimlerinin ekspresyon düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanamamıştır. ( $p>0,005$ ) Yaş ile GSTT1 izoziminin ekspresyon düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı, negatif yönde orta düzeyde bir ilişki saptanmıştır. ( $r=-0,496$   $p=0,006$ ). Yaş ilerledikçe GSTT izoziminin ekspresyonu azalmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Küçük hücreli akciğer kanseri, CYP, GST, immünohistokimya

## ABSTRACT

### INVESTIGATION OF PROTEIN EXPRESSIONS CYTOCHROME P450 AND GLUTATHIONE-S-TRANSFERASE ISOENZYMES IN SMALL CELL LUNG CARCINOMA

AYAZ YÜKSEL, Ayşegül

Kırıkkale University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology, M.Sc. Thesis

Supervisor: Assoc. Doc. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN

February 2015, 80 pages

For Glutathione-S-transferase (GST) pi(P), GST mu(M), GST theta(T) and cytochrome P450 (CYP) 1A1, CYP1B1, immunohistochemical staining results were evaluated in twenty-nine small cell lung carcinoma cases. When the tissues of these cases were compared according to their staining intensities, CYP1A1 expression was significantly higher than that of CYP1B1, GSTM1, GSTP1 and GSTT1. ( $p < 0,05$ ). The CYP and GST expressions in primary group were; CYP1A1 (71,43%) CYP1B1 (35,71%); GSTM1(7,2%), GSTP1 (0%) and GSTT1 (28,6%); in metastatic group, CYP1A1 (80%) CYP1B1 (60%); GSTM1(13,3%), GSTP1 (6,7%) and GSTT1 (60%); The isoenzyme expression of metastatic tissues was more than that of primary tissues. When we compare the clinical parameters and immunohistochemical staining results of CYP and GST isozymes, there is no significant relationship between with smoking and gender and the expression levels( $p > 0,005$ ). There was a weak but statically significant positive correlation between tumor stage and CYP1A1 staining ( $r = 0.383$   $p = 0.040$ ) but there was no relation between other isozymes and tumor stage.( $p > 0,05$ )And also there was no statistically significant relation between age and CYP1A1,CYP1B1,GSTM1 and GSTP expression levels( $p > 0,05$ ) but there was a moderate correlation in the negative direction ( $R = -0.496$   $p = 0.006$ ) between age and GSTT1 expression levels.

**Keywords:** Small cell lung cancer, CYP, GST, immunohistochemistry

## TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanması esnasında hiçbir yardımı esirgemeyen ve biz genç araştırmacılara büyük destek olan, bilimsel deney imkanlarını sonuna kadar bizlerin hizmetine veren, tez yöneticisi hocam, Sayın Doç. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN'e, çalışmamın deneysel kısmında doku kazanımı ve immünohistokimyasal boyama sonuçlarının değerlendirilmesinde bana yardımcı olan Atatürk Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Uzmanı Sayın Doç. Dr. Funda DEMİRAG' a ve çalışmamın klinik verileri ile ilgili bölümünde yardımlarını esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Ülkü YILMAZ'a teşekkürlerimi sunarım. Tezimin istatistiksel analizlerinde bana yardımcı olan Gülhane Askeri Tıp Akademisi Tıbbi Biyokimya AD Başkanlığı'nda görevli olan çalışma arkadaşım Sayın Dr. Ahmet TAŞ'a ve tez çalışmam boyunca sağladıkları imkanlardan dolayı Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Laboratuvarları Müdürlüğü'ne teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans öğrenimim süresince manevi desteğini benden esirgemeyen sevgili çalışma arkadaşım Yağmur Akdemir'e teşekkürü borç bilirim.

Tüm hayatım boyunca olduğu gibi yüksek lisans öğrenimim süresince de hiçbir zaman desteğini benden esirgemeyen sevgili annem Hafize AYAZ'a ve hayatıma girdiği günden beri beni her zaman destekleyen sevgili eşim Mesut YÜKSEL'e sonsuz teşekkürü bir borç bilirim.

# İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

<b>ÖZET</b> .....	i
<b>ABSTRACT</b> .....	iii
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	iv
<b>İÇİNDEKİLER DİZİNİ</b> .....	v
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	vii
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	viii
<b>KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	x
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
1.1. Akciğer Kanserinde Etyoloji ve Epidemiyoloji.....	3
1.1.2 Akciğer Kanserinde Histopatoloji.....	10
1.1.2.1. Küçük Hücreli Akciğer Kanseri.....	12
1.1.2.2. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri.....	13
1.1.2.2.1. Squamöz Hücreli Karsinoma.....	13
1.1.2.2.2. Adenokarsinoma.....	14
1.1.2.2.3. Büyük Hücreli Karsinoma.....	14
1.1.3. Evrelendirme.....	14
1.1.4. Akciğer Kanserinin Moleküler Biyolojisi.....	18
1.2. Ksenobiyotik Metabolizması.....	18
1.2.1. I.Faz ve II. Faz Reaksiyonları.....	19
1.2.2. Sitokrom P450 (CYP).....	23
1.2.2.1. CYP1 Gen Ailesi.....	25
1.2.2.2.1. CYP1A1 Gen Ailesi.....	26
1.2.2.2.2. CYP1B1 Gen Ailesi.....	26
1.2.3. Glutasyon ve Glutasyon S-Transferazlar.....	26
1.2.3.1. Mü(M) Sınıfı GST (GSTM) Gen Ailesi.....	30
1.2.3.2. Teta(T) Sınıfı GST (GSTT) Gen Ailesi.....	30
1.2.3.3. Pi(P) Sınıfı GST (GSTP) Gen Ailesi.....	31
1.2.3.4. GST' lerin Substratları.....	31
1.2.3.5 Glutasyon S-Transferazların Detoksifikasyondaki Rolü.....	32



1.2.4. CYP ve GST İzozimleri ile Akciğer Kanseri.....	34
<b>2. MATERYAL VE YÖNTEM.....</b>	<b>40</b>
2.1. Materyal.....	40
2.1.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	40
2.1.1.1. Solusyonların Hazırlanışı .....	40
2.1.2. Kullanılan Cihazlar .....	41
2.2. Kullanılan Metot.....	41
2.2.1. Materyal Kazanımı ve Hazırlanışı .....	41
2.2.2. İmmünohistokimya Prosedürü .....	44
2.3. Hasta Dokularının Toplanması ve Klinik Bilgiler .....	45
2.4. İstatiksel Analiz .....	45
<b>3. ARAŞTIRMA BULGULARI .....</b>	<b>46</b>
3.1. CYP ve GST İzozimlerinin Primer ve Metastatik Küçük Hücreli Akciğer Kanserli Hasta Dokularındaki Boyanmaları .....	46
3.1.1. CYP ve GST İzozimlerinin Primer ve Metastatik KHAK'li Tümörlü Dokularda Boyanma Şiddetleri.....	47
3.1.2. CYP İzozimlerinin Dağılımları .....	48
3.1.3. GST İzozimlerinin Dağılımları .....	51
3.2. CYP ve GST izozimlerinin ekspresyonlarının KHAK'li dokularda karşılaştırılması .....	53
3.2.1. CYP ve GST izozimlerinin ekspresyonlarının Primer ve Metastatik KHAK'li dokularda karşılaştırılması .....	58
3.3. CYP ve GST İzozimlerinin Klinik Parametrelerle Karşılaştırılması.....	60
<b>4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....</b>	<b>64</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>69</b>

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>ŞEKİL</u>	<u>Sayfa</u>
1.1 Ksenobiyotik metabolizması .....	2
1.2 Yaşa Standardize İnsidans Hızlarının Cinsiyete Göre 2004-2009 Yılları Arasındaki Dağılımı .....	4
1.3. Erkeklerde En Sık Görülen İlk 10 Kanserin Yaşa Göre Standardize Edilmiş Dağılımı.....	5
1.4. Kadınlarda En Sık Görülen İlk 10 Kanserin Yaşa Göre Standardize Edilmiş Hızlarının Dağılımları.....	6
1.5. Tüm Yaş Gruplarındaki Erkeklerde En Sık Görülen Bazı Kanserlerin Bu Grup İçindeki Yüzde Dağılımları.....	7
1.6. Tüm Yaş Gruplarındaki Kadınlarda En Sık Görülen Bazı Kanserlerin Bu Grup İçindeki Yüzde Dağılımları.....	7
1.7. Akciğer Kanseri Evrelerinin Yüzde Dağılımları .....	8
1.8. Bir ksenobiyotiğin metabolizması .....	19
1.9. B(a)P metabolizmasında CYP'lerin rolü.....	26
1.10 Genel GlutasyonMetabolizmasının şematik gösterimi.....	33
2.1 CYP ve GST izozimlerinin KHAK'li primer dokulardaki boyanma şiddetleri .....	49
2.2 CYP ve GST izozimlerinin KHAK'li metastatik dokulardaki boyanma şiddetleri.....	49
2.3 CYP1A1 izoziminin KHAK'li dokudaki immünohistokimyasal boyanması(x40).....	50
2.4 CYP1B1 izoziminin KHAK'li dokudaki immünohistokimyasal boyanması(x40).....	50
2.5 GST izozimlerinin KHAK'li dokulardaki immünohistokimyasal boyanma görüntüleri .....	52
2.6 GST izozimlerinin KHAK'li dokulardaki immünohistokimyasal boyanma görüntüleri .....	53

## ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>ÇİZELGE</u>	<u>Sayfa</u>
1.1 Akciğer tümörlerinin dünya sağlık örgütü histopatolojik sınıflandırması .....	11
1.2 Evreleme Türleri.....	15
1.3 Akciğer Kanserlerinin 7.TNM Sınıflaması.....	16
1.4 Akciğer Kanserlerinde Evreleme.....	17
1.5 I .Faz reaksiyon tipleri ve başlıca enzimler.....	22
1.6 II .Faz reaksiyon tipleri ve başlıca enzimler.....	22
1.7 İnsan CYP (450) Gen Ailesi.....	24
1.8 İnsan Glutasyon S-Transferaz Gen Ailesi.....	29
1.9 GST' lerin substratları .....	32
2.1 Çalışmada kullanılan KHAK'li hastalara ait bilgiler .....	42
2.2 KHAK' li hastaların tümör evre yüzdeleri .....	43
2.3 KHAK'li hastaların sigara içim oranları .....	43
3.1 Primer ve metastatik KHAK'li tümörlü dokulardaki izozim ekspresyonlarının pozitiflik dağılımları.....	46
3.2 KHAK'li dokulardaki CYP ve GST izozimlerinin boyanma şiddetlerinin ortalamaları.....	48
3.3 CYP izozimlerinin KHAK tümörlü dokularındaki dağılımı.....	48
3.4 GST izozimlerinin KHAK dokularındaki dağılımı.....	51
3.5 CYP1A1 ve CYP1B1 izozimlerinin KHAK'li dokulardaki ekspresyon düzeyleri .....	54
3.6 CYP1A1 ve GSTM izozimlerinin KHAK'li dokulardaki ekspresyon düzeyleri.....	54
3.7 CYP1A1 ve GSTP izozimlerinin KHAK'li dokulardaki ekspresyon Düzeyleri.....	55
3.8 CYP1A1 ve GSTT izozimlerinin KHAK'li dokulardaki ekspresyon düzeyleri.....	55
3.9 CYP1B1 ve GSTM izozimlerinin KHAK'li dokulardaki ekspresyon düzeyleri.....	55

3.10	CYP1B1 ve GSTP izozimlerinin e KHAK'li dokulardaki ekspresyon düzeyleri.....	56
3.11	CYP1B1 ve GSTT izozimlerinin KHAK'li dokulardaki ekspresyon düzeyleri.....	56
3.12	GSTM ve GSTP izozimlerinin KHAK'li dokulardaki ekspresyon düzeyleri.....	57
3.13	GSTM ve GSTT izozimlerinin KHAK'li dokulardaki ekspresyon düzeyleri.....	57
3.14	GSTP ve GSTT izozimlerinin KHAK'li dokulardaki ekspresyon düzeyleri.....	57
3.15	CYP izozimlerinin primer ve metastatik KHAK'li dokulardaki boyanma şiddetleri.....	58
3.16	GST izozimlerinin primer ve metastatik KHAK'li dokulardaki boyanma şiddetleri.....	59
3.17	Yaş gruplarına göre CYP ve GST izozimlerinin KHAK'li dokulardaki ekspresyon şiddetleri .....	60
3.18	KHAK'li dokulardaki CYP ve GST izozimlerinin yaş ile karşılaştırılması.....	60
3.19	Yaş gruplarına göre CYP ve GST izozimlerinin KHAK'li dokulardaki ekspresyonlarını pozitiflikleri yüzde .....	61
3.20	Sigara içen ve içmeyen KHAK'li hastalarda CYP ve GST izozimlerinde pozitiflik miktarları ve yüzde ifadeleri.....	62
3.21	KHAK'li hasta dokularında GST ve CYP izozimlerinin sigara içimi paket/yıl ile karşılaştırılması.....	62
3.22	Tümör evrelerine göre KHAK'li hasta dokularındaki CYP ve GST izozimlerin ekspresyonlarının pozitiflikleri.....	63
3.22	KHAK'li hastalarda CYP ve GST izozimlerinin tümör evresi ile karşılaştırılması.....	63

## KISALTMALAR DİZİNİ

AHR	Aril Hidrokarbon Hidroksilaz
AJCC	Amerikan Kanser Birliği
BaP	Benzo(a)piren
CYP	Sitokrom P450
Cys	Sistein
EPDE	7,8-diol-9,10-epoksid
Glu	Glutamik asit
Gly	Glisin
GSH	Glutasyon
GSSG	Okside glutasyon
GST	Glutasyon S-Transferaz
IARC	Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı
NNK	4-metilnitrozamino-1-(3-piridil)-1-butanon
NNAL	4-metilnitrozamino-1-(3-piridil)-1-butanol
MAPEG	Membrana bağlı protein
PAH	Polisiklik Aromatik hidrokarbon
T	Tümörün yayılımı ve büyüklüğü
N	Lenf bezi tutulumu
M	Uzak metastaz
UICC	Uluslararası Kanser Mücadele Birliği
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
YÖH	Yaşa göre Özel Hız
YSH	Yaşa standardize insidans

## 1.GİRİŞ

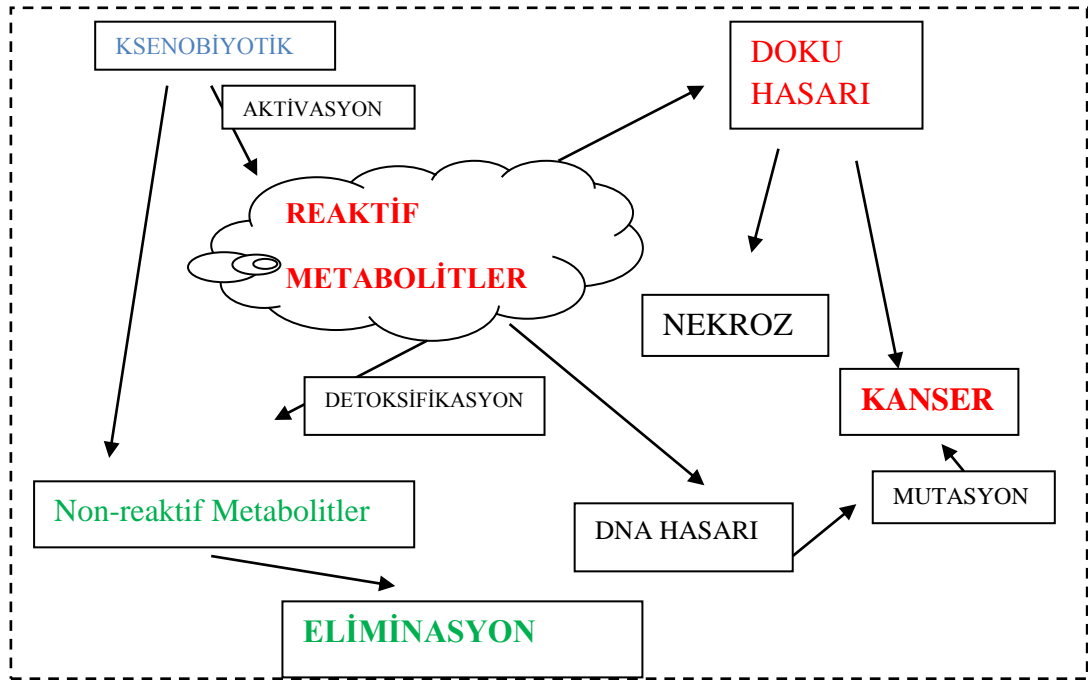
Hızla ilerleyen nüfus artışının gereksinimlerini karşılamak amacıyla teknoloji de hızla ilerlemektedir. Ancak bu ilerlemenin doğaya verdiği zarar da yadsınamayacak boyuttadır. Bilinçsiz olarak tükettiğimiz doğa insanoğluna birtakım hastalıklarla cevap vermektedir. Taşıtlardan salınan egsoz gazı, ısınmada kullandığımız gazlar, gıdaların raf ömürlerinin uzaması için kullanılan gıda katkı maddeleri, genetiği değiştirilmiş bitkisel ve hayvansal kaynaklı besinlerin tüketimi, teknolojik gelişmeye paralel hızla artan bilgisayar donanımlarının kullanımının artması sonucu çevreye yayılan radyasyon, doğal ekolojik ortamın bozulması sonucu ortaya çıkan mutajenik bakteri ve virüslerin yayılımı, mesleki hastalıkların artması, sigara ve alkol tüketiminin artması, bağışıklık sistemindeki bozulmalar ve genetik faktörlerinde etkisiyle kanser hastalıkları ortaya çıkmaktadır.

Sağlıklı vücut hücreleri bölünebilme kabiliyetine sahiptir. Vücudun belirli bir denge halinde hayatını sürdürebilmesi ölen hücrelerin yenilenmesi ve yaralanan dokuların onarılmasıyla bu özelliklerini kullanabilmesi şeklinde gerçekleşmektedir. Ancak bu sağlıklı hücreler sonsuz bölünemezler ve fonksiyonunu bitirdikten sonra apoptozise uğrayarak programlı bir şekilde ölüme giderler. Sağlıklı bir hücrenin gerektiği yerde ve gerektiği kadar bölünebilme yeteneği bulunur ve her hücrenin de hayatı boyunca belli bir bölünme sayısı vardır. Buna karşın kanser hücreleri bu bilincini kaybederek kontrolsüz bölünmeye başlar ve çoğalır. Kanser hücreleri birikerek tümörleri oluşturur ve normal dokuları tahrip ederler. Eğer bu kanser hücreleri kan veya lenf dolaşımı ile vücudun diğer bölgelerine yayılırlarsa bu olaya da metastaz denir.

Buraya kadar verdiğimiz bilgilerden sonra kanseri, endojen ve eksojen faktörlere bağlı olarak değişikliğe uğramış hücrelerin vücudun bir organ dokusunda kontrolsüz ve düzensiz bir şekilde çoğalması sonucu meydana gelen klinik görünümü, tedavisi ve yaklaşımı birbirinden farklı bir hastalık grubu olarak tanımlayabiliriz. [1,4] Kanser hücrenin gelişimi ve bu gelişimi etkileyen etkenler üç aşamada sıralanabilir. Birinci aşama başlangıç aşaması olup kanserojen etkiye sahip kimyasal, fiziksel ya da kalıtsal etkenlerin etkisi ile hücrenin yapısında geri dönüşümsüz

değişiklikler meydana gelir. Kimyasal karsinojenler olarak sigara, asbestos, arsenik, benzen, kadmiyum, krom bileşikleri, nikel, aflatoksin, amin ve anilin boyaları, katran, kloro metil eter, kloro etil sülfid, vinil klorid ve ilaçlar sayılabilir. [2] Fiziksel karsinojenler ise iyonize radyasyon, ultraviyole ışınlar ve yabancı maddeler sayılabilir. İkinci aşama olan tetikleme aşamasında hormonlar, beslenme alışkanlıkları, sigara, alkol, gibi tetikleyen faktörlerin etkisi ile değişime uğramış hücrede daha fazla değişiklik meydana gelir. Üçüncü aşama ise ilerleme aşamasıdır ki bu aşamada tümörün büyüme hızı artar. Kanserin gelişiminin son aşaması yayılımdır (metastaz) ve kanser hücreleri diğer doku ve organlara yayılım gösterirler.

Kanserin daha önce belirtilen karsinojenlere maruziyet sonucu yavaş yavaş ilerleyerek daha çok ileri yaşlarda ortaya çıktığını söylemek mümkündür. Bunun sebebi ise vücudun mekanizmalarıdır. Organizma için yabancı olan kimyasal maddelerin (ksenobiyotiklerin) kimyasal değişimlerine **biyotransformasyon** denir. Genel olarak ksenebiyotiklerin veya metabolitlerin biyotransformasyon sonucu toksisitesi azalıyor ya da ortadan kalkıyorsa bu olaya **detoksifikasyon** denir. [2] (Şekil .1.1)



Şekil .1.1 Ksenobiyotik Metabolizması

Detoksifikasyon metabolizmasında başlıca iki enzim sistemi bulunur. Bunlardan I. Faz enzim sistemi genellikle ksenebiyotiklere ve karsinojenlere karşı ilk enzimatik savunmadır. I. Faz basamağından çıkan ürünler reaksiyona girdiklerinden daha aktif ve toksik yapıya dönüşürler. Eğer bu reaktif ürünler II. Faz enzim sisteminde detoksifiye olmazlar ise proteinlere, RNA ve DNA ya zarar verebilirler. II. Faz reaksiyonları sonucu konjugasyonla polar hale gelen yabancı maddeler idrar, ter ve safra yoluyla vücuttan atılır.[2]

Akciğer kanseri dünyada en fazla ölümlü sonuçlanan kanser türlerinin başında yer almaktadır. Küçük hücreli akciğer kanseri (KHAK) ise akciğer kanseri subtiplerinin en agresif ve sigara ile en ilişkili olan formudur. KHAK akciğer kanseri subtiplerinin sınıflamasında %20 lik bölümü kapsamaktadır.[3]

Bu tez çalışmasında özellikle sigara içiminin en fazla etken olduğu bildirilen küçük hücreli akciğer kanserli (KHAK) hastalardan alınan parafine gömülü doku bloklarında I. Faz enzim sistemi üyelerinden SitokromP450(CYP450) enzimlerinden CYP1A1 ve CYP1B1 izoenzimleri ile II. Faz enzim sistemi üyelerinden Glutatyon S Transferaz (GST) enzimlerinden GSTM1, GSTP1 ve GSTT1 izoenzimlerinin ekspresyonlarının belirlenmesi ve elde edilen sonuçların yaş, cinsiyet, sigara kullanımı, tümör evresi parametreleriyle aralarındaki ilişkilerin istatistiksel olarak araştırılması amaçlanmaktadır.

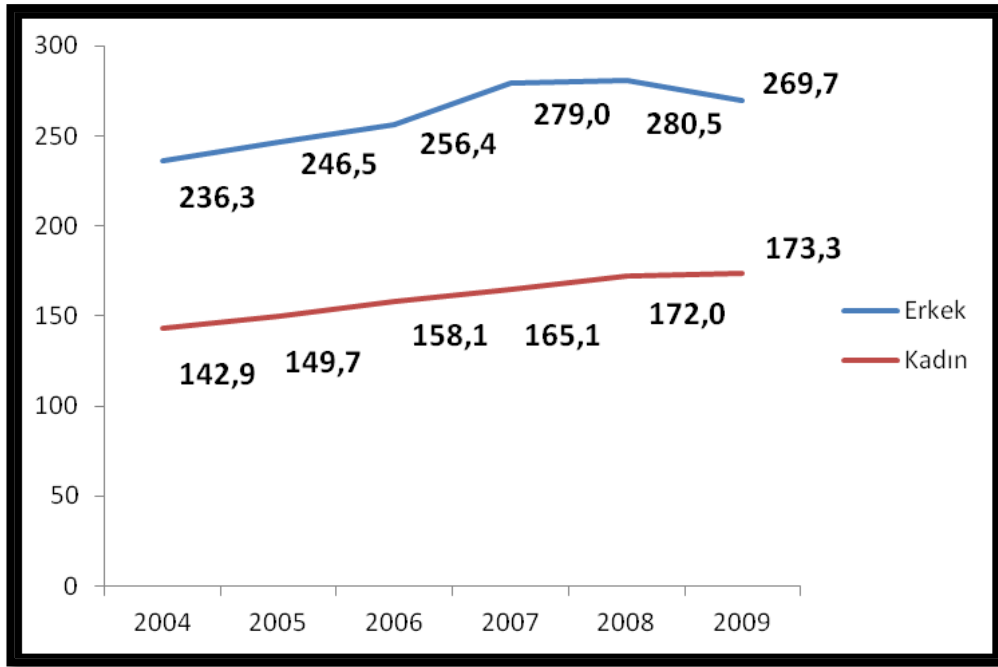
### **1.1 Akciğer Kanserinde Etyoloji ve Epidemiyoloji**

Dünya Sağlık Örgütü(WHO) ve Uluslararası Kanser Araştırmaları Kurumu'na yayınlanan 2014 Dünya Kanser Raporu verilerine göre; 2012 yılı tamamında 14,1 milyon yeni kanser vakası ve 8,1 milyon kanser nedenli ölüm meydana gelmiştir. İnsidans yönünden dünyada en yaygın kanserler, akciğer (1,52 milyon), meme (1,29 milyon), ve kolorektal (1,15 milyon) kanserleridir. Beş yıl ve daha fazla sağkalım süresine bakıldığında 32,6 milyon kişinin kanser hastalığı ile yaşadığı saptanmıştır. Kötü prognoz nedeniyle akciğer kanseri aynı zamanda en fazla ölüme (1,59 milyon) neden olan kanserken onu karaciğer kanseri (745.000 ölüm), mide kanseri (723.000



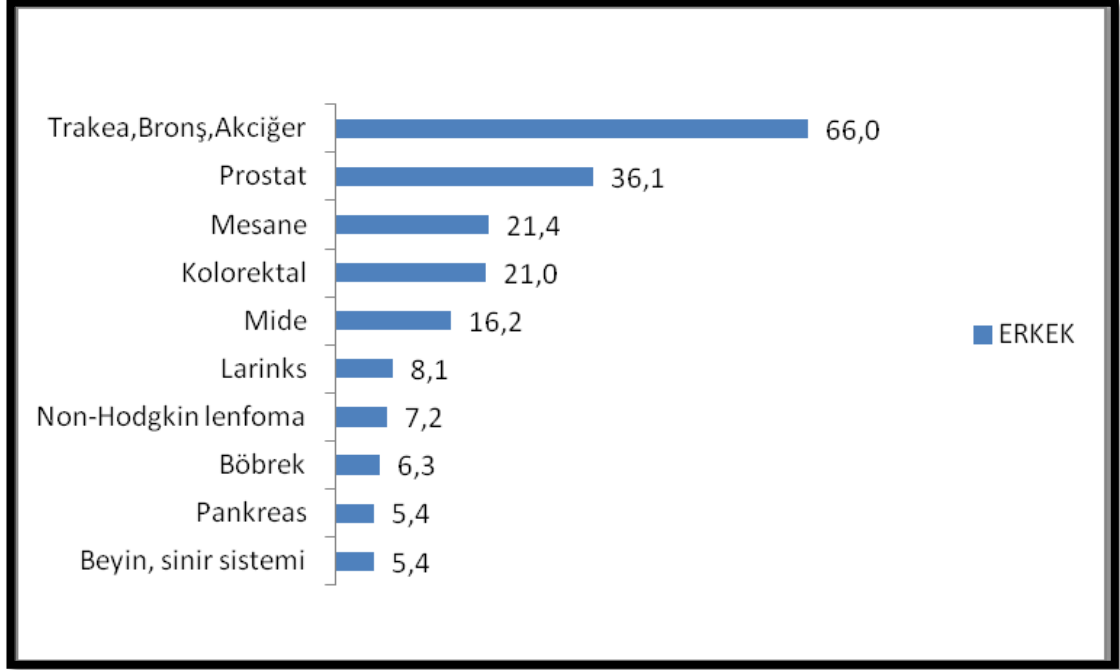
ölüm) ve meme kanseri (521.000 ölüm) izlemiştir. Gelişmiş ülkelere nazaran, yeni kanser vakalarının %57'si ve ölümlerin %65'i az gelişmiş ülkelerde meydana gelmektedir. 2014 yılındaki kanser vakalarının yirmi yıl içinde 22 milyona ulaşmasının beklendiği raporda ayrıca, 2012 yılına kadar cinsiyet bakımından erkeklerde kadınlara oranla daha yüksek olan kanserin görülme sıklığı, bu tarihten itibaren özellikle gelişmiş ülkeler başta olmak üzere yerini kadınlarda erkeklere oranla daha fazla kanser vakasının ve ölümlerinin olduğuna bırakmıştır. [1]

Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Kurumu Kanser Daire Başkanlığı'nca yayımlanan verilere göre 2009 yılında erkeklerde kanser insidansı oranı 269,7/100000 kadınlardaki kanser insidansı oran ise 173,3/100000'dir. (Şekil 1.2) [4]



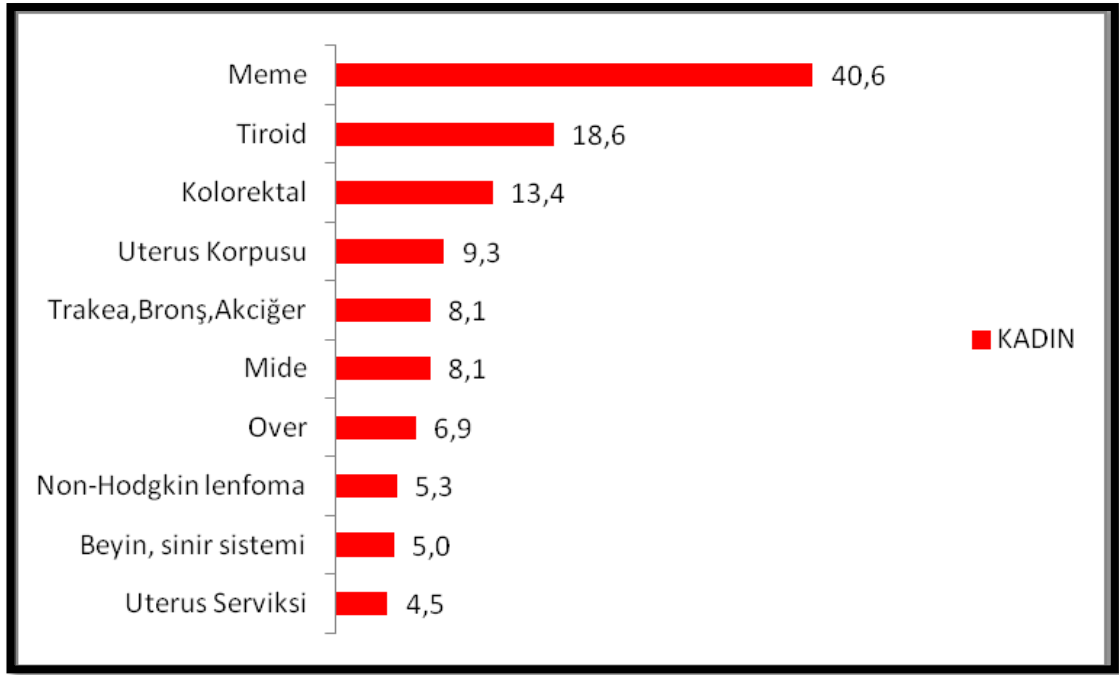
**Şekil 1.2** Yaşa Standardize İnsidans Hızlarının Cinsiyete Göre 2004-2009 Yılları Arasındaki Dağılımı (Birleşik Veri Tabanı, 2004-2009) (Dünya Standart Nüfusu,100.000 Kişide)

2009 yılı verilerine göre Türkiye'deki erkeklerde yaşa standardize insidans hızlarına (YSH) göre en çok görülen kanser türlerine bakıldığında; 66,0/100.000 ile en yüksek oranda görülen kanser türü akciğer kanserleri olmakla birlikte, bunu sırasıyla 36,1/100.000 YSH ile prostat, 21,4/100.000 YSH ile mesane, 21,0/100.000 YSH ile kolorektal, 16,2/100.000 YSH ile mide kanserleri izlemektedir. (Şekil 1.3) [4]



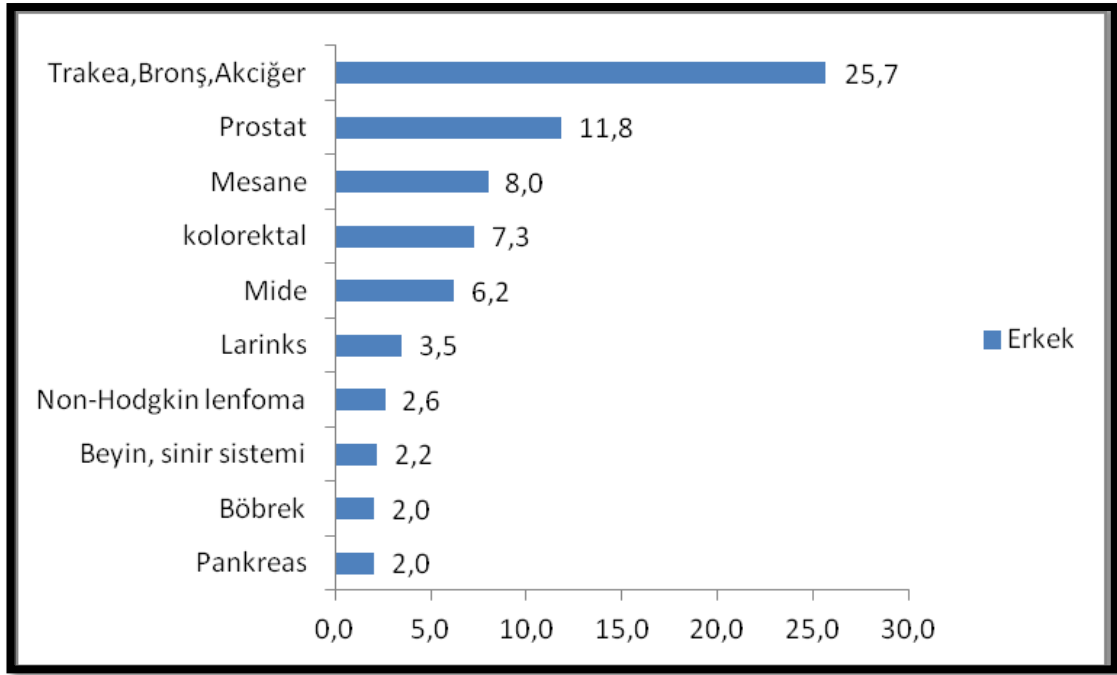
**Şekil 1.3** Erkeklerde En Sık Görülen İlk 10 Kanserinin Yaşa Göre Standardize Edilmiş Hızlarının Dağılımları (Birleşik Veri Tabanı, 2009) (Dünya Standart Nüfusu, 100.000 Kişide)

Kadınlarda ise en yüksek oranda gözlenen kanser türü 40,6/100.000 YSH ile meme kanseri ve sırasıyla 18,6/100.000 YSH ile tiroid, 13,4/100.000 YSH ile kolorektal, 9,3/100.000 YSH ile uterus ve 8,1/100.000 YSH ile de akciğer kanserleri izlemektedir (Şekil 1.4) [4]

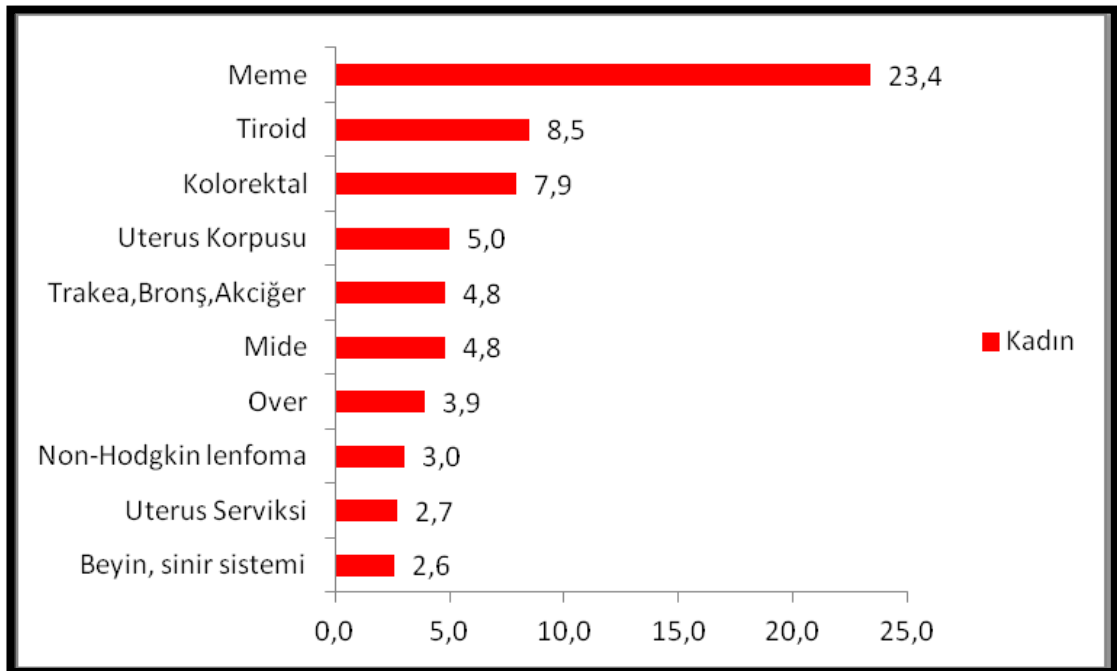


**Şekil 1.4** Kadınlarda En Sık Görülen İlk 10 Kanserinin Yaşa Göre Standardize Edilmiş Hızlarının Dağılımları (Birleşik Veri Tabanı, 2009) (Dünya Standart Nüfusu, 100.000 Kişide) [4]

Tüm yaş gruplarındaki erkeklerde en sık görülen bazı kanserlerin bu grup içindeki yüzde dağılımları incelendiğinde %25,7 ile akciğer kanserleri birinci sırada iken sırasıyla %11,8 prostat kanseri, %8 mesane kanseri olduğu bildirilmiştir. Kadınlarda ise yüzde dağılımlar incelendiğinde ilk sırada %23,4 meme kanseri, %8,5 tiroid, %7,9 kolorektal kanserler izlenmiştir. (Şekil 1.5 - Şekil 1.6) [4]



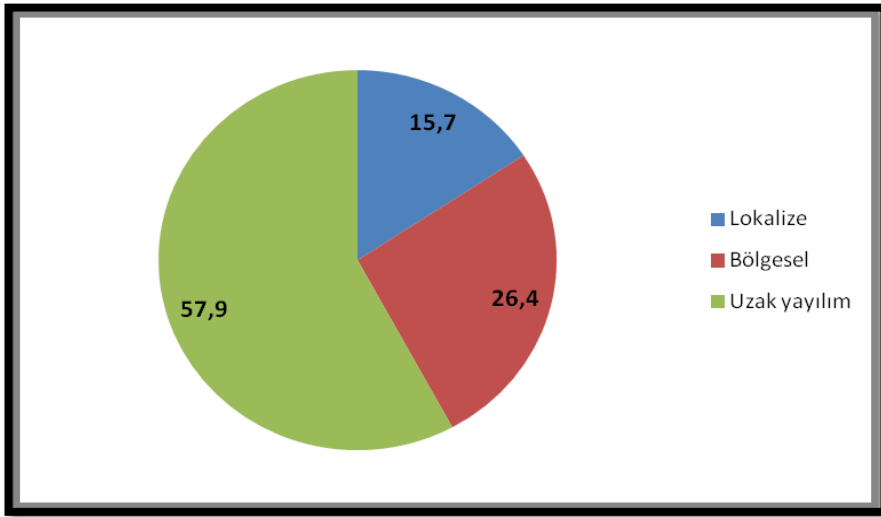
**Şekil 1.5** Tüm Yaş Gruplarındaki Erkeklerde En Sık Görülen Bazı Kanserlerin Bu Grup İçindeki Yüzde Dağılımları [4]



**Şekil 1.6** Tüm Yaş Gruplarındaki Kadınlarda En Sık Görülen Bazı Kanserlerin Bu Grup İçindeki Yüzde Dağılımları [4]

Türkiye İstatistik Kurumu'nun 2010, 2011, 2012 yılı istatistikleri incelendiğinde 2012 yılında en fazla ölüm %37,9 oranı ile dolaşım sistemi hastalıkları birinci sırada yer alırken iken ikinci sırada %21,1 oranı ile kanser hastalıklarının yer aldığı görülmüştür. Malign neoplazm sonucu gerçekleşen ölümlerin %31,6 sını oluşturan akciğer kanseri ise birinci sırada bulunmaktadır. [5]

2009 yılı verilerine göre akciğer kanseri evrelerinin yüzde dağılımları incelendiğinde %15,7 lokalize, %26,4 bölgesel, %57,9 uzak yayılım gösterdiği bildirilmiştir. [4]



Şekil 1.7 Akciğer Kanseri Evrelerinin Yüzde Dağılımları [4]

Akciğer kanserinde sağkalım genel olarak %10-15 oran ile beş yıldır. Hastalığın evresi ile sağkalım arasında ters orantı bulunur. Evre I'de beş yılda sağkalım oranı %60-70 olmasına rağmen evre I'de %39-43 e düşerken Evre IIIA'da ise %9-15 e , Evre IIIB ve Evre IV de %5 in altına inmektedir. [6]

Akciğer kanseri etyolojisinde rol alan faktörler sigara, asbest, radon gazı, bis(klorometil) eter, polisiklik aromatik hidrokarbonlar, krom, nikel ve organik arsenik bileşikler gibi diğer karsinojenler ve ailesel genetik faktörler olarak

sıralanabilir. En önemli faktör olan sigara akciğer kanserlerinin yaklaşık %80-90'ından sorumludur. Sigara içenler içmeyenlere göre 30 kat daha fazla risk altındadır. Pasif içicilik ise akciğer kanserine yakalanma riskini sigara içmeyenlere göre iki kat artırır.[1] Sigara içimindeki risk sigara sayısı ve kullanım süresine göre farklılık göstermektedir. Fakat akciğer kanserlerinin %10' u hiç sigara içmeyenlerde ortaya çıkmaktadır; ancak ömür boyu sigara içenlerden %15'inde akciğer kanseri gelişmektedir. [7]

Ülkemizde asbeste maruziyet özellikle sigara içenlerde akciğer kanseri riskini 90 kat artırmaktadır. [12] WHO- Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC) , her yıl dünyada kanser yapıcı maddeleri özelliklerine göre gruplara ayırmakta olup asbesti de kesin kanserojen madde tanımlaması ile 1A grubunda sınıflandırmıştır. [13]

Radon gazı etyolojide rol alan başka bir faktördür. Radon doğal olarak toprak ve kayalarda olan görünmez, renksiz ve kokusuz radyoaktif bir gazdır. Akciğerlerde hasara sebep olarak akciğer kanserine götürebilir. Radyasyona maruziyet sigara içiciliği ile birlikte akciğer kanseri riskini artırır. Yapılan araştırmalar sonucu dizel yakıt ürünleri ve diğer fosil yakıtları gibi havayı kirleten bazı atıklar ile akciğer kanseri arasında ilişki tespit edilmiş olup hava kirliliği de etyolojide farklı bir faktördür. [5]

Genetik faktörler bir başka etyolojik faktördür. Akciğer kanserinde ailesel risk artışı, ilk olarak 1960'lı yıllarda bildirilmiştir.[4] Metabolizmada kullanılan bazı enzimlerin kalıtsal olarak daha aktif olduğu ve bu enzimlerin de karsinogenezde rol oynadığı bilinmektedir. Sitokrom P450 sisteminin parçaları olan Aril Hidrokarbon Hidroksilaz (AHH) sistemi ve Debrisoquin akciğer kanseri ile ilişkili iki kalıtsal faktördür. AHH enzim sistemleri polisiklik aromatik hidrokarbonları ve arilaminleri güçlü karsinojenlere aktive edebilir. Hücrelerin bölünmesiyle ilgili işlevleri de olan ve proto-onkogen olarak adlandırılan genler sigara dumanı, radyasyon, kimyasal ajanlar ve virüsler gibi eksojen etkenlerle onkogen haline geçerek karsinogenezde rol aldıkları yapılan araştırmalar neticesinde anlaşılmıştır. [8]

Yapılan birçok epidemiyolojik çalışmada diyetle sebze alımının akciğer kanserinin de dahil olduğu diğer bazı kanser risklerini orta derecede düşürdüğü gösterilmiştir. Akciğer kanserinde beta karotenin etkisi araştırılmış ve sigara içenlerde serum beta karoten düzeyleri içmeyenlere göre daha düşük seviyelerde bulunmuştur. Vitamin A eksikliğinde akciğer kanseri riski fazladır. Vitamin C ve selenyum eksikliği, siyah çay, kolesterol de akciğer kanserinden sorumlu tutulmuştur. Ayrıca diyetle retinol alımının da akciğer kanseri oluşumu ile ilişkisi olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. [10-11] Yüksek dozda E vitamini takviyesinin de artmış akciğer riski ile ilişkili olduğu yapılan çalışmada gösterilmiştir. [9]

Motorlu taşıtların egsoz gazı, yakıt olarak kullanılan kömür dumanı ve diğer bazı çevresel faktörlerle oluşan hava kirliliğinin de akciğer kanseri etyolojisinde %1 oranında rolü vardır. Kırsal kesimde yaşayan kişilerde kentsel yaşama göre daha düşük oranda kanser riski olduğu görüldüğü bildirilmiştir. [19]

### **1.1.2 Akciğer Kanserinde Histopatoloji**

Dünya Sağlık örgütü (WHO) 1967 yılında bugün kullanılan sınıflamanın esasını yapmıştır. Bu sınıflama daha sonra 1982, 1999 ve 2004 yıllarında sigara içme alışkanlıklarındaki farklılaşmalar sonucu tüm dünyada akciğer kanseri insidansı ve mortalitesini değiştirmesinden dolayı WHO tarafından gözden geçirilerek bugün yaygın olarak kullanılan halini almıştır. Buna göre 2004 yılında WHO tarafından yapılan patolojik sınıflandırma Çizelge 1.1'de verilmiştir. [14]

**Çizelge 1.1** Akciğer tümörlerinin dünya sağlık örgütü histopatolojik sınıflandırması:

<b>AKCİĞER KANSERİNİN MALİGN EPİTELYAL TÜMÖRLERİ</b>
<b>1. Skuamöz hücreli karsinom</b> Papiller Berrak hücreli (clear cell) Küçük hücreli (small cell) Bazaloid
<b>2. Küçük hücreli karsinom</b> Kombine küçük hücreli
<b>3. Adenokarsinom</b> Adenokarsinom, mikst subtip Asiner adenokarsinom Papiller adenokarsinom Bronkoalveoler karsinom Nonmüsinöz Müsinöz (goblet hücreli tip) Mikst (müsinöz ve nonmüsinöz) Müsin salgılayan solid adenokarsinom Fetal Kolloid Müsinöz kistadenokarsinom Taşlı hücreli adenokarsinom Berrak hücreli adenokarsinom (clear cell)
<b>4. Büyük hücreli karsinom</b> Nöroendokrin karsinom Bazaloid Lenfoepitelyomaya benzeri karsinom Berrak hücreli (clear cell) Rabdoid tip
<b>5. Adenoskuamöz karsinom</b>
<b>6. Sarkomatoid karsinomlar</b> Pleomorfik Spindle cell Giant cell Karsinosarkom Pulmoner blastom
<b>7. Karsinoid tümör</b> Tipik/atipik
<b>8. Tükrük bezi tip</b> Mukoepidermoid Adenoid kistik, Epitelyal-myoepitelyal karsinom
<b>9. Pre invaziv lezyonlar</b> Skuamöz hücreli insitu karsinom Atipik adenomatöz hiperplazi Diffüz idiyopatik pulmoner Nöroendokrin hücre hiperplazisi



Akciğer kanserlerinin neredeyse tamamı karsinomlardır. Tüm akciğer kanserlerinin %15'i küçük hücreli karsinomlar, %9'u büyük hücreli/undifferensiye karsinomlar, %25-44'ü epidermoid karsinom, %28-42'si adenokarsinom ve %1-2'si karsinoid tümörlerden oluşur. Geri kalan %2'den az kısım ise akciğerin nadir tümörleridir.[15]

Akciğer ve plevra tümörlerinin patolojik sınıflandırılmasında, 2011 yılı şubat ayında "Journal of Thoracic Oncology" de IASLC/ATS/ERS tarafından yayınlanan adenokarsinomanın yeni sınıflaması dışında halen Dünya Sağlık Örgütü'nün 2004 sınıflaması kullanılmaktadır. Bu sınıflamada akciğerin en sık görülen tümörleri olan akciğer kanserleri malign epitelyal tümörler başlığı altında toplanmaktadır. Bu başlık altında 9 ayrı alt başlık ve çok sayıda antite bulunmakla birlikte tedavi için en temel nokta, küçük hücreli karsinoma ile küçük hücreli dışı karsinomaların birbirinden ayrılmasıdır. Akciğer karsinomlarının %85'den fazlasını 2 majör tip küçük hücreli dışı akciğer karsinomu oluşturmaktadır. Bunlar non-skuamöz karsinomlar (Adenokarsinom, Büyük hücreli karsinom ve diğer subtipler) ve skuamöz hücreli karsinomlardır. Akciğer kanserlerinin geri kalanı (yaklaşık %15) ise küçük hücreli karsinomdur. [16]

#### **1.1.2.1. Küçük Hücreli Akciğer Kanseri**

Tüm akciğer kanserlerinin %15-20' sini oluşturan bu kanser türünün 2/3 ü toraks dışında belirgin, genellikle metastatik hastalıkla gelir. Santral yerleşimli ve agresiftir. KHAK 'lerinin %90'ı bronş mukozasında nöroendokrin orijinli tümörden meydana gelir. [6] KHAK' ne göre daha hızlı iki katına çıkma hızı vardır, daha yüksek büyüme fraksiyonuna sahiptir ve yaygın metastazlar daha sık görülmektedir. En sık karşı akciğer, karaciğer, böbrek üstü bezleri ve kemiklere metastaz yapar. [20]

KHAK' nde sigara en önemli faktör olmakla birlikte diğer akciğer kanseri subtiplerinde olduğu gibi bu tipte de çevresel ve genetik faktörlerde KHAK'nin gelişiminde önemlidir. Erkeklerde kadınlara oranla daha sık görülmesinin sebebi sigara içimi ile yakın ilişkisi bulunmasından ileri gelmektedir. Erken evrede hiler ve mediastinal lenf nodu tutulumu ile seyreder. Çok hızlı büyürler; erken dönemde hematojen metastaz yaparlar. Diğer akciğer kanseri alt tiplerinden ayıran önemli unsurlar klinik ve morfolojik özellikleri ile kemoterapi ve radyoterapiye duyarlı

oluşlarıdır. Küçük oval, yuvarlak, lenfositten biraz büyük, dar sitoplazmalı, hiperkromatik nüveli, nükleolü olmayan ya da çok küçük olan küçük hücrelerden oluşması bu tip kanserin en karakteristik özelliğidir. Mitoz sayısı fazladır ve nükleer molding belirgindir Erken evrede tespit edilen KHAK'ne cerrahi uygulama yapılabilir. İkiye katlanma zamanı yaklaşık 30 gündür. Tedavi edilmediklerinde ortalama yaşam süresi 6-17 haftadır. TNM evreleme sisteminin 7.düzenlemesinde KHAK için diğer akciğer kanseri alt tiplerinde olduğu gibi TNM evrelemesi kullanılmaktadır ancak günlük pratikte daha fazla 'Veterans Administration Lung cancer study Group' (VALG) tarafından inoperabl KHAK için geliştirilen sınırlı ve yaygın hastalık olarak sınıflandırılan ikili sistem tercih edilmektedir. Sınırlı hastalık bir hemitoraksla sınırlı, bölgesel lenf nodu metastazı olan KHAK olarak tanımlanabilir. (TNM sistemine göre; Evre: I, II, III) Olguların %20-40' ı bu evrede başvururlar. Yaygın hastalık ise sınırlı hastalığı aşmış, uzak metastaz yapmış KHAK dir. (TNM sistemine göre; Evre: IV) Olguların % 60- 80'i bu evrededir. [18]

#### **1.1.2.2. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri**

Tüm akciğer kanserlerinin %80-85' ini oluşturan bu grup köken aldığı hücre tipine göre üç alt tipe ayrılır. KHAK'ne göre daha az agresif seyreder ve metastaz yönünden daha yavaştır.

##### **1.1.2.2.1. Squamöz Hücreli Karsinoma**

Akciğer kanserlerinin yaklaşık %35 lik kısmını oluşturur. Squamöz hücreli karsinoma 2/3 oranda santral yerleşimlidir ve sıklıkla sigara içen erkeklerde görülür. Gelişmeleri göreceli olarak yavaştır ve geç metastaz yapma eğilimindedirler. Önceki çalışmalarda bu hücre tipindeki tümörlerin akciğer santralinde ve adenokanserlerin periferde oluşma eğilimi olduğu düşünülürken yeni çalışmalarda her iki tip tümörün de benzer lokalizasyonlar gösterdiği ifade edilmektedir. Diğer tiplere göre squamöz hücreli kanserler lokal kalma eğilimi gösterirler. Tedavilerden sonra da lokal tekrarlamalar daha fazladır. Peribronşial ve intrabronşial yayılırlar. Peribronşial

yayımda, tümör bronş lümenini dışarıdan basıya uğratarak endobronşial mukoza normal olmasına rağmen geç evrede tıkanıklığın derecesine bağlı olarak bronş obstrüksiyonu bulguları oluşturur. Periferik yerleşimli squamöz hücreli karsinomada %20 oranında tümör nekrozuna bağlı kavite (break down) izlenir. [23]

#### **1.1.2.2 Adenokarsinoma**

Akciğer kanserlerinin yaklaşık %30-50'sini oluşturur. Sigara içmeyenlerde ve kadınlarda en sık görülen tip adenokarsinomdur. Bu tip tümörler çoğunlukla akciğerde skatris bulunan alanlarda ve kronik interstisiyel fibrozis odaklarında gelişir. Büyüme hızı squamöz hücreli karsinomadan daha fazladır, geniş hacimlere ulaşabilir. Nadiren kaviteleşebilir. Adenokarsinomlarda lenf nodu metastazı sıktır.

#### **1.1.2.3. Büyük Hücreli Karsinoma**

Santral veya periferik yerleşimli olabilir ve %5 oranında görülür. Erken metastaz yapma eğiliminde olduğu için prognozu diğer akciğer karsinomlarına göre daha kötüdür. Periferik yerleşimli olanlarında %5 oranında kaviteleşme görülebilir.

#### **1.1.3. Evrelendirme**

Tüm kanser türlerinde olduğu gibi akciğer kanserinde de evrelendirme hastalığın hem tedavisi hem de hastanın sağkalımının öngörülmesi açısından oldukça önemli bir yer tutmaktadır. Akciğer kanserli olguların değerlendirilmesinde kullanılan yöntemlere göre çeşitli evreleme tipleri tanımlanmış olup Çizelge 1.2' de bu evreleme tipleri gösterilmiştir. [21]

**Çizelge 1.2** Evreleme Türleri [21]

c	Klinik Evreleme	Tedavi uygulamadan önce fiziki muayene, görüntüleme yöntemleri, bronkoskopi, mediastinoskopi vs. ile evreleme
p	Patolojik evreleme	Rezeksiyon sonrası patoloğun değerlendirmesi ile yapılan evreleme
y	Yeniden evreleme	Bir kısım ya da tüm tedavi mortalitesini takiben yeniden evreleme
r	Rekürens evreleme	Nüks tümörlerde yeniden evreleme
a	Otopsi evrelemesi	Otopsi esnasında yapılan evreleme

Akciğer kanserinde sağkalımın en önde gelen belirtecinin tümörün evresi olduğu hatta bunun histopatolojik tipinden daha önemli olduğu belirtilmiştir.[22] Evrelendirme primer tümörün büyüklüğü ve yayılımına(T), bölgesel lenf bezi tutulumuna(N), uzak metastaz varlığına(M) dayanan TNM evrelendirmesi kullanılır. TNM sistemi ilk kez 1946 yılında Denoix tarafından önerilmiş olup 1966 ve 1973 yıllarında Uluslararası Kanser Mücadele Birliği (UICC) ve Amerikan Kanser Birliği (AJCC) tarafından akciğer kanserlerine uyarlanmıştır. TNM sınıflaması, histolojik alttiplerdeki prognoz farklılıkları olmasından dolayı yetersiz kalmış ve UICC ve AJCC tarafından 1996 yılında yeni bir evreleme sistemi geliştirilmiştir. Akciğer kanserinde kullanılmakta olan yedinci TNM sınıflaması 2009 yılında yayınlanmış olup Çizelge 1.3' te gösterilmiştir. [22]

**Çizelge 1.3** Akciğer Kanserlerinin 7.TNM Sınıflaması [22]

<b>T Faktörü (Primer Tümör)</b>	
<b>Tx</b>	Balgam ya da bronkoalveoler lavaj sitolojisinde malign hücreler tespit edilmekte fakat görüntüleme yöntemleri ya da bronkoskopide tümör gösterilemiyor.
<b>T0</b>	Primer tümör kanıtı yok
<b>Tis</b>	Karsinoma in situ
<b>T1</b>	Tümör en büyük çapı $\leq 3$ cm, akciğer ya da visseral plevra ile çevrili,lober bronşun daha proksimaline invazyon bulgusu yok T1a : Tümör en büyük çapı $\leq 2$ cm T1b : $2\text{cm} <$ tümör en büyük çapı $\leq 3$ cm
<b>T2</b>	$3\text{cm} <$ tümör en büyük çapı $\leq 7$ cm, karinaya 2cm ve daha fazla uzaklıkta ana bronş tutulumu, visseral plevra invazyonu, hilusa uzanan fakat tüm akciğeri kapsamayan obstrüktif atelektazi ya da pnömoni T2a : $3\text{cm} <$ tümör en büyük çapı $\leq 5$ cm T2b : $5\text{cm} <$ tümör en büyük çapı $\leq 7$ cm
<b>T3</b>	Tümör en büyük çapı $< 7$ cm, göğüs duvarı, diyafragma, frenik sinir, mediastinal plevra, parietal perikard invazyonu, ana bronşun karinaya 2 cm den daha az yakınlıkta invazyonu, tüm akciğeri kapsayan total atelektazi ya da obstrüktif pnömoni, aynı lobta tümörden anatomik olarak ayrı tümör nodülleri varlığı
<b>T4</b>	Herhangi bir boyuttaki tümör mediasten, kalp, büyük damar, trakea, rekünnen laringeal sinir, vertebra korpusu, karina, aynı taraf farklı lopta tümör nodül yada nodülleri varlığı
<b>N Faktörü</b>	
<b>Nx</b>	Bölgesel lenf nodlarının değerlendirilememesi
<b>N0</b>	Bölgesel lenf nodu tutulumu yok
<b>N1</b>	Aynı taraf hiler, peribronşiyal, interlober, lobar, segmental, subsegmental lenf nodu tutulumu
<b>N2</b>	Subkarinal ve ipsilateral mediastinal lenf nodu
<b>N3</b>	Kontralateral mediastinal, ipsilateral ya da kontralateral skalen ve supraklavikuler lenf nodu

**Çizelge 1.3 (Devam)**

<b>M Faktörü</b>	
<b>Mx</b>	Metastaz değerlendirilemedi
<b>M0</b>	Metastaz kanıtı yok
<b>M1a</b>	Malign plevral efüzyon, malign perikardiyal efüzyon, malign plevral yayılım, kontralateral akciğerde metastaz
<b>M1b</b>	Uzak organ metastazı

Günümüzde tüm akciğer kanserlerinde kullanılan evreleme Çizelge 1.4' te gösterildiği şekliyle kabul edilmektedir. Ancak küçük hücreli akciğer kanserinde önceki sınıflamalarda sınırlı ve yaygın hastalık olarak iki grupta evrelendirilmekteydi.1989 yılında yayınlanan IASCL nin KHAK evreleme önerisinde tümör bir hemitoraksta sınırlı, sitolojide malignite tespit edilsin yada edilmesin ipsilateral plevral efüzyon, ipsilateral ya da kontralateral hiler, mediastinal ya da supraklavikular lenf nodu metastazı varlığında '**sınırlı hastalık**', bu kapsamın dışındaki durumlar ise '**yaygın hastalık**' olarak belirtilmiştir. [17]

**Çizelge 1.4 Akciğer Kanserlerinde Evreleme [17]**

<b>Okült karsinom</b>	<b>Tx</b>	<b>N0</b>	<b>M</b>
<b>Evre 0</b>	Tis	N0	M0
<b>Evre IA</b>	T1a,b	N0	M0
<b>Evre IB</b>	T2a	N0	M0
<b>Evre IIA</b>	T1a,b	N1	M0
	T2a	N1	M0
	T2b	N0	M0
<b>Evre IIB</b>	T2b	N1	M0
	T3	N0	M0
<b>Evre IIIA</b>	T1,2	N2	M0
	T3	N1,2	M0
	T4	N0,1	M0
<b>Evre III B</b>	T4	N2	M0
	TümT	N3	M0
<b>Evre IV</b>	TümT	Tüm N	M1a,b

#### **1.1.4. Akciğer Kanserinin moleküler biyolojisi**

Akciğer kanseri gelişimi son derece kompleks moleküler olaylara dayanmaktadır. Protoonkogenlerin aktivasyonu ile tümör supresör genlerinin inaktivasyonu kanser gelişimde suçlanan iki grup proteindir. Onkogenler protoonkogen denilen normal hücresel genlerin aktive olmasıyla gelişir. Hücre sinyalizasyonu ve hücre siklusu kontrolünde önemli rolü olan protoonkogenlerin yapısal bir bölgesinde meydana gelen bir değişiklik sonucu farklı fonksiyon gösteren bir protein sentezlenir. Onkogen haline gelen genlerden akciğer kanserinde en fazla suçlananlar Ras ve Myc ailesi onkogenleridir. Ras onkogenleri KHDAK'lerde daha çok nokta mutasyonlar ile rol alırken, Myc onkogenleri ise KHAK'de amplifikasyon ile rol oynar. K-Ras geni KHDAK'lerin %15-50'sinde görülürken KHAK'lerinde görülme sıklığı daha azdır. Yapılan çalışmalar K-Ras geninin sigara içimi ile ilişkili olduğunu göstermiştir. C-myc geni ise KHAK'lerinde %18-31 oranda, KHDAK'lerinde ise %8-20 oranda gözlenmektedir.[61-62] Tümör supresör genlerden p53 ve Rb genlerine ilişkin değişiklikler de KHAK'lerinin %75-100 ünde görülmektedir. Normal bir hücrede DNA hasarı olduğunda p53 geni genomik stabiliteyi bağlar ve hücre siklüsünü G1'de inhibe ederek hücreye tamir için zaman kazandırır. Eğer hasar tamir edilemiyorsa hücre apoptozise gider. P53 gen fonksiyon kaybı sonucu hücre büyümesinin kontrolü ortadan kalkarak DNA tamiri yapılmaksızın hücre siklüsü kontrolsüz bir şekilde çoğalmaya devam eder. P53 gen mutasyonları karsinogenezin erken basamaklarında görülür. Akciğer kanserindeki p53 gen mutasyonları sigara içimi ile ilişkilidir. [61]

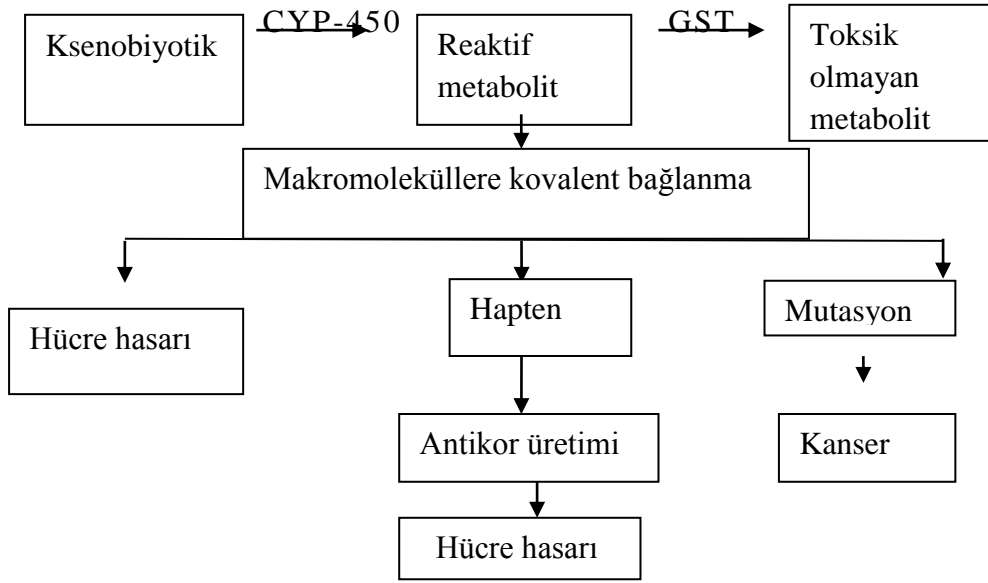
#### **1.2. Ksenobiyotik Metabolizması**

Çeşitli ilaçlar, gıda eklentileri, kirlilik sonucu vücuda alınan kimyasal karsinojenler ksenobiyotik olarak adlandırılır. Bu bileşiklerin çoğu insan vücudunda metabolize olurlar. Bir ksenobiyotiğin canlı bir organizmada uğradığı kimyasal değişimlerin tümüne biyotransformasyon denir. [23]

Şekil 1.8'de gösterilen ksenobiyotik metabolizması için iki ayrı reaksiyon kullanılır. Bunlardan I. Faz reaksiyonları oksidasyon, redüksiyon ve hidroliz olaylarını

içerirken; II. Faz reaksiyonları ise çeşitli konjugasyon ve sentez olaylarını içermektedir. [19]

Xenobiyotik metabolizmasındaki bu iki fazın baştan sona amacı bu zararlı bileşiklerin polaritesini arttırarak suda çözünebilir ve safra ile böbreklerden daha kolay atılmalarını sağlayan ürünler haline dönüştürmektir. [20]



Şekil 1.8 Bir ksenobiyotiğin metabolizması [23]

### 1.2.1 I. Faz ve II. Faz Reaksiyonları

Biyotransformasyonun en önemli yolunu oluşturan I.faz reaksiyonlarından oksidasyon-redüksiyon (redoks) reaksiyonları ve bunları kataliz eden enzim sistemleri ksenobiyotik metabolizmasında geniş yer tutar. Sitokrom P-450 enzim sistemi ve karışık fonksiyonlu amin oksidaz enzimi bu sistemde önemli rol oynarlar.

Sitokrom P-450 bağımlı monooksijenazların kataliz ettiği oksidasyon reaksiyonları olan alifatik hidroksilasyon, alifatik epoksidasyon, aromatik epoksidasyon ve hidroksilasyon, dealkalizasyon, N-hidroksilasyon, deaminasyon, S-oksidasyon, P-oksidasyon, desülfürasyon ve ester kırılması, oksidatif dehalojenasyon reaksiyonlarında substrata(RH) moleküler oksijenin (O<sub>2</sub>) bir atomunu aktararak



yükseltgenmesini sağlar(ROH) .Sonuçta oksijenin diğer atomu da su şeklinde indirgenir. Tüm bu reaksiyonlarda NADPH kullanılır. [2]

Redüksiyon reaksiyonlarında substrat özelliğine göre, bu enzim sistemlerinden bir ya da iki elektron alarak indirgenir. Redüksiyon reaksiyonları azo indirgenmesi, aromatik nitro indirgenmesi, disülfürlerin indirgenmesi, keton ve aldehitlerin indirgenmesi, sülfoksit indirgenmesi şeklinde sıralanabilir.

Hidroliz reaksiyonlarını kataliz eden enzimler esterazlar, amidazlar, epoksit hidrolaz ve DDT-klorinaz enzimleri olarak sınıflandırılabilirler. Esterazlar amidleri, amidazlar esterleri hidroliz ederler. Mikrozomal esterazlar ksenobiotiklerin hidrolizini sağlar.

I. Faz reaksiyonları sonucu oluşan metabolitler veya birçok doğal maddeler sentez veya konjugasyon reaksiyonları denilen II. faz reaksiyonları sonucu daha polar hale gelerek vücuttan atılımları kolaylaşır ve toksisiteleri de azalır. Konjugasyon, metilasyon, asetilasyon reaksiyonları bu faz reaksiyonlarını oluştururlar. [2]

Konjugasyon reaksiyonları, kimyasal maddelerin organizmadaki endojen maddelerle (glukuronik asit, metil grubu, sülfat, amino asitler ve asetil grubu) birleşmesi ile gerçekleşir. Metilasyon diğer konjugasyon reaksiyonlarından farklılık gösterir. Metiltransferaz enzimleri reaksiyonu kataliz ederler. Ksenobiyotiklerin metilasyonunda S-adenozilmetiyonin önemlidir. Asetilasyonda KoA ile endojen açıl grubu (asetil) aktive olur ve oluşan asetil KoA ile ksenobiyotik konjuge olur. Asetilasyonu N-asetil transferaz enzimleri kataliz eder.

Akciğer kanserinde özellikle sorumlu tutulan sigarada Uluslararası Kanser Araştırma Merkezi(IARC)'nin yayınladığı rapora göre karsinojenik etkisi kanıtlanmış 55 adet madde bulunmaktadır. [54] İnsanlarda sigara bağımlılığına karsinojen olmayan nikotin sebep olmaktadır. Sigaradaki temel karsinojenler polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH), aromatik aminler ve nitrozo bileşiklerdir. Benzo(a)piren ise PAH' lar içinde en fazla çalışlandır ve lokal uygulamada ya da inhalasyonla maruziyette akciğer kanseri riskini tetiklediği bilinmektedir. Benzo(a)pirenin sigara dumanındaki miktarı sigara başına 20-10 ng'dır. Sigara karsinojenlerinden bir diğeri ise N-nitrozamin grubunda tütüne özgü nitrozamin olan 4-metilnitrozamino-1-(3-

piridil)-1-butanon (NNK)'un ise akciğerde özellikle adenom ve adenokarsinom gelişimini indüklediği araştırmalarla gösterilmiştir. Sigara dumanında bulunan NNK miktarı 80-770 ng/sigara olarak tespit edilmiş ve bu miktar akciğer kanseri oluşumu için oldukça önemlidir. [55] Sigarada bulunan diğer karsinojenleri ise 1,3-butadien, etil karbamat, nikel, krom, kadmiyum, arsenik olarak sıralayabiliriz ve bunlar da akciğer kanserini indükleyen karsinojenler arasında bulunur. [24]

NNK ve Benzo(a)pirenin etkileri biyoaktivasyon sonucu oluşan metabolitlere bağlıdır. BaP'in metabolik aktivasyonu sonucu 7,8-diol-9,10-epoksid(EPDE) ; NNK'nın aktivasyonu sonucu ise 4-metilnitrozamino-1-(3-piridil)-1-butanol (NNAL) metabolitleri oluşur. Bu reaktif metabolitler DNA'ya kovalent bağlanarak kanser oluşumunda rol oynayan DNA-adduct'larını oluştururlar. [56-57] Oluşan adductlar hücrel savunma mekanizmasını geçerek mutasyonlara sebep olmaktadır.

NNK ve Benzo(a)piren biyoaktivasyonunda I. Faz enzimlerinden CYP1A1 ve CYP1B1 izoenzimlerinin rolü büyüktür. Reaksiyonlar sonucu oluşan ara metabolitler bir sonraki adım olan II. Faz reaksiyonları sonucu GST izoenzimleri ile detoksifiye edilirler. [2,24]

Çizelge 1.5' te ksenobiyotik biyotransformasyonunda yer alan I. Faz reaksiyon tipleri ve başlıca enzimler gösterilmektedir. Çizelge 1.6' da ksenobiyotik biyotransformasyonunda yer alan II. Faz reaksiyon tipleri ve başlıca enzimler gösterilmektedir.

**Çizelge 1.5** I. Faz reaksiyon tipleri ve başlıca enzimler [2]

<b>REAKSİYON TİPLERİ</b>	<b>ENZİMLER</b>
Yükseltgenme (oksidasyon)	<b>Sitokrom P-450 monoksijenaz</b> Ksantinoksitaz Peroksidazlar Aminooksidaz Monoaminooksidaz Dioksijenaz Alkol dehidrogenaz Aldehit dehidrogenaz Superoksit dismutaz
İndirgenme (redüksiyon)	<b>Sitokrom P-450 redüktaz</b> Keto-redüktaz Glutatiyon peroksidazlar
Hidroliz	Epoksit hidrolaz Karboksiesterazlar Amidazlar

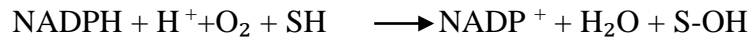
**Çizelge 1.6** II. Faz reaksiyon tipleri ve başlıca enzimler [2]

<b>REAKSİYON TİPLERİ</b>	<b>ENZİMLER</b>
Konjugasyon	Glukuronozil transferaz Sulfotransferaz <b>Glutatyon S-transferaz</b> Glukozil transferaz Tiyol transferaz Amidsentezi (transaçılaz)
Metilasyon	O-, N-, S- metiltransferazlar
Asetilasyon	N-asetiltransferaz Açıltransferaz
Diğerleri	Sülfürtransferaz (rodanez)

### 1.2.2. Sitokrom P450 (CYP)

Sitokrom P-450 (CYP) monooksijenaz enzim sistemi, steroidler, yağ asitleri, prostaglandinler, lökotrienler ve diğer birçok doğal bileşiklerin, karsinojenlerin, mutajenlerin ve ilaçların oksidatif metabolizmasında görev alan “heme-thiolate” yapısında protein enzimlerinden oluşur. Yapısında bulunan hem protein grubu ile karbonmonoksit bağlandıktan sonra 450 nm ışık dalga boyunda<sub>2</sub> absorbans gösterdiğinden dolayı bu enzimlere Sitokrom P-450 enzimleri denilmiştir.

CYP-450 enzimleri ile katalizlenen genel reaksiyon şu şekilde gösterilmektedir.



CYP-450 sistemi, endojen ve eksojen kaynaklı çeşitli lipofilik bileşikleri metabolize eden enzim ailesidir. [25] Bu enzimler matür eritrosit ve iskelet kası hücreleri dışında tüm memeli hücre tiplerinde ve prokaryotlarda bulunur. Bu enzim sistemi induksiyon ve inhibisyon gibi sayısız mekanizmalarla değişime uğrayabilir ve bireyler arasında farklı formları ortaya çıkabilir. CYP-450 enzimleri, 400-530 amino asitten yapılmış proteinler olup baz dizilim benzerliklerine göre farklı aileler içinde sınıflandırmaktadırlar.

Adlandırılmasında %40'tan fazla sekans benzerliği bulunursa aileyi, aynı aile içinde %55'ten fazla sekans benzerliği bulunursa alt aileyi tanımlar. Alt aile bir harf ile gösterilir. Sonda bulunan numara ise enzimi kodlayan genidir. [27]

İnsan CYP-450 enzimleri hücrede membrana bağlı proteinlerdir ve mitokondrinin iç kısmında veya endoplasmik retikulumda yerleşiktirler. Birçok dokuda bulunurlar ve hormon sentezinde de önemli rolleri vardır. İnsan Genom Projesinde CYP-450 enzimlerinin 50'nin üzerinde izoenziminin bulunduğu bildirilmiştir. [26] Bu genler 18 enzim ailesi ve 43 alt aile olarak eksprese edilirler. [25, 28] (Çizelge 1.7)

**Çizelge 1.7** İnsan CYP 450 Enzim ailesi [25, 28]

<b>AİLE</b>	<b>FONKSİYONU</b>	<b>ÜYELERİ</b>	<b>ADLARI</b>
<b>CYP1</b>	İlaç ve steroid (özellikle östrojen) metabolizması, benzo(a)pyrene toksifikasyonu	3 altaile, 3 gen, 1 pseudogen	CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1
<b>CYP2</b>	İlaç ve steroid metabolizması	13 altaile, 16 gen, 16 pseudogen	CYP2A6, CYP2A7, CYP2A13, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C18, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1, CYP2F1, CYP2J2, CYP2R1, CYP2S1, CYP2U1, CYP2W1
<b>CYP3</b>	İlaç ve steroid (testosteron dahil) metabolizması	1 altaile, 4 gen, 2 pseudogen	CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7, CYP3A43
<b>CYP4</b>	araşidonik asit veya yağ asitleri metabolizması	6 altaile, 12 gene, 10 pseudogen	CYP4A11, CYP4A22, CYP4B1, CYP4F2, CYP4F3, CYP4F8, CYP4F11, CYP4F12, CYP4F22, CYP4V2, CYP4X1, CYP4Z1
<b>CYP5</b>	thromboxan A <sub>2</sub> sentezi	1altaile, 1 gen	CYP5A1
<b>CYP7</b>	safra asitlerinin biyosentezi, 7-alpha hidroksilaz of steroid nucleus	2 altaile, 2 genes	CYP7A1, CYP7B1
<b>CYP8</b>	Prostasiklin sentezi, safra asitlerinin biyosentezi	2 altaile, 2 gen	CYP8A1 , CYP8B1
<b>CYP11</b>	steroid biyosentezi	2 altaile, 3 gen	CYP11A1, CYP11B1, CYP11B2
<b>CYP17</b>	steroid biyosentezi, 17-alpha hidroksilaz	1 altaile, 1 gen	CYP17A1
<b>CYP19</b>	steroid biyosentezi	1 altaile, 1 gen	CYP19A1
<b>CYP20</b>	Fonksiyonu bilinmiyor	1 altaile, 1 gene	CYP20A1
<b>CYP21</b>	steroid biyosentezi	2 altaile, 1 gen, 1 pseudogen	CYP21A2
<b>CYP24</b>	vitamin D degradasyonu	1 altaile, 1 gen	CYP24A1
<b>CYP26</b>	retinoik asit hidroksilaz	3 altaile, 3 gen	CYP26A1, CYP26B1, CYP26C1
<b>CYP27</b>	safra asitlerinin biyosentezi, vitamin D <sub>3</sub> 1-alpha hidroksilaz	3 altaile, 3 genes	CYP27A1, CYP27B1, CYP27C1
<b>CYP39</b>	7-alpha hidroksilasyonu	1 altaile, 1 gen	CYP39A1
<b>CYP46</b>	Kolestrol 24-hidroksilaz	1 altaile, 1 gen	CYP46A1
<b>CYP51</b>	Kolestrol biyosentezi	1 altaile, 1 gen, 3 pseudogen	CYP51A1

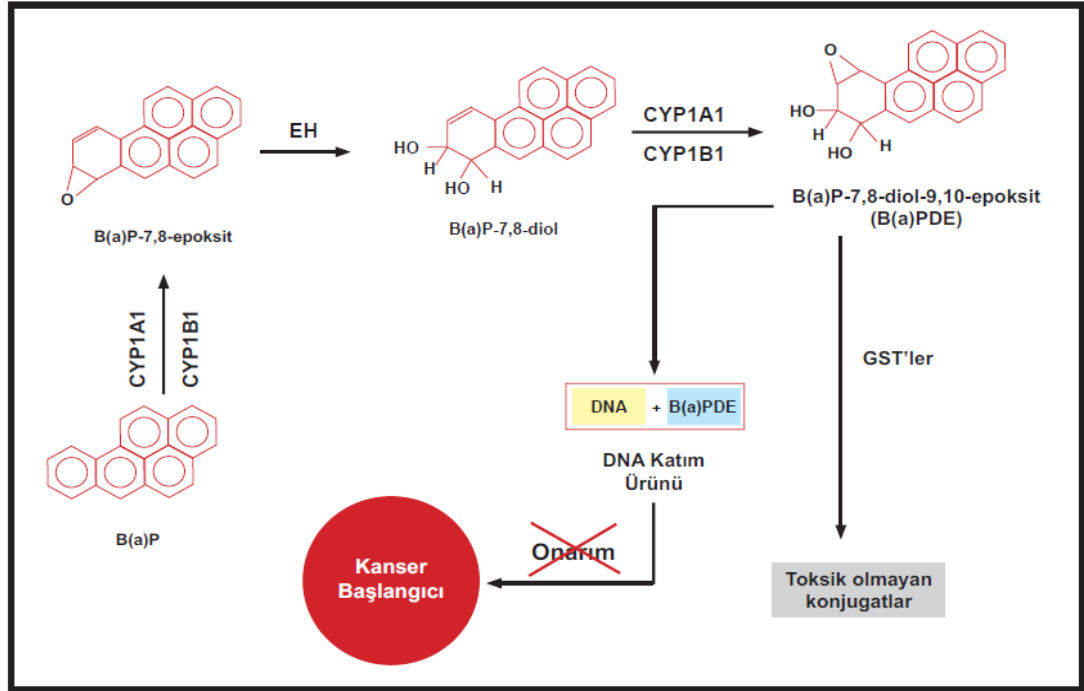
CYP-450 sistemi terapötik maddeleri inaktive veya aktive eder, kimyasal maddeleri reaktif moleküllere dönüştürerek istenmeyen hücre hasarı, hücre ölümü veya mutasyon gibi olaylara sebep olur, steroid hormon sentezindeki bazı adımlara katılır ve yağ asidlerini metabolize ederler.

CYP-450 enzimlerinin primer sentez yeri karaciğerdir ancak düşük konsantrasyonlarda kalp, gastrointestinal boşluk, böbrek, akciğer gibi ekstra hepatik dokularda da sentezlenir. Ksenobiyotik metabolizmasında özellikle CYP1, CYP2 ve CYP3 enzimleri aktif rol oynar. [30]

### **1.2.2.1. CYP1 Gen Ailesi**

Bu ailede CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1 olmak üzere üç gen bulunur. CYP1A1 insan karaciğerinde bulunmazken CYP1A2 ise karaciğerde yüksek oranda bulunur. CYP1A2 karsinojen ve mutajenik madde oluşumunda görev alan temel enzimdir. [31] Her üç genin de transkripsiyonu AHR-ARNT (aril hidrokarbon reseptör-aril hidrokarbon reseptör nükleer translokator) yoluyla tarafından kontrol edilir. [32] Ayrıca PAH (polisiklik aromatik hidrokarbon) ve sigara içimiyle de uyarılırlar. [33] Özellikle PAH metabolizmasında DNA ya bağlanırken aktifleşerek geri dönülmez hasarlara sebep vererek mutasyonlar ile kanser oluşumunda etkisi olduğu düşünülmektedir. [34] CYP1A1 in sigara içimi ve PAH metabolizmasında yüksek oranda uyarıldığını yapılan çalışmalar ortaya çıkarmıştır. [35] CYP1B1'in insan tümörlerinde ekspresyonu yüksektir.

CYP1A1 ve CYP1B1 organik maddelerin tam yanmamalarından oluşan, sigara dumanında, kirli şehir havasında, ıste, kömür ateşinde pişmiş ette, tütülenmiş ve kavrulmuş bazı besinlerde bulunan PAH'ları mutajenik ve karsinojenik etkili metabolitlerine dönüştürürler. PAH'lardan biri olan benzo(a)pireni (BaP) güçlü karsinojenik metaboliti olan 7,8-dihidrodiol-9,10-epoksite (BPDE) dönüştürür. Şekil 1.7 de benzo(a)pirenin metabolizması ayrıntılı olarak gösterilmiştir. [89]



Şekil 1.9 B(a)P metabolizmasında CYP'lerin rolü [89]

#### 1.2.2.1.2. CYP1B1 Gen Ailesi

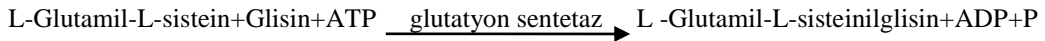
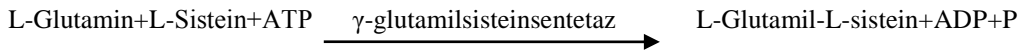
CYP1B1'in insan tümörlerinde ekspresyonu yüksektir [68,69]. Murray ve arkadaşlarının immunohistokimyasal çalışmalarında CYP1B1 proteinini beyin, göğüs, over, kolon, akciğer gibi farklı organ tümörlerinde göstermişler, fakat normal dokuda saptayamamışlardır. [58]. CYP1B1'in PAH aktivasyonunda ve aromatik hidroksilasyon aktivitesinde rolü olduğu bilinmektedir. [38]

#### 1.2.3. Glutasyon ve Glutasyon S-Transferazlar

Ksenobiyotik metabolizmasının genellikle detoksifikasyonla sonuçlanan II. faz reaksiyonlarında glutasyonla (GSH) konjugasyon sonucu; organizma elektrofilik maddelerin ataklarından korunur. GSH konjugasyon reaksiyonlarının büyük kısmı glutasyon S-transferaz (GST) denilen enzimler aracılığıyla gerçekleşir. GST izoenzimleri dokuların oksidatif zarardan korunmasında, ksenobiyotiklerin

detoksifikasyonunda, ilaç dirençliliğinde, hücre sinyalizasyonunda ve apoptoziste önemli rolü olan çok fonksiyonlu enzim grubudur. [39]

Glutasyon protein yapıda olmayan, düşük moleküler ağırlıklı, hücrede milimolar derişimlerde ve bol miktarda bulunarak hücreyi koruma kapasitesi oldukça yüksek olan bir tiyoldür. Glutasyon; glutamik asit(Glu), sistein(Cys) ve glisinden(Gly) oluşur ve Glu ile Cys arasındaki  $\gamma$ -peptid bağı glutasyonu birçok peptidazın hidrolitik etkisinden korur. Glutasyon, hücrede primer olarak redükte formda (GSH) bulunur.Ancak okside koşullar altında iki molekül GSH arasında disülfid bağı kurularak okside glutasyon (GSSG) oluşur. [40-41] GSH'ın hücrese seviyesi  $\gamma$ -glutamil transpeptidaz, aminoasit transporterları, glutasyon sentetaz, glutasyon peroksidaz ve glutasyon redüktazı içeren çoklu bir enzim sistemi tarafından korunur. [42] Glutasyon organizmada iki aşamada meydana gelmektedir. [43]



Glutasyon S-Transferaz enzimleri elektrofilik merkez içeren bileşiklerle GSH'nu bağlayarak ana bileşikten daha az reaktif bir metabolit oluşturur ve böylece detoksifikasyon gerçekleşmiş olur. Pestisitlerin, çevresel kirleticilerin, kemoterapide kullanılan ilaçların ve oksidatif ürünlerin detoksifikasyonunda da GST izoenzimleri rol almaktadır. Konjugasyon reaksiyonu için gerekli fonksiyonel grupta bir C, bir N veya bir S atomu bulunmalıdır. [44-45]

Glutasyon S-transferazlar birçok kimyasal grupların detoksifikasyonunda yer alan bir multigen ailesidir. Bu enzimler bitki, hayvan ve bakterileri kapsayan hemen tüm canlı türlerinde bulunmaktadır. Hücrede sitozolde veya mikrozomal kısımlarda bulunabilirler. Sitozolik GST enzimleri ksenobiyotiklerin ya da endojen bileşiklerin biyotransformasyonundan sorumlu iken mikrozomal GST enzimleri ise araşidonik asit metabolizmasından sorumludur. [46-47] GST iki alt üniteden oluşan dimer yapısında bir proteindir. Her bir alt ünite yaklaşık 25 kD ağırlığındadır ve 200-240 aminoasitten oluşur. Her bir GST alt ünitesinin polipeptid zinciri kısa bağlayıcı



bölgelerce birleştirilen iki domainden oluşur. N-terminal domainin G bölgesi bir  $\beta$ -sheet ve üç  $\alpha$ -heliks yapısında olup 80 aminoasitten oluşur ve GSH'nun bağlanma bölgesidir. Hidrofobik elektrofillerin bağlanmaları ise H bölgesinde gerçekleşir. C-terminal domain kalan 5 veya 6  $\alpha$ -heliks yapısındaki amino asidi içermektedir. [48]

GST enzimleri; enzimatik özelliklerine, yapısal özelliklerine, amino asit dizilimlerine, izoelektrik noktalarına, primer yapılarına ve kimyasal davranışlarına göre sitozolik, mikrozomal ve mitokondriyal olmak üzere üç ana sınıfa ayrılmışlardır. Alt üniteler belli bir GST sınıfına özgü olduğunun göstergesidir. Bunlardan alfa, pi, teta, mu, zeta, sigma, ve omega olmak üzere 7 esas gen sınıfı sitozolik GST izoenzimlerini oluştururken; eokosanoid ve glutatyon metabolizmasında membrana bağlı proteinler (MAPEG) olarak isimlendirilen mikrozomal GST' ler ve kappa gen sınıfı da mitokondriyal GST' ler olarak tanımlanmıştır. [49-52] GST'ler bir sınıf içinde en az %40, sınıflar arası en az %30 amino asit benzerlikleri gösterirler. [51]

GST'lerin ksenobiyotik ve endojen elektrofilik bileşiklerin konjugasyonu, hücre içi redox halinin korunması, lökotrienlerin ve prostogalndinlerin sentez ve modifikasyonu gibi önemli fonksiyonları vardır. [50] Çizelge 1.8' de GST gen ailesi ve lokalizasyonları gösterilmiştir.

**Çizelge 1.8** İnsan Glutatyon S-Transferaz Gen Ailesi [49]

Süperaile	Sınıf	Kromozom	Altaile	Organ
Sitozolik	<b>Alfa</b>	6p12	GSTA1 GSTA2 GSTA3 GSTA4	Testis, karaciğer, böbrek, adrenal, pankreas Karaciğer, testis, pankreas, böbrek, adrenal, beyin Plesanta İnce bağırsak, dalak, karaciğer, böbrek, beyin
Sitozolik	<b>Mu</b>	1p13.3	GSTM1 GSTM2 GSTM3 GSTM4 GSTM5	Karaciğer, testis, beyin, adrenal, böbrek, akciğer Beyin, iskelet kası, testis, kalp, böbrek Testis, beyin, ince bağırsak, iskelet kası, akciğer Beyin, kalp, iskelet kası Beyin, kalp, akciğer, testis
Sitozolik	<b>Pi</b>	11q13	GSTP1	Beyin, kalp, akciğer, testis, böbrek, pankreas
Sitozolik	<b>Teta</b>	22q11	GSTT1 GSTT2	Böbrek, karaciğer, ince bağırsak, beyin, prostat Karaciğer
Sitozolik	<b>Sigma</b>	4q21-22	GSTS1	Fetal karaciğer, kemik iliği
Sitozolik	<b>Zeta</b>	14q24.3	GSTZ1	Fetal karaciğer, iskelet kası
Sitozolik	<b>Omega</b>	10q23-25	GSTO1 GSTO2	Karaciğer, kalp, iskelet kası, pankreas, böbrek Karaciğer
Mitekondriyal	<b>Kappa</b>	7q34	GSTK1 GSTK2	Karaciğer mitekondrisi Karaciğer mitekondrisi
Mikrozomal (MAPEG)		12p13.1-1 9q34.3 4q28-31 1q23 5q35 13q12	MGST1 MGST1 MGST2 MGST3 LTC4S FLAP	Karaciğer, pankreas, prostat, kolon, böbrek, beyin Testis, prostat, ince bağırsak, kolon Karaciğer, iskelet kası, ince bağırsak, testis Kalp, iskelet kası, adrenal bez, tiroid Trombosit, akciğer, karaciğer Akciğer, dalak, timus, ince bağırsak

### **1.2.3.1 Mü(M) Sınıfı GST (GSTM) gen ailesi**

İlk olarak 1981 yılında Board tarafından karaciğerde tanımlanan GSTM gen ailesi, 1.kromozom (1p13.3) üzerinde 20kb uzunluğundadır ve beş tane izoenzimi bulunmaktadır.[45] Ekspresyonları dokudan dokuya farklılık göstermekte olup GSTM1 baskın olarak karaciğerde, az miktarda ise akciğerde eksprese edilir. GSTM2 beyin ve iskelet kasında fazla miktarda eksprese olmasına karşın GSTM3 ise akciğer için önemli bir izoenzimdir. GSTM4 ve GSTM5 izoenzimleri ise en yoğun beyinde eksprese olan enzimlerdir.[53-54] GSTM1-A ve GSTM1-B alleleri homo ve heterodimerik kombinasyonları ile 4 genel fenotipli polimorfizm gösterir. Her iki allelin katalitik aktiviteleri birbirine çok yakındır.

GSTM1 aren oksitlerin detoksifikasyonunda rol oynar. GSTM1 homozigot delesyonu taşıyan bireylerde akciğer, mesane, kolon ve meme kanseri gelişme riskinin arttığı gösterilmiştir. GSTM1 null genotipi taşıyan bireylerde akciğer kanseri gelişme riski ise sigara dumanına maruziyet yoğunluğuna bağlıdır. Bu genotip ile sigara yoğunluğu arasındaki ilişki ayrıca larenks kanseri riskinde de önemlidir.[55]

### **1.2.3.2. Teta (T) Sınıfı GST (GSTT) gen ailesi**

GSTT gen ailesi 22. kromozom (22q11) üzerinde olup tanımlanmış iki izoenzimi bulunmaktadır. GSTT1 fosfolipid hidroperoksitlere karşı peroksidaz aktivitesi gösterir.GSTT1 loküsünde tanımlanan fonksiyonel olarak farklı iki GSTT1 varyantı vardır. GSTT1-0 homozigot gen delesyonu ve GSTT1 varlığı bilinmektedir. GSTT1 tarafından kodlanan enzim hem detoksifikasyon hem de biyoaktivasyon reaksiyonlarında rol oynar. Bu enzim monohalometanları ve etilen oksiti detoksifiye ederken, metilen klorürü toksik metabolitine dönüştürür. Dizi bakımından GSTT1'e benzeyen GSTT2'nin ise organik hidroperoksitlere karşı afinitesi vardır. GSTT1 böbrek, karaciğer, ince bağırsak, beyin, prostat gibi dokularda eksprese olurken GSTT2 ise en fazla karaciğerde eksprese olur. .[56]

### **1.2.3.3. Pi (P) Sınıfı GST (GSTP) gen ailesi**

GSTP1 geni ilk olarak insan plesantasında bulunmuş ve lokalizasyonu 11.kromozomda (11q13) şeklinde olduğu bildirilmiştir. Sonradan beyin, kalp, akciğer, testis, böbrek, pankreas ve karaciğer olmak üzere dokuların büyük kısmında sentezlendiği görülmüştür.[57] GSTP1 genindeki ilk polimorfizm Board ve ark. tarafından bulunmuştur.[58] Bu polimorfizm Ile/Val polimorfizmi olarak adlandırılır, 5. ekzonun 313. pozisyonundaki adeninin guanine değişmesiyle oluşur ve enzimin substrat bağlanan aktif merkezini etkiler.[59] İzolösünün valine değişimi enzimin konjugasyon aktivitesini anlamlı bir şekilde düşürmektedir.[60] Yapılan bazı kanser çalışmalarında tümörlerde GSTP1 enzim sentez miktarı yüksek olmasına rağmen sağ kalım sürelerinin düşük olduğu gösterilmiştir. [62]

### **1.2.3.4. GST'lerin Substratları**

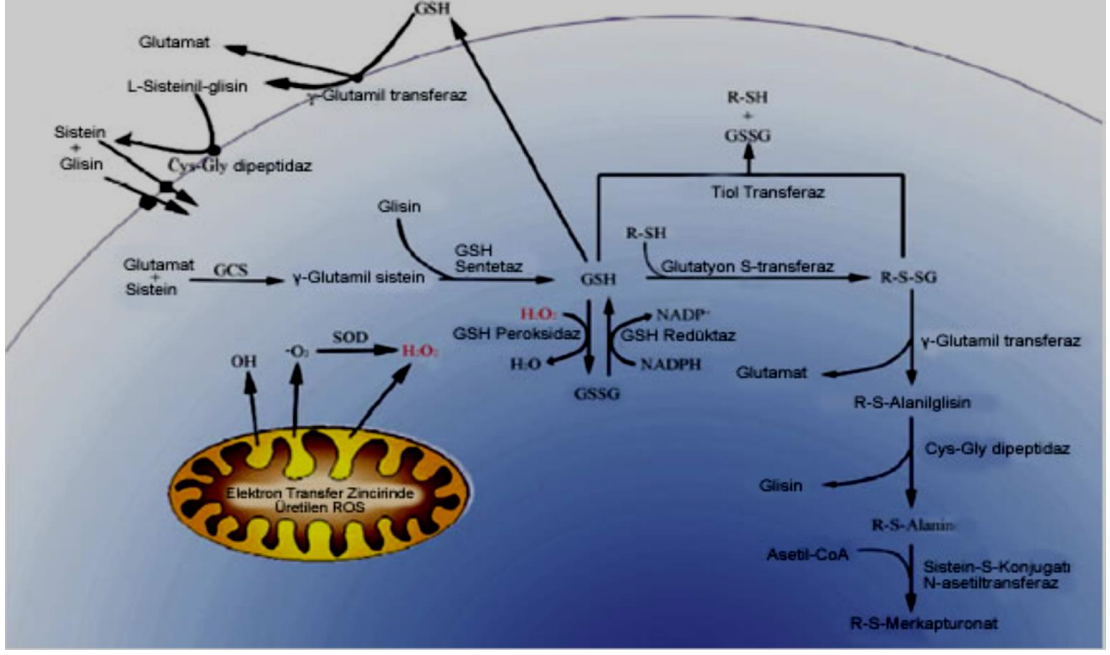
Fosfogliserik asit gibi reaktif endojen moleküller, 4-hidroksi-2-nonenal gibi endojen yağ asidi oksidasyonu ürünleri, kanser kemoterapisinde kullanılan cisplatin, insektisit olarak kullanılan DDT ve etilenoksit gibi çok sayıda çevresel karsinojen ve toksik bileşik GST'lerin substratlarıdır. (Çizelge 1.9) [57]

**Çizelge 1.9** GST' lerin substratları [57]

<b>Çevresel Karsinojenler</b>	<b>Pestisidler</b>	<b>İlaçlar</b>	<b>Endojen Moleküller</b>
BPDE	Lindan	Çis-platin	4-Hidroksi-2-nonenal
Stiren oksit	Alaklor	Klorambusil	Kolesterol-5,6-oksit
4-Nitrokinolin oksit	Atrazin	Siklofosfamid	Adenin propenal
Akroleyn	DDT	Tiyotepa	9-Hidropeksi-linoleik asit
Hekzaklorobutadien	Metil paration	Fosfomisin	Dopaminokrom
Trikloroetilen		EA	Kateşol estrojenleri
Metilen klorid		Nitrogliserin	
Etilen oksit		Adriamisin	

#### 1.2.3.5. Glutasyon S-Transferazların Detoksifikasyondaki Rolü

II. Faz reaksiyonlarının en önemlilerinden biri glutasyon ile konjugasyondur. Glutasyon S-transferazlar indirgenmiş glutasyonun nükleofilik sülfidril grubu (-SH) ile elektrofilik karbon atomu taşıyan metabolitlerin konjugasyonunu katalizleyerek polar tiyoeter yapısında bir konjugat oluşması sağlarlar. Oluşan glutasyon konjugatları, glutasyonun peptit bağlarının hidrolizi ile sistein konjugatı haline geçerler. Bu olayı sisteinin amino grubunun asetillenmesi takip eder ve sonuçta N-asetil sistein, türevi olan merkaptürik asite dönüşür. Oluşan merkaptürik asit idrar ve safra yollarıyla dışarı atılırlar. Böylece organizma için zararlı olan ksenobiyotikler ve karsinojenler detoksifiye edilmiş olurlar.(Şekil1.10) Organizmanın detoksifikasyon mekanizmasının etkinliği GSH düzeyi, GST izoenzimlerinin varlığı, miktarı ve aktivitelerindeki değişiklikler ile değerlendirilir.[5-61]



**Şekil 1.10** Genel Glutasyon Metabolizmasının şematik gösterimi [5]

Kanser tedavisinde kullanılan en önemli ilaç gruplarından biri olan alkilleyici bileşiklere direnç gelişmesi, ilaca karşı geçirgenliğin değişmesi ve hücrede GSH ve glutatyon transferaz (GT) seviyelerinin artması ile ilişkilendirilmiştir. Hücrede GSH çok fazla miktarda bulunur. Tiyol içeren bir tripeptit olan GSH vücutta, 30  $\mu\text{M}$ 'dan (plazmada) 3.0 mM'lara kadar (böbrek proksimal tübüllerinde) değişen konsantrasyonlarda bulunurken bu miktarların çeşitli organların tümörlerinde 10 mM'a kadar eriştiği bildirilmiştir.

Kemoterapi tedavilerinde ilaca karşı kazanılan direnç ile ilaçla hedeflenen kitleye ulaşamamasındaki neden GSH/GST seviyelerinin artması sonucu kemoterapi tedavisinde bu sistemle metabolize olan pek çok ilacın (adriamisin, klorambusil, melfalan ve diğer nitrojen mustard vs.) metabolizmasını hızlandırmasıdır.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, GSTA ve GSTP sınıfı olan izoenzimlerin hücresel yaşam ve ölüm sinyal iletimine katılan, mitojen ile aktive edilmiş protein kinaz (mitogen-activated protein kinase-MAP kinase) yolağındaki düzenleyici rolünün de kemoterapötik ilaçlara direnç gelişmesinde etkili olduğunu gösterilmiştir. GSTP'nin

MAP kinazlardan biri olan ve istemli hücre ölümü yolağında anahtar enzim olan JNK ile (c-Jun N-terminal kinaz 1) JNK-GSTP kompleksi oluşturarak JNK1'i inhibe ettiğini ve istemli hücre ölümüyle JNK'nın etkisini ortadan kaldırdığı bildirilmiştir. Pekçok antikanser bileşik, MAP-kinaz yollarını, özellikle JNK ve p38 yollarını, aktive ederek apoptozise sebep olmaktadır. Bu nedenle kemoterapide, geleneksel elektrofilik kanser ilaçlarının (alkilleyici bileşiklerin) etkinliğinin düzenlenmesinde GST inhibitörlerinin kullanımının faydalı olabileceği düşüncesi doğmuştur.

Kanser hücrelerinde kemoterapötik ilaca direnç gelişimi, azalmış ilaç birikimi, artmış ilaç metabolizması ve ilaç etkinliğindeki değişiklikler gibi pek çok faktörle ilişkili olabilir. Kemoterapötik bileşiklere gelişen direncin ortadan kaldırılmasındaki yeni tedavi yaklaşımlarından bir diğeri, tümör hücrelerinde yükselmiş seviyelerde salgılandığı bildirilen GST enziminden (özellikle GSTP) terapötik amaçla yararlanmaktır. Bu sayede bileşiğin normal dokulara toksisitesini azaltırken aktif bileşiğin tümör dokusuna artmış miktarda taşınmasını mümkün kılınır. [63]

#### **1.2.4. CYP ve GST İzoenzimleri ile Akciğer Kanseri**

Akciğer kanserine yakalanmada en önemli sebebinin sigara, diğer çevresel kaynaklar, ilaçlar, diyet ve beslenme kaynaklı vücuda alınan karsinojenler ile polisiklik aromatik hidrokarbonlar gibi etmenlerden kaynaklandığı yapılan bazı çalışmalar sonucu açığa çıkmıştır.

Anttila ve arkadaşlarının yaptıkları immünohistokimyasal çalışmada 57 akciğer kanserli hastanın normal dokularında CYP1A1 ve CYP1A2 izoenzimlerinin negatif boyanma gösterdiğini fakat kanserli dokularda ise pozitif boyanma gözlemlediklerini vurgulamışlardır. [64]

Oyama ve arkadaşları; 78 küçük hücreli dışı akciğer kanserli (KHDAK ) Japon hastada Aril Hidrokarbon Reseptör (AHR) ile CYP1A1, CYP2A6, CYP2E1, CYP3A izoenzimlerinin ekspresyonlarının incelenmesini immünohistokimya, western blotlama ve Real-time PCR yöntemlerini kullanarak yaptıkları çalışmada

dört CYP izoenziminin de ekspresyonunu özellikle erken evre adenokarsinomda daha yüksek olduğu fakat squamöz hücreli kanserde ise yüksek olmadığını belirtmişlerdir. [65]

Sadeck ve arkadaşları; Suudi Arabistan Krallığı'nda sigara içen ve akciğer kanseri olan 20 kişiden oluşan bir grup ile sigara içmeyen ve akciğer kanseri olmayan 20 kişilik diğer bir grup ile CYP1A1 enzim aktivitesini ve protein içeriğini ölçmüş ve hasta grupta CYP1A1 enzim aktivitesinin hasta olmayan gruba göre anlamlı bir şekilde yüksek olduğu ve ayrıca hasta grubunda da Evre II de olanların Evre I de olanlara göre daha yüksek enzim aktivitesi gösterdiğini bildirmişlerdir. CYP1A1 izoenziminin tümör dokusu ile tümörü saran sağlıklı doku arasındaki ekspresyonlarında da anlamlı bir farklılık görülmüştür. [66]

Ada ve arkadaşları; 231 akciğer kanserli, 231 kontrol grubu ile Türk populasyonunda yaptıkları bir polimorfizm çalışmasında GSTM1, GSTT1, GSTP1 ekson 5 ve ekson 6 polimorfizimlerinin akciğer kanseri gelişimindeki rollerini araştırmışlar ve GSTM1 null ve GSTT1 null ve GSTP1 ekson 5 varyant genotipinde akciğer kanseri gelişimi ile ilişki kuramamış ancak GSTP1 ekson 6 polimorfiziminin Türk populasyonunda önemli bir belirleyici faktör olduğunu bildirmişlerdir. [67]

Pliarchopoulou ve arkadaşları; 100 akciğer kanserli hasta ve 125 sağlıklı bireyden oluşan kontrol grubu ile yaptıkları polimorfizm çalışmalarında sigaraya bağlı akciğer kanseri gelişiminde CYP1A1, GSTP1 ve GSTM1 gen polimorfizimlerini araştırmışlar ve GSTP1 Ile/Val and GSTM1-null genotiplerinin akciğer kanseri ile yüksek oranda ilişkili olduğunu vurgulamışlar ayrıca küçük hücreli dışı akciğer kanserinde GSTP1 homozigot varyantını yüksek oranda ilişkilendirilmiştir. GSTP1 Ile/Val genotipi ve GSTM1 delesyonunun da akciğer kanseri gelişimine katkıda bulunduğu ve GSTP1 Val/Val genotipinde KHDAK' inde önemli olduğu gösterilmiştir. Ayrıca KHDAK'li hastalarda kısa sağkalım süresi dikkat çekmiştir. [68]

Lee ve arkadaşları; Asya populasyonundan 1971 akciğer kanserli hasta ve 2130 kontrol grubu ile polimorfizm çalışmışlar ve GSTM1 null genotipinin ve CYP1A1



6235C varyantının squamöz hücreli akciğer kanserinde yüksek risk olduğunu göstermişlerdir.[69]

Chena ve arkadaşları; PCR tekniğini kullanarak 106 akciğer kanserli hasta ile 106 kontrol grubundan oluşan Çin populasyonunda yaptıkları polimorfizm çalışması neticesinde 30 yıl ve üzerinde sigara kullananlarda GSTM1 null genotipinin ve CYP1A1 Val alelinin akciğer kanseri riskini arttırdığını göstermişlerdir.[70]

Spivack Simon ve arkadaşları; CYP1B1 izoenzimi ile ilgili yaptıkları çalışmalarında Western Blotting ve PCR tekniklerini kullanmışlar ve 16 akciğer kanserli hastanın normal ve tümörlü dokularında CYP1B1 ekspresyonunu karşılaştırmışlar ve tümörlü dokuda normal akciğer dokusuna göre daha yüksek oranda ekspresyonun gerçekleştiğini gösterişlerdir.[71]

Akbaş ve arkadaşları; akciğer kanseri olan 80 kişi ve kontrol grubu olarak 80 sağlıklı kişi olmak üzere 160 kişiden oluşan Türk populasyonunda polimorfizm çalışmışlar ve GSTP1 geni ekson 6 (ala114val) polimorfizminin akciğer kanserine yakalanma riskini etkilemediği saptanmıştır.[72]

Spivack Simon ve arkadaşları; CYP1A1, CYP1B1, GSTM1, GSTM3, GSTP1, GSTT1 izoenzimlerinin protein ekspresyonlarını 45 hastada PCR ve Western Blotlama tekniklerini kullanarak çalışmış ve bu izoenzimlerin tümöral ve normal akciğer dokularındaki ifadelerinin birbirinden farklı olduğunu ve cinsiyet ile sigara kullanımının da bu farklılıkta etkisi olduğunu göstermişlerdir.[73]

Oğuztüzün ve arkadaşları; immunohistokimyasal yöntemle küçük hücreli dışı akciğer kanserli 50 hasta ile kontrol grubu olarak da 50 kişiden oluşturdukları çalışmalarında, hasta ve kontrol gruplarından alınan dokularda sırasıyla GSTA1, GSTM4, GSTT1 ve GSTP1 izozimlerinin protein ekspresyonunun, tümörlü dokularda normal dokulara oranla daha yüksek olduğunu vurgulamışlardır.[74]

Demir ve arkadaşları; 47 akciğer kanserli hasta ile 40 sağlıklı kontrol grubu ile Türk populasyonunda GSTM1 geninin akciğer kanserindeki rolünü araştırmışlar ve PCR

metodunu kullanarak GSTM1-null genotipinin tek başına akciğer kanserinde bir risk faktörü olmadığını belirtmişlerdir.[75]

Ünsal ve arkadaşları; 38 KHDAK'li ve 23 KHAK'li toplam 61 hastada GSTP enziminin protein ekspresyonu ile cisplatin dirençliliği arasındaki ilişkiyi araştırdıkları çalışmalarında; ilaca yanıtla hasta gruplarında GSTP ekspresyonu arasında anlamlı ilişki bulamazlarken, KHDAK'da GSTP pozitifliğinin KHAK'ya oranla daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir.[76]

Fen Bai ve arkadaşları; 30 KHAK'li ve 78 KHDAK'li olmak üzere toplam 108 akciğer kanserli hastadan 38 cisplatin bazlı kemoterapi alan KHDAK hasta dokusu ile yaptıkları çalışmalarında dokular immünohistokimyasal yöntem ile boyanarak GSTP' nin ekspresyonu incelenmiş ve 25 hasta dokusunda pozitif, 13 hasta dokusunda ise negatif olarak tespit etmişler. Sonuçta KHDAK'li hastalarda GSTP ekspresyonu anlamlı olarak ilişkili bulunmuş ve bu izozimin kemoterapi yanıt belirleyicisi olarak yararlı olabileceğini vurgulamışlardır. Ayrıca KHAK'li ve KHDAK'li hastaların dokularındaki GTP izozim boyanmalarında da farklılıklar olduğunu göstermişlerdir.[77]

Nakanishi ve arkadaşları; 54 KHDAK'li hastalarda kemoterapiye yanıt ile ilgili olarak yaptıkları çalışmada bu hastalardan alınan dokularda immünohistokimya ile boyama sonucu GSTP ekspresyonu pozitif bulunarak GSTP'nin kemoterapi dirençliliğinde önemli bir risk faktörü olduğunu saptamışlardır. [78]

Mette ve arkadaşları; 430 akciğer kanserli hastadan ve 767 kişilik kontrol grubu ile PCR metodunu kullanarak yaptıkları çalışma sonucu GSTM1, GSTT1,GSTP1 polimorfizmlerinin akciğer kanseri gelişiminde ilişki olmadığını ancak sigara ile GST polimorfizimleri arasında etkileşim olduğunu belirtmişlerdir. [79]

Liu ve arkadaşları ise Çin popülasyonunda 360 kişi akciğer kanserli hasta ile 360 kişi kontrol grubu oluşturularak yaptıkları polimorfizm çalışmasında PCR-RFLP yöntemini kullanarak GSTM1 null genotipinin akciğer kanserinde ve squamöz hücreli kanserde yüksek risk olduğunu göstermişler; ayrıca sigara içiciliği ile ilgili

olarak da 30 yıldan daha fazla süre ile sigara kullananların hiç sigara kullanmayanlara oranla akciğer kanseri gelişme riskinin artmış olduğunu belirtmişlerdir. [80]

Levis ve arkadaşları; 94 akciğer kanserli hasta ve 165 sağlıklı bireylerde GSTT1, GSTM1, GSTP1 izoenzimleri ile ilgili olarak yaptıkları polimorfizm çalışmasında GSTM1 null genotipi ile akciğer kanserine yakalanma risklerinin düşük olduğu, GSTT1 ve GSTP1 genotiplerinde sağlıklı ve hasta bireyler arasında herhangi bir farklılık olmadığı gözlenmiştir.[81]

Hung ve arkadaşları ise Kafkasya'da sigara içmeyen 302 akciğer kanserli hasta ve 1631 kontrol grubu ile yaptıkları polimorfizm çalışmasında CYP1A1 ve GSTM1 izoenzimlerinin gen ekspresyonlarını inceleyerek düşük seviyelerdeki karsinogen maruziyetinde dahi akciğer kanserinde risk faktörü olabileceğini belirterek CYP1A1 Ile/Val allelinin sigara içenlerde akciğer kanser gelişiminde rol oynadığı ve ayrıca GSTM1 null genotipi ile de akciğer kanseri arasında bir bağlantı olabileceği konusunda bilgi vermişlerdir.[82]

Demirkan ve arkadaşları 219 kişiden oluşan 93'ü küçük hücreli akciğer kanserli hasta ve 126'sı sağlıklı kontrol grubu olmak üzere yaptıkları polimorfizm çalışmasında sigaranın detoksifikasyon metabolizmasındaki önemi üzerinde durmuş özellikle KHAK vakalarında sigaranın büyük etkisi olduğunu vurgulayarak CYP1A1 genotipi ile GSTM1 null genotipinin ifadelerinin hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu bildirmişlerdir.[83]

Hosgood ve arkadaşları; Asya bölgesinde 912 hasta ile 1063 kontrol grubuyla polimorfizm çalışması yapmış ve GSTM1 null genotipi ile ilgili olarak kömür tozuna maruziyetin akciğer kanserinde önemli bir etki olduğunu belirterek GSTM1 null, GSTT1 null ve GSTP1 105Val polimorfizimlerinin hava kirliliği ve akciğer kanseri arasındaki ilişkide kömür tozuna maruziyet sonucu GSTM1 null genotipinin akciğer kanserinde yüksek risk olduğunu belirtmişlerdir.[84]

Ramzy ve arkadaşlarının Mısır'da 48 akciğer kanserli hasta ve 42 kontrol grubu ile yaptığı polimorfizm çalışmasında GSTM1 null mutasyonunun akciğer kanseri riskini arttırmadığını, GSTP1 ile/ile polimorfiziminin ise akciğer kanserindeki riskini arttırdığını bildirmişlerdir.[85]

Kılıç M. yaptığı doktora tezi çalışmasında 39 adet KHDAK'li tümörlü dokuları ve bunların normal periferik dokuları kullanarak yaptığı çalışmada immünohistokimya ve Real-time PCR yöntemlerini kullanmış ve sonuçta yaklaşık olarak KHDAK li hastaların tamamında normal ve tümörlü dokularında CYP1B1 ve GSTP1 izozimlerinin protein ifadelerinin aşırı yüksek olduğunu ve bu enzimlerin aşırı ifadelerin yanında CYP1A1, CYP2E1 ve GSTM1 izozimlerinin protein ifadelerinin tümörlü dokularda normal dokulara oranla daha yüksek olduğunu istatistiksel olarak anlamlı bulunduğunu bildirmiştir. [86]

Nazar-Steward ve arkadaşlarının 274 akciğer kanserli hasta ve 501 kontrol grubu ile yaptığı polimorfizm çalışmasında GSTT1 ve GSTP1 genotiplerinin akciğer kanserinde risk oluşturmadığını fakat GSTM1 null genotipinin ise akciğer kanserinde yüksek risk oluşturduğunu ifade etmişlerdir. [87]

## 2. MATERYAL VE YÖNTEM

### 2.1. Materyal

#### 2.1.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Primer Antikor (GSTP1, GSTM1, GSTT1, CYP1A1, CYP1B1)

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)

#### 2.1.1.1. Solusyonların Hazırlanışı

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.

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.

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**

-20'lik derin dondurucu ve buzdolabı(Beko-9621)

Hassas terazi

Floresan Ataçmanlı Araştırma Mikroskobu (Leica 5000B)

Işık Mikroskobu (Zeiss- Primostar)

Otomatik mikropipet seti (CAPP)

Vortex (Heidolph)

Etüv (Binder-ED53)

Ultra distile Su sistemi (Elga Purelab Optia)

Isıticılı manyetik karıştırıcı (IKA C-Mag H58)

Ocak (Arçelik021)

Düdüklü Tencere (Hisar)

Boyama tablası (Biogen)

Lamel (Isolab)

Poly-L-lysin kaplı lamlar (Thermo)

Mezür, beher, erlenmayer (isolab)

## **2.2. Kullanılan Metot**

### **2.2.1. Materyal Kazanımı ve Hazırlanışı**

Çalışma materyali olarak kullanılan 29 KHAK 'li hastalardan alınan tümörlü dokular patoloji laboratuvarında parafine gömülerek bloklar hazırlandı ve bu bloklardan her bir vaka için poly-L-lysin kaplı lamlara 5 kesit alındı. 29 hastanın tamamına GST ve CYP izozimleri uygulandı. Hastalara ait tümör dokularının klinik evrelendirmesine

TNM evreleme sistemi kullanıldı. Hastalara ait yaş, cinsiyet, sigara kullanım durumu, tümör evre, survival ve ilaç kullanımını ile ilgili hasta bilgileri Çizelge 2.1.'de verilmiştir.

**Çizelge 2.1** Çalışmada kullanılan KHAK' li hastalara ait bilgiler

HASTA NO	YAŞ	CİNSİYET	SİGARA Paket/Yıl	Tümör Evre
11545-A/09	48	ERKEK	0	I B
2200-6T1	77	ERKEK	50	II A
11064-FK/08	60	ERKEK	40	II B
8604-3FK/09	50	ERKEK	30	II B
1733-TYP/08	59	ERKEK	0	II B
12262-3T1/08	72	ERKEK	150	II B
9120-8T2/09	58	ERKEK	15	II B
3359-5TS/05	73	ERKEK	50	II B
4590-1/05	55	ERKEK	80	II B
4104/05	71	ERKEK	100	III B
34-6T1/08	57	KADIN	100	III B
9739-2FK1/10	68	KADIN	0	III B
8541/06	59	ERKEK	30	III B
3924/05	63	ERKEK	40	III B
1546/07	63	ERKEK	50	IV
688ST/06	68	ERKEK	50	IV
13319-6P/09	57	ERKEK	45	IV
7194-4/06	54	ERKEK	40	IV
3867-7T/07	54	ERKEK	35	IV
8225-7P/07	74	ERKEK	0	IV
9440/08	48	ERKEK	25	IV
4375/06	53	ERKEK	25	IV
13296/08	69	ERKEK	50	IV
6018/05	49	ERKEK	72	IV
700/07	59	ERKEK	50	IV
13526-YP1/13	45	ERKEK	20	IV
2199/06	52	ERKEK	40	IV
11129-9Y/08	55	ERKEK	30	IV
8664-2FK	62	ERKEK	45	IV

Yapılan çalışmada tümör evrelemesi değerlendirilerek hastalığın teşhisi konulduğunda 1 hasta (%3,4) IB evresinde, 1 hasta (%3,4) IIA evresinde, 7 hasta (%24,1) IIB evresinde, 5 hasta (%17,2) III B evresinde ve 15 hasta (%51,7) ise IV. evrede bulunmuştur. (Çizelge 2.2)

**Çizelge 2.2** KHAK'li hastaların tümör evre yüzdeleri

TÜMÖR EVRESİ	IB	IIA	II B	IIIB	IV	
HASTA SAYISI	1	1	7	5	15	29
%	3,4	3,4	24,1	17,2	51,7	100

Çalışmaya konu olan 29 KHAK'li hastanın yaş ortalaması 59,72 ( $\pm 8,746$ ) olup hastalardan sadece 2 kişi kadın, diğer 27 hasta ise erkektir. Kadınlarda ortalama yaş 62,50( $\pm 7,778$ ), erkeklerde ortalama yaş ise 59,52( $\pm 8,911$ ) olarak saptanmıştır. Primer KHAK'li hastaların yaş ortalaması 62,14( $\pm 8,839$ ) ve metastatik KHAK'li hastaların yaş ortalaması ise 57,47 ( $\pm 8,314$ )'dir.

29 hastanın 4 tanesi hiç sigara kullanmamış(%13.8) ancak 25 hasta(%86.2) ise hastalığın teşhisi konuluncaya kadar sigara içmiştir.( Çizelge 2.3)

**Çizelge 2.3** KHAK' li hastaların sigara içim oranları

KHAK	Sigara içmeyen	Sigara içen
29	4	25
%100	(%13.8)	(%86.2)



## **2.2.2. İmmünohistokimya Prosedürü**

### **I. Basamak: Dokuların Deparafinizasyonu**

Etüvde 70°C’de 1 saat bekletildi.

Isınmış ksilolde yarım saat bekletildi.

Etüvden çıkarıldıktan sonra soğuma işlemi için oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi.

%90’lık alkolde 1dakika

%70’lik alkolde 1dakika

%50’lik alkolde 1dakika

Distile suda 1-2 dakika bekletildi.

### **II. Basamak**

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> blokajı ile endojen peroksidaz aktivasyonunun inhibisyonu için solusyonda 10dakika bekletildi.

Çeşme suyunda 5 dakika bekletildi.

Antijen Retrieval Solusyonu içinde düdüklü tencerede 3 dakika kaynatıldı.

Non spesifik boyanma inhibisyonu için “Protein Block Solution” 10 dakika uygulandı.

Primer antikor uygulandı (60 dakika)

PBS ile 3 defa yıkama yapıldı ve her yıkama 5 dakika bekletildi.

Sekonder antikor uygulandı (15 dakika)

PBS ile yıkandı (3x5 dakika)

Streptavidin-peroksidaz kompleksi uygulandı (20 dakika)

PBS ile yıkandı (3x5 dakika)

10 dakika DAB uygulandı.

1 dakika distile suda bekletildi.

### **III. Basamak: Hematoksilen Boyaması**

Hematoksilende 1 dakika

Distile suda 1dakika

%50'lik alkolde 1 dakika  
%70'lik alkolde 1 dakika  
%90'lık alkolde 1 dakika  
Absolü alkol-ksilolde 1dakika  
Ksilolde 10 dakika

### **2.3. Hasta Dokularının Toplanması ve Klinik Bilgiler**

Çalışma kapsamında, Atatürk Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim Araştırma Hastanesi Patoloji Bölümü Arşivi'nden alınan parafine gömülü, 29 adet KHAK'li hasta dokusu kullanılmıştır.

Poly-L-lysin kaplı lamlara alınan doku kesitleri deparafinizasyon işleminden sonra immunohistokimya (IHC) yöntemi ile CYP1A1 (1:150), CYP1B1 (1:200), GSTP1 (1:250), GSTM1 (1:250), GSTT1 (1:50), antikorları 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 durumun (-), hafif boyanma (+1), orta şiddette boyanma (+2), şiddetli boyanma (+3) olarak değerlendirme yapıldı.

### **2.4. İstatiksel Analiz**

Yapılan tez çalışmasında kullanılan SPSS bilgisayar programı (İngilizce açılımla: Statistical Package for the Social Sciences) ile faz I enzimlerinden CYP1A1, CYP1B1 izozimleriyle, faz II enzimlerinden GSTP, GSTM ve GSTT izozimlerinin küçük hücreli akciğer kanserli dokulardaki ekspresyonları arasındaki farklılıklarını incelemek için Kruskal Wallis varyans analizi, karşılıklı karşılaştırmalar için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Çalışılan izozimler ile klinik bilgiler arasındaki ilişkiler Pearson Correlation testi ile %95'lik güvenilirlik düzeyinde incelendi. Sonuçlar  $p < 0,05$  için anlamlı kabul edildi.

### 3. ARAŞTIRMA BULGULARI

#### 3.1. CYP ve GST İzozimlerinin Primer ve Metastatik Küçük Hücreli Akciğer Kanserli Hasta Dokularındaki Boyanmaları

Primer ve metastatik olarak iki grup halinde çalışılan CYP ve GST izozimlerinin dokulardaki boyanmaları incelendiğinde CYP1A1 izoziminin primer hasta dokularının %78,58'inde, metastatik hasta dokularının ise %80' inde pozitif boyanma gösterdiği; CYP1B1 izoziminde ise primer dokularda %35,7 metastatik dokularda %60 oranında boyanma gözlenmiş olup her iki izoziminde ekspresyonlarının metastatik dokularda primer dokulara göre daha fazla olduğu görülmüştür.

GSTM1 izozim ekspresyonlarına bakıldığında primer dokuların %7,14' sinde metastatik dokuların ise %13,33'ünde; GSTP1 izoziminde primer tümörlü dokularda hiç boyanma gözlenmemiş metastatik tümörlü dokuların ise % 6,66 sında ekspresyon olduğu ; GSTT1 izoziminde primer tümörlü dokuların %28,57'sinde metastatik tümörlü dokuların ise %60'ında ekspresyon görülmüştür.( Çizelge3.1 )

**Çizelge: 3.1** Primer ve metastatik KHAK'li tümörlü dokulardaki izozim ekspresyonlarının pozitiflik dağılımları

	CYP1A1		CYP1B1		GSTM1		GSTP1		GSTT1	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<b>PRİMER</b> N=14	10	%71,43	5	%35,71	1	%7,14	0	0	4	%28,57
<b>METASTATİK</b> N=15	12	%80	9	%60	2	%13,33	1	%6,66	9	%60

### **3.1.1 CYP ve GST İzozimlerinin Primer ve Metastatik KHAK'li Tümörlü Dokularda Boyanma Şiddetleri**

14 adet primer ile 15 adet metastatik KHAK'li dokuda çalışılan CYP ve GST izozimlerinin boyanma şiddetlerine göre primer hasta grubunda CYP1A1'de 4 adet negatif boyanma, 9 adet hafif şiddette boyanma, 1 adet orta şiddette boyanma metastatik hasta grubunda ise 3 adet negatif boyanma, 4 adet hafif şiddette boyanma, 2 adet orta şiddette boyanma ile 6 adet şiddetli boyanma gözlenmiş olup; CYP1B1'de ise 9 adet negatif boyanma, 4 adet hafif şiddette boyanma, 1 adet orta şiddette boyanma primer hasta grubunda görülürken 6 adet negatif boyanma, 3 adet hafif şiddette boyanma, 1 adet orta şiddette boyanma ile 5 adet şiddetli boyanma da metastatik hasta grubunda bulunmuştur.

GSTM1 izoziminde primer hasta grubunda 13 adet negatif boyanma, 1 adet hafif şiddette boyanma ve metastatik hasta grubunda ise 13 adet negatif boyanma, 2 adet hafif şiddette boyanma; GSTP1 izoziminde primer hasta grubunda 14 adet negatif boyanma ile metastatik hasta grubunda ise 14 adet negatif boyanma, 1 adet hafif şiddette boyanma; GSTT1 izoziminde primer hasta grubunda 10 adet negatif boyanma, 4 adet hafif şiddette boyanma ve metastatik hasta grubunda ise 6 adet negatif boyanma, 9 adet hafif şiddette boyanma gözlenmiştir. Her iki grupta da orta şiddetli ve şiddetli boyanma görülmemiştir.

İki grup birlikte değerlendirildiğinde KHAK'li tümörlü dokulardaki boyanma şiddetleri bakımından CYP ve GST izozimleri karşılaştırıldığında en fazla boyanma gözlenenden en az boyanma gösterene doğru bir sıralama yapıldığında sırasıyla CYP1A1, GSTT, CYP1B1, GSTM, GSTP şeklinde olduğu görülmüştür.(Çizelge 3.2)

**Çizelge 3.2** KHAK'li dokularda CYP ve GST izozimlerinin boyanma şiddetlerinin ortalamaları

n=29	CYP1A1	CYP1B1	GSTM1	GSTP1	GSST1
<b>Ort±SS</b>	1,28 ± 1,06	0,90 ± 1,15	0,10 ± 0,31	0,03 ± 0,19	0,45 ± 0,50
<b>Min-Max</b>	(0-3)	(0-2)	(0-1)	(0-1)	(0-1)

### 3.1.2. CYP İzozimlerinin Dağılımları

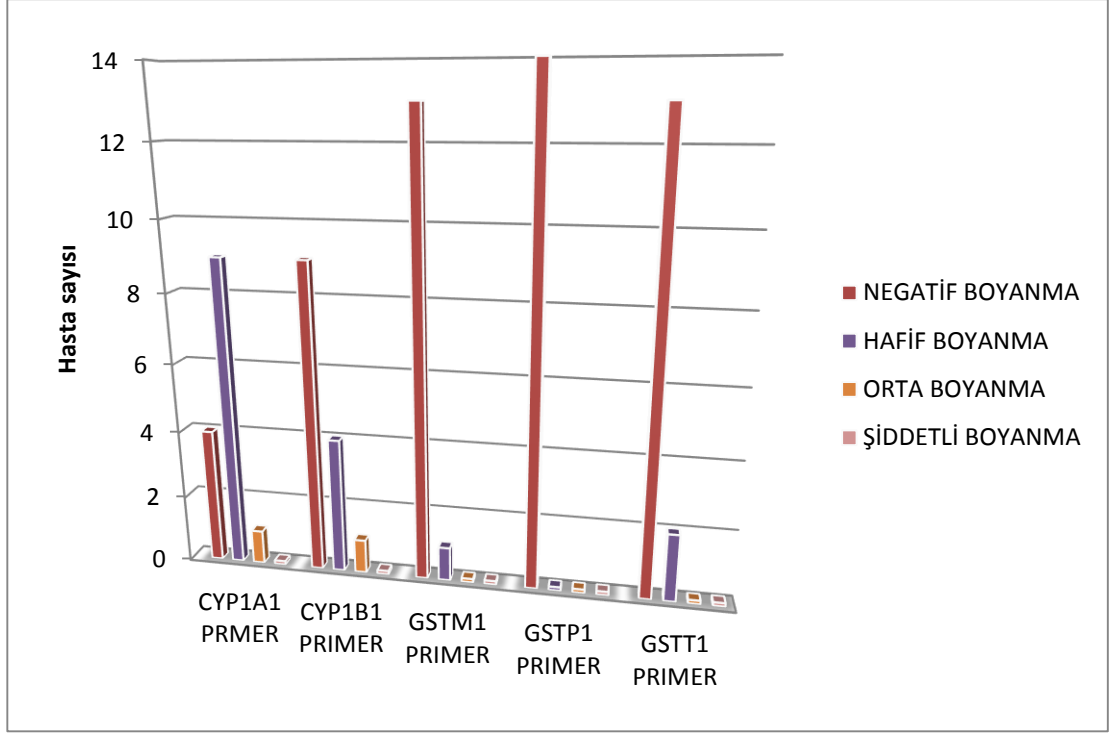
CYP1A1 ve CYP1B1 izozimlerinin primer ve metastatik küçük hücreli akciğer kanserli dokulardaki dağılımları Çizelge 3.3' te verilmiştir.

**Çizelge 3.3**CYP izozimlerinin KHAK' li tümörlü dokulardaki dağılımı

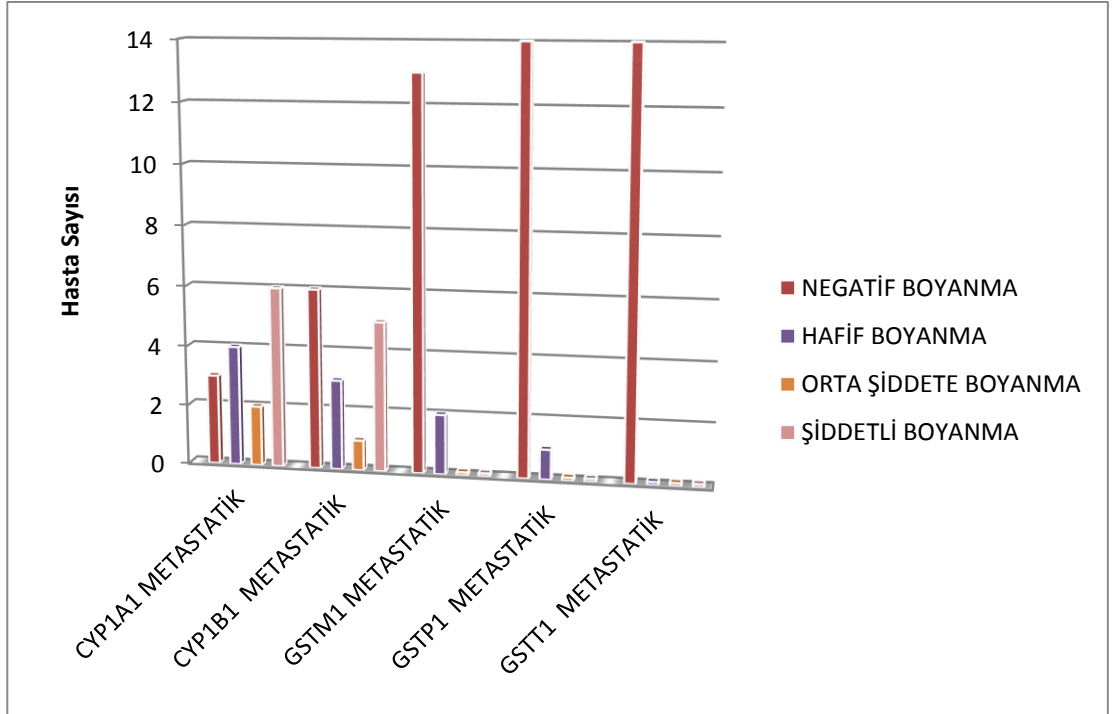
	CYP1A1						CYP1B1					
	primer		metastatik		TOTAL		primer		metastatik		TOTAL	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<b>(-) Negatif</b>	4	28,57	3	20	7	24,29	9	64,28	6	40	15	52,15
<b>(+1)Hafif</b>	9	64,28	4	26,67	13	45,47	4	28,58	3	20	7	24,28
<b>(+2)Orta</b>	1	7,15	2	13,33	3	10,24	1	7,14	1	6,66	2	6,9
<b>(+3)Şiddetli</b>	0	0	6	40	6	20	0	0	5	33,34	5	16,67
	14	100	15	100	29	100	14	100	15	100	29	100

Yaptığımız çalışmada 29 KHAK 'li hastanın dokularındaki CYP1A1'in ve CYP1B1 'in dağılımları incelenmiş ve sonuçlar Çizelge 3.1.2'deki gibi bulunmuştur. CYP1A1 29 vakadan 7 (%24,29) sinde negatif, 13 (%45,47) ünde hafif, 3 (%10,24) ünde orta şiddet ve 6 (%20) sında şiddetli boyanma göstermiştir.

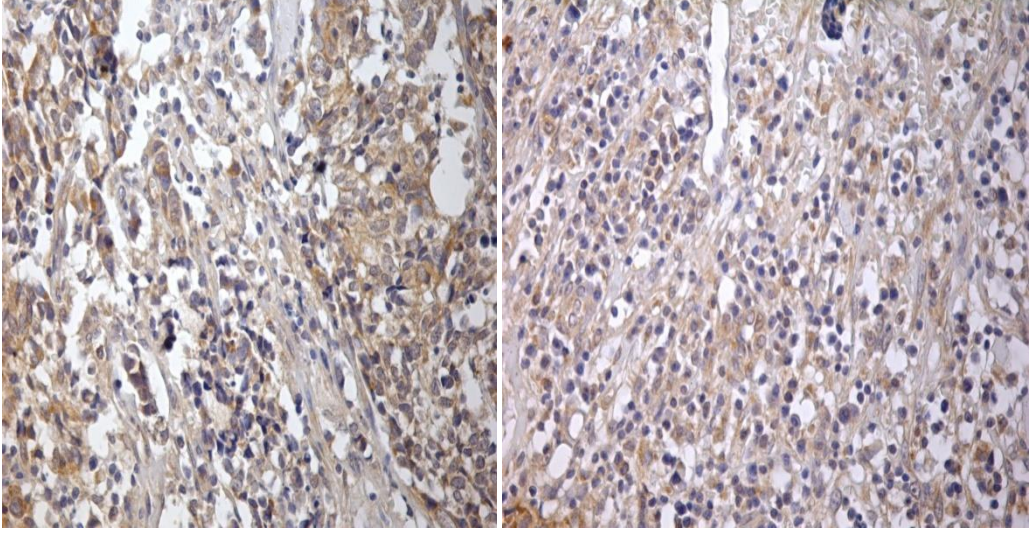
CYP1B1 ise 29 vakadan 15 (%52,15) inde negatif, 7 (%24,28) sinde hafif , 2 (%3,4) sinde orta şiddet, 5 (%16,67) inde de şiddetli boyanma göstermesine rağmen hiçbir vakada şiddetli boyanma göstermemiştir.(Şekil 2.1-Şekil 2.2) İzozimlerin boyanmalarının mikroskopik görüntüleri Şekil 2.3 ve Şekil 2.4'te gösterilmektedir.



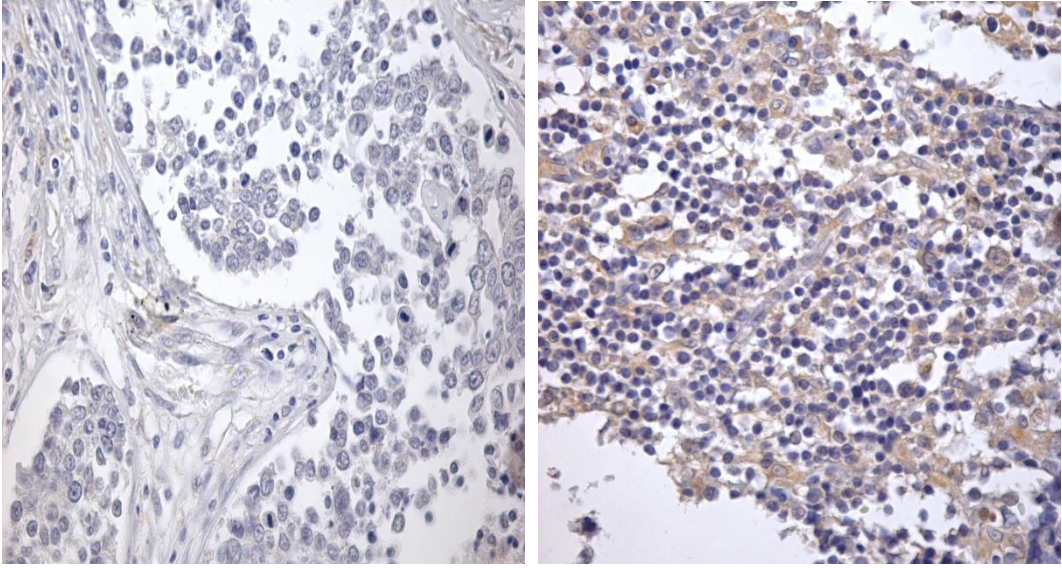
Şekil 2.1 CYP ve GST izozimlerinin KHAK' li primer dokulardaki boyanma şiddetleri



Şekil 2.2 CYP ve GST izozimlerinin KHAK' li metastatik dokulardaki boyanma şiddetleri



**Şekil 2.3** CYP1A1 izoziminin KHAK'li dokudaki immünohistokimyasal boyanması(x40)



**Şekil 2.4** CYP1B1 izoziminin KHAK'li dokudaki immünohistokimyasal boyanması(x40)

### 3.1.3. GST İzozimlerinin Dağılımları

GSTM1, GSTP1 ve GSTT1 izozimlerinin primer ve metastatik küçük hücreli akciğer kanserli dokulardaki dağılımları Çizelge 3.4’ te verilmiştir.

**Çizelge 3.4** GST izozimlerinin KHAK’li dokulardaki dağılımı

	GSTM1				GSTP1				GSTT1			
	Primer		metastatik		Primer		metastatik		Primer		Metastatik	
Boyama şiddeti	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
(-) Negatif	13	92,8	13	86,7	14	100	14	93,3	10	71,4	6	40
(+1)Hafif	1	7,2	2	13,3	0	0	1	6,7	4	28,6	9	60
(+2)Orta	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(+3)Şiddetli	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	14	100	15	100	14	100	15	100	14	100	15	100

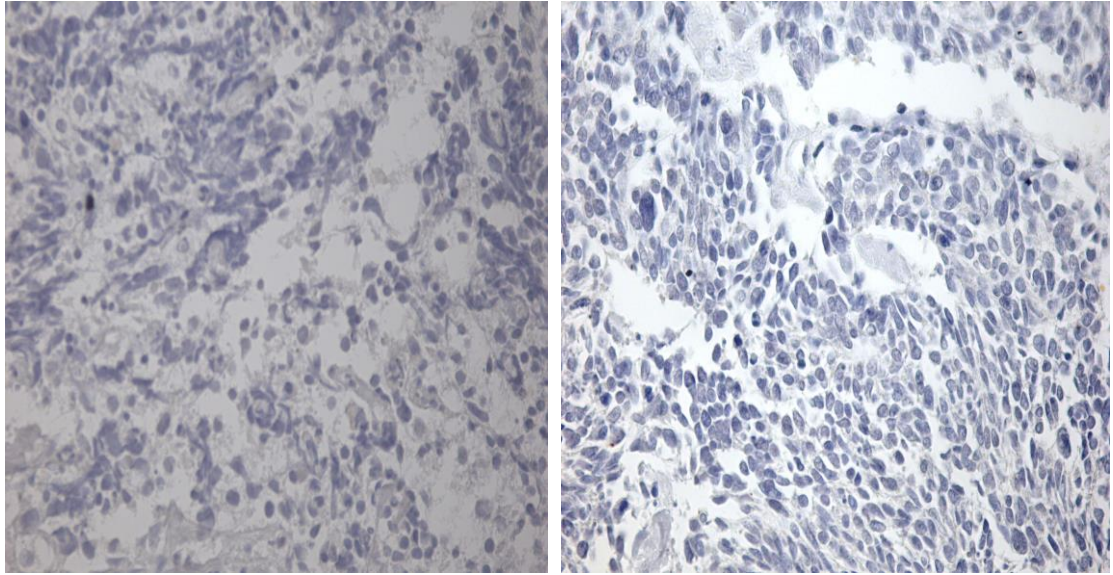
29 KHAK ‘li dokuda GSTM1 izoziminin boyama şiddetlerine bakıldığında 26 (89,7) sında negatif boyama göstermiş, 3 (%10,3) ünde hafif şiddette boyama göstermiş ve orta şiddetli ve şiddetli boyama ise göstermediği saptanmıştır. Primer KHAK’li hasta dokularında 13 adet GSTM1 izozim ekspresyonu saptanamamış olup 1 adet hafif şiddetli boyama ile ekspresyon tespit edilmiştir. Yüzdeler oranlarında %92,8 GSTM1 izoziminin eksprese olmadığı ve %7,2 oranında hafif şiddette boyama ile ekspresyon olduğunu göstermektedir. Metastatik dokularda ise GSTM1 ekspresyonu gösteren dokuların boyama şiddetlerine göre 13 adet negatif boyama şiddeti ve %86,7 oran ile 2 adet hafif şiddetli boyama ve %13,3 oran görülmüştür. (Çizelge 3.4)

GSTP1 izozimindeki boyama şiddetleri 28 (%96,6) inde negatif boyama, 1 (%3,4) inde hafif şiddette boyama göstermesine rağmen orta ve şiddetli boyama bu izozimde görülmemiştir. Primer dokularda 14 hastanın hepsinde de negatif boyama şiddeti ile bu izozimin %100 oranında eksprese edilmediği saptanmış olup metastatik dokularda ise sadece 1 dokuda hafif şiddetli boyama şiddeti ile %3,35 oran ve geri kalan 14 dokuda ise %96,65 oranda boyama görülmemiştir. (Çizelge 3.4)

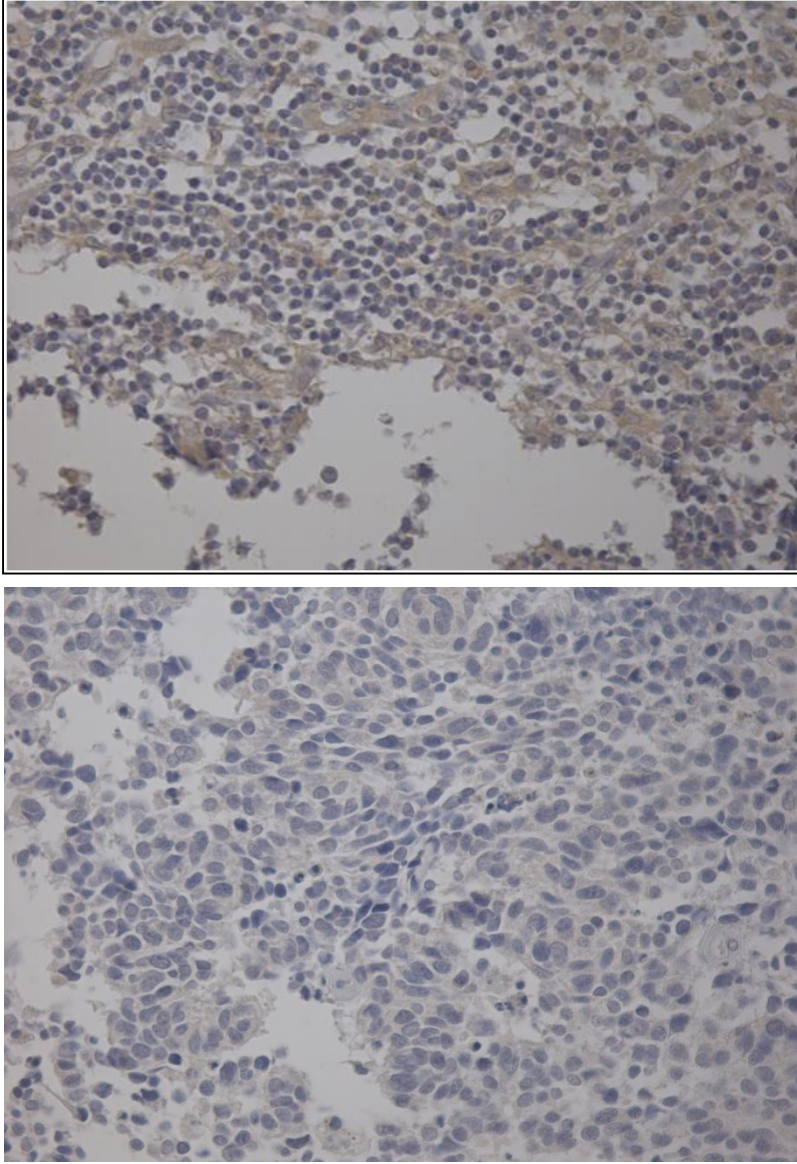


GSTT izozimindeki boyanma şiddetleri 16 (%55,2) sında negatif boyanma, 13 (%44,8) ünde hafif şiddette boyanma göstermiş ve orta şiddetli ve şiddetli boyanma göstermemiştir. Primer dokularda bu izozimin ekspresyonu incelendiğinde %71,4 oran ile 10 adet negatif boyanma şiddeti ve % 28,6 oran ile de 4 adet hafif şiddette boyanma tespit edilmiştir. Metastatik dokularda ise %40 oran ile 6 adet negatif boyanma ve %60 oran ile 9 adet hafif şiddette boyanma görülmüştür. (Çizelge 3.4)

Hem primer hem de metastatik KHAK'li dokularda her üç GST izozimlerinde orta şiddette boyanma ve şiddetli boyanma görülmemiştir. Ayrıca boyanma şiddetlerinin oranları incelendiğinde her üç izozimin de metastatik KHAK'li dokularda primer KHAK'li dokulara göre daha fazla eksprese olduğu tespit edilmiştir. GST izozimlerinin mikroskopik boyanma görüntüleri Şekil 2.5 ve Şekil 2.6 'da gösterilmektedir.



**Şekil 2.5** GST izozimlerinin KHAK' li dokularda immünohistokimyasal boyanma görüntüleri Sol: GSTM izoziminin immünohistokimyasal boyanması (x40)  
Sağ: GSTP izoziminin immünohistokimyasal boyanması (x40)



**Şekil 2.6** GST izozimlerinin KHAK' li dokularda immünohistokimyasal boyanma görüntüleri Üst: GSTM izoziminin immünohistokimyasal boyanması (x40)  
Alt : GSTT izoziminin immünohistokimyasal boyanması (x40)

### **3.2 CYP ve GST izozimlerinin ekspresyonlarının KHAK'li dokularda karşılaştırılması**

CYP1A1 ve CYP1B1 izozimlerinin ekspresyonları karşılaştırıldığında CYP1A1 izoziminde %75,71 pozitiflik görülürken CYP1B1 izoziminde ise %47,85

pozitiflik görülmüş, CYP1A1 izoziminde %24,29 negatiflik ve CYP1B1 izoziminde ise %52,15 negatiflik görülmesine rağmen aradaki fark istatistiksel olarak doğrulanamadı. ( $p=0,099>0.05$ ) (Çizelge 3.5)

**Çizelge 3.5** CYP1A1 ve CYP1B1 izozimlerinin KHAK'li dokulardaki ekspresyon düzeyleri

n=29	CYP1A1	CYP1B1
<b>Ort±SS</b>	1,28 ± 1,06	0,90 ± 1,15
<b>Min-Max</b>	(0-3)	(0-3)
	P=0,099	

Faz I enzimlerinden CYP1A1 izoziminin boyanma şiddetine göre pozitiflik oranı %75,71 ve faz II enzimlerinden GSTM1 izoziminin ise %10,25 olduğu ve buna göre de CYP1A1 izoziminin GSTM1 izozimine göre daha fazla eksprese olduğu istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur. ( $p<0.001<0.05$ ) (Çizelge 3.6)

**Çizelge 3.6** CYP1A1 ve GSTM1 izozimlerinin KHAK'li dokulardaki ekspresyon düzeyleri

n=29	CYP1A1	GSTM1
<b>Ort±SS</b>	1,28 ± 1,06	0,10 ± 0,31
<b>Min-Max</b>	(0-3)	(0-1)
	P<0,001	

CYP1A1 izoziminin GSTP1 izozimi karşılaştırıldığında CYP1A1 izoziminde pozitiflik oranı %75,71; GSTP1 izozimde ise negatiflik oranı %96,65'tir. Bu verilere göre CYP1A1 izoziminin GSTP1 izozimine göre daha fazla eksprese olduğu istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur. ( $p<0.001<0.05$ ) (Çizelge 3.7)

**Çizelge 3.7** CYP1A1 ve GSTP1 izozimlerinin KHAK'li dokulardaki ekspresyon düzeyleri

n=29	CYP1A1	GSTP1
<b>Ort±SS</b>	1,28 ± 1,06	0,03 ± 0,19
<b>Min-Max</b>	(0-3)	(0-1)
	P<0,001	

CYP1A1 izoziminin GSTT izozimine göre daha fazla eksprese olduğunun istatistiksel olarak da anlamlı bulunması ( $p<0.001<0.05$ ) bu izozimlerin yüzdeler oranlarında %75,71 pozitiflik ile CYP1A1 izoziminin, %44,3 pozitiflik ile GSTT1 izozimleri arasındaki ekspresyon farkını göstermektedir. (Çizelge 3.8)

**Çizelge 3.8** CYP1A1 ve GSTT1 izozimlerinin KHAK'li dokulardaki ekspresyon düzeyleri

n=29	CYP1A1	GSTT1
<b>Ort±SS</b>	1,28 ± 1,06	0,45 ± 0,50
<b>Min-Max</b>	(0-3)	(0-1)
	P<0,001	

CYP1B1 izozimi ekspresyonunda pozitiflik %47,85 iken GSTM1 izozimi ekspresyonu pozitifliği ise %10,25'tir. Bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş olup CYP1B1 izozimi GSTM1 izozimine göre daha fazla eksprese olmuştur. ( $p=0.001<0.005$ ) (Çizelge 3.9)

**Çizelge 3.9** CYP1B1 ve GSTM1 izozimlerinin KHAK'li dokulardaki ekspresyon düzeyleri

n=29	CYP1B1	GSTM1
<b>Ort±SS</b>	0,90 ± 1,15	0,10 ± 0,31
<b>Min-Max</b>	(0-3)	(0-1)
	P=0,001	

Ekspresyon düzeyleri incelendiğinde CYP1B1 izoziminin pozitifliği %47,85 ve GSTP1 izoziminin pozitifliği ise %3,35'tir. İstatistiksel olarak da iki izozim arasındaki farklılık doğrulandı. ( $p < 0.001 < 0.05$ ) (Çizelge 3.10)

**Çizelge 3.10** CYP1B1 ve GSTP1 izozimlerinin KHAK'li dokulardaki ekspresyon düzeyleri

n=29	CYP1B1	GSTP1
<b>Ort±SS</b>	0,90 ± 1,15	0,03 ± 0,31
<b>Min-Max</b>	(0-3)	(0-1)
P<0.001		

CYP1B1 izozimi ile GSTT1 izoziminin arasındaki ekspresyon farklılığı istatistiksel olarak anlamlı bulunamadı. ( $p = 0.299 > 0.05$ ) CYP1B1 izozimindeki pozitiflik %47,85 iken GSTT1 izozimindeki pozitiflik ise %44,3 olarak tespit edilmiş ancak arasındaki fark istatistiksel olarak doğrulanamadı. (Çizelge 3.11)

**Çizelge 3.11** CYP1B1 ve GSTT1 izozimlerinin KHAK'li dokulardaki ekspresyon düzeyleri

n=29	CYP1B1	GSTT1
<b>Ort±SS</b>	0,90 ± 1,15	0,45 ± 0,50
<b>Min-Max</b>	(0-3)	(0-1)
P=0.299		

GSTP1 izozimi ile GSTM1 izozimi karşılaştırıldığında her iki izozimdede negatiflik oranı oldukça yüksektir. GSTP1'de pozitiflik %3,35 iken GSTM1'de ise bu oran %10,25'tir. Bu iki izozim arasındaki ekspresyon farklılığı istatistiksel olarak anlamlı değildir. ( $p = 0.304 > 0.05$ ) (Çizelge 3.12)

**Çizelge 3.12** GSTP1 ve GSTM1 izozimlerinin KHAK'li dokulardaki ekspresyon düzeyleri

n=29	GSTP1	GSTM1
<b>Ort±SS</b> <b>Min-Max</b>	0,03 ± 0,31 (0-1)	0,10 ± 0,31 (0-1)
	P=0.304	

GSTP1 izoziminin GSTT1 izozimine göre daha fazla eksprese olduğu istatistiksel olarak anlamlı olduğu ( $p < 0.001 < 0.05$ ) pozitiflik oranlarına bakılarak da doğrulandı. GSTP1' de pozitiflik %3,35 iken GSTT1' de ise pozitiflik %44,3 olarak bulundu. (Çizelge 3.13)

**Çizelge 3.13** GSTP1 ve GSTT1 izozimlerinin KHAK'li dokulardaki ekspresyon düzeyleri

n=29	GSTP1	GSTT1
<b>Ort±SS</b> <b>Min-Max</b>	0,03 ± 0,31 (0-1)	0,45 ± 0,50 (0-1)
	P<0.001	

GSTM1 izoziminin GSTT1 izoziminden fazla eksprese olduğu istatistiksel olarak anlamlı bulunduğu ( $p = 0.004 < 0.05$ ) ve pozitifliklerine bakıldığında ise GSTM1' de %10,25, GSTT' de ise %44,3 pozitiflik olduğu saptandı. Ekspresyon farklılığının GSTT izozimi lehine olduğu tespit edildi. (Çizelge 3.14)

**Çizelge 3.14** GSTM1 ve GSTT1 izozimlerinin KHAK'li dokulardaki ekspresyon düzeyleri

n=29	GSTM1	GSTT1
<b>Ort±SS</b> <b>Min-Max</b>	0,10 ± 0,31 (0-1)	0,45 ± 0,50 (0-1)
	P=0.004	

### 3.2.1 CYP ve GST izozimlerinin ekspresyonlarının Primer ve Metastatik KHAK'li dokularda karşılaştırılması

29 adet KHAK'li hastadan oluşan tez çalışmasında 14 adet primer KHAK'li ve 15 adet metastatik KHAK'li olmak üzere iki gruba ayrılarak bu iki grup arasında çalışmaya konu olan izozimlerin ekspresyon farklılıkları incelenmiştir.

Çizelge 3.1' de görüldüğü üzere primer KHAK'li hasta grubunda 10 hasta dokusunda %71,43'lük pozitiflik ile CYP1A1 izoziminin 12 metastatik KHAK'li hasta dokusundaki %80'lik pozitif ekspresyonunun bulunması metastatik dokularda CYP1A1 izoziminin daha fazla eksprese olduğu ve bunun istatistiksel olarak da doğrulandığı bulunmuştur. ( $p=0,033 < 0,05$ ) (Çizelge 3.15)

CYP1B1 izoziminin ekspresyonunda ise primer KHAK'li hasta grubunda 5 hasta dokusunda %35,71 oran ile pozitiflik görülürken metastatik KHAK'li hasta grubunda ise 9 hasta dokusunda %60'lık pozitiflik tespit edilmiş olmasına rağmen aradaki ekspresyon farklılığı istatistiksel olarak doğrulanamamıştır. ( $p=0,067 > 0,05$ ) (Çizelge 3.15)

**Çizelge 3.15** CYP izozimlerinin primer ve metastatik dokulardaki boyanma şiddetleri

	PRİMER N=14	METASTATİK N=15	M/P* P** değeri
<b>CYP1A1</b>	0,79±0,58 <sup>a</sup> (0-3) <sup>b</sup>	1,73±1,22 (0-3) <sup>b</sup>	2,19 <b>0,033</b>
<b>CYP1B1</b>	0,43±0,65 (0-3)	1,33±1,34 (0-3)	3,09 0,067

Boyanma şiddetleri, farklı KHAK'li hastaların primer ve metastatik olarak gruplandırılan dokuların hücrelerindeki boyanma şiddetine göre hesaplanmıştır. Buna göre 0; (-)negatif boyanma, 1; hafif şiddette boyanma, 2; orta şiddette boyanma ve 3; şiddetli boyanma şeklinde derecelendirildi. Primer ve Metastatik dokular arasındaki protein ifadelerin farklılıkları Mann-Whitney U Test ile %95'lik güvenilirlik düzeyinde incelendi.

\*\* P değeri 0,05 den küçük olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

a: ortalama değer±standart hata

b: minimum ve maksimum boyama şiddeti

\*: Enzimlerin oranı

GST izozimlerinin primer KHAK'li hasta dokularında ve metastatik KHAK'li hasta dokularındaki ekspresyon farklılıkları değerlendirildiğinde GSTM1 izoziminin primer doku grubunda %7,14 pozitif ekspresyon olduğu ve metastatik doku grubunda ise %13,33 pozitif ekspresyon olmasına rağmen aradaki ekspresyon farklılığı istatistiksel olarak doğrulanamamıştır.(p=0,591>0,05) (Çizelge 3.16)

Primer KHAK'li hasta grubu dokularının hiçbirinde pozitif GSTP izozim ekspresyonu olmamış fakat metastatik KHAK'li hasta dokularında ise pozitiflik oranı %6,66 olarak hesaplanmıştır. Bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. (p=0,334>0,05) (Çizelge 3.16)

GSTT1 izoziminin primer KHAK' li hasta dokularındaki ekspresyonu ile metastatik KHAK 'li hasta dokularındaki ekspresyonu karşılaştırıldığında % 28,57 pozitiflik oranına karşı % 60 pozitiflik oranı ile metastatik doku grubunda daha fazla GSTT1 izozim ekspresyonu olduğu görülmüştür. Ancak aradaki fark istatistiksel olarak doğrulanamamıştır.(p=0.095>0.05) (Çizelge 3.16)

**Çizelge 3.16** GST izozimlerinin primer ve metastatik dokulardaki boyanma şiddetleri

	PRİMER N=14	METASTATİK N=15	M/P* P** değeri
<b>GSTM1</b>	0,07±0,27 <sup>a</sup> (0-) <sup>1b</sup>	0,13±0,35 (0-1)	1,86 0,591
<b>GSTP1</b>	0,00 (0-1)	0,007±0,23 (0-1)	Tanımsız 0,334
<b>GSTT1</b>	0,29±0,47 (0-1)	0,60±0,50 (0-1)	2,07 0,095

Boyanma şiddetleri, farklı KHAK'li hastaların primer ve metastatik olarak gruplandırılan dokuların hücrelerindeki boyanma şiddetine göre hesaplanmıştır. Buna göre 0; (-)negatif boyanma, 1; hafif şiddette boyanma, 2; orta şiddette boyanma ve 3; şiddetli boyanma şeklinde derecelendirildi. Primer ve Metastatik dokular arasındaki protein ifadelerin farklılıkları Mann-Whitney U Test ile %95'lik güvenilirlik düzeyinde incelendi.

\*\* P değeri 0,05 den küçük olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

a: ortalama değer±standart hata

b: minimum ve maksimum boyama şiddeti

\*: Enzimlerin oranı



### 3.3 CYP ve GST İzozimlerinin Klinik Parametrelerle Karşılaştırılması

Çalışmadaki hastalara ait yaş, cinsiyet, sigara kullanım durumu, tümör evre ile ilgili bilgiler çizelge 2.1.'de verilmiştir. Bu veriler ile CYP ve GST izozimlerinin tümörlü dokulardaki ekspresyonları arasındaki ilişkiler araştırılmıştır.

Yapılan bu çalışmada ortalama yaş  $59.72 \pm 1.62$  olarak bulunmuştur. Hastaların 18(%62,07)'i ortalama yaşın altında olup 9(% 37,93)'u ise ortalama yaşın üzerindedir. Her iki yaş grubunda da yaş ile CYP1A1, CYP1B1, GSTM1, GSTP1 ve GSTT1 izozimlerinin ekspresyon düzeyleri arasında Mann-Whitney U istatistiksel analizi ile anlamlı bir ilişki saptanamamıştır. ( $p > 0,005$ ) (Çizelge 3.17)

**Çizelge 3.17** Yaş gruplarına göre CYP ve GST izozimlerinin KHAK'li dokulardaki ekspresyon şiddetleri

	CYP1A1	CYP1B1	GSTM1	GSTP1	GSTT1
<b>YAŞ≤60 (n=18)</b>	1,5 ± 1,2 (0-3)	1,0 ± 1,33 (0-3)	0,17±0,38 (0-1)	0,06 ± 0,24 (0-1)	0,56 ± 0,51 (0-1)
<b>YAŞ&gt;60 (n=11)</b>	0,91 ± 0,70 (0-3)	0,73±0,79 (0-3)	-----	-----	0,27 ± 0,47 (0-1)
	P=0,233	P=0,922	P=0,160	P=0,434	P=0,144

Ancak yaş ile GSTT1 izoziminin tümörlü dokudaki boyanma şiddeti arasında PearsonCorrelation istatistiksel analizi ile anlamlı, negatif yönde orta düzeyde bir ilişki saptanmıştır. ( $r = -0,496$   $p = 0,006$ ) Yaşın ilerlemesi ile GSTT1 izoziminin boyanma şiddeti ters orantılı olarak azalmıştır. (Çizelge 3.18)

**Çizelge 3.18** KHAK'li dokulardaki CYP ve GST izozimlerinin yaş ile karşılaştırılması

		CYP1A1	CYP1B1	GSTM1	GSTP1	GSTT1
<b>YAS</b>	Pearson Correlation	-,317	,050	-,213	-,236	-,496(**)
	Sig. (2-tailed)	,094	,440	,267	,218	,006
	N	29	29	29	29	29

\*\* Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Yaş ortalaması baz alınarak yapılan ayırım sonucunda 60 yaş altındaki KHAK'li hastaların tümörlü dokularındaki CYP izozimlerinin ekspresyonundaki pozitiflik ile 60 yaş üzerindeki KHAK'li hastaların tümörlü dokularındaki CYP izozimlerinin ekspresyonundaki pozitiflik arasında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. KHAK'li hastaların tümörlü dokularındaki GST izozimlerinin ekspresyonundaki pozitiflik 60 yaş altındakilerde 60 yaş üzerindeki KHAK'li hastaların tümörlü dokularındakilere göre daha fazla olması istatistiksel olarak doğrulanamamıştır.(Çizelge 3.19)

**Çizelge 3.19** Yaş gruplarına göre CYP ve GST izozimlerinin KHAK'li dokulardaki ekspresyonlarını pozitiflikleri ve yüzde dağılımları

	CYP1A1		CYP1B1		GSTM1		GSTP1		GSTT1	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<b>YAŞ≤60 (n=18)</b>	14	77,8	8	44,5	3	16	3	5,5	10	55,6
<b>YAŞ&gt;60 (n=11)</b>	8	72,7	6	54,5	0	0	0	0	3	27,3

Yapılan bu çalışmadaki 29 KHAK' li hastanın 4 tanesi hiç sigara kullanmamış (%13.8) ancak 25 hasta(%86.2) ise hastalığın teşhisi konuluncaya kadar sigara içmiştir. Sigara içen ve içmeyen hastaların tümörlü dokularındaki CYP1A1 ekspresyonunda sırasıyla 19 (%76) ve 3(%75) hastada pozitif bulunmuştur. CYP1B1 izoziminde ise ekspresyon sigara içenlerde 12(%48) hastada, içmeyenlerde ise 2(%50) hastada pozitifdir. Her iki izozimin ekspresyonlarında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. CYP1A1 ve CYP1B1 izozimlerinin sigara ile ilişkisinin araştırıldığı istatistiksel analiz sonucunda da anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.(p>0,05)

GSTM1 izoziminin ekspresyonu sigara içen hastaların tümörlü dokularında incelendiğinde 3( %12)'tür; sigara içmeyen hastaların tümörlü dokularında ise bu

izozimin hiç eksprese olmadığı görülmüştür. GSTP1 ve GSTT1 izozimlerinin ekspresyonları incelendiğinde pozitiflik sırasıyla 1(%4) ve 11( %44) şeklinde hiç eksprese olmamamış ve GSTT izozimi ise 4 hastadan 2(%50)'sinde pozitif sonuç vermiştir. (Çizelge 3.20)

**Çizelge 3.20** Sigara içen ve içmeyen KHAK'li hastalarda CYP ve GST izozimlerinde pozitiflik miktarları ve yüzde ifadeleri

	CYP1A1		CYP1B1		GSTM1		GSTP1		GSTT1	
	n	%	N	%	n	%	n	%	n	%
<b>SİGARA İÇEN(n=25)</b>	19	76	12	48	3	12	1	4	11	44
<b>SİGARA İÇMEYEN(n=4)</b>	3	75	2	50	0	0	0	0	2	50

Bu sonuçlardan yola çıkarak GSTP1 ve GSTM1 izozimlerinde sigara içen ve sigara içmeyenlerdeki ekspresyon farklılığı istatistiksel olarak doğrulanmamıştır. ( $p>0,005$ ) Aynı şekilde sigara içimini paket/yıl şeklinde değerlendirildiğinde de yine CYP ve GST izozimlerinin ekspresyon düzeyleri ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanamamıştır. ( $p>0,005$ ) (Çizelge 3.21 )

**Çizelge 3.21** KHAK'li hasta dokularında GST ve CYP izozimlerinin sigara içimi paket/yıl ile karşılaştırılması

		CYP1A1	CYP1B1	GSTM	GSTP	GSTT
<b>SİGARA</b>	Pearson Correlation	-,086	-,255	-,054	,166	-,115
	Sig. (2-tailed)	,659	,825	,779	,389	,552
	N	29	29	29	29	29

Çalışmaya konu olan hastalardaki tümör evreleri sırasıyla ile IB, IIA, IIB, IIIB, IV şeklinde olup CYP1A1 izoziminde en fazla ekspresyon son evre olan IV. evrededir ve alt evrelere gittikçe ekspresyondaki pozitiflik de azalmaktadır.CY1B1 izoziminde de durum farklı değildir. Çalışılan GST izozimlerinde de son evrede ekspresyon artmıştır. (Çizelge 3.22 )

**Çizelge 3.22** Tümör evrelerine göre KHAK’li hasta dokularındaki CYP ve GST izozimlerin ekspresyonlarının pozitiflikleri

EVRE	CYP1A1	CYP1B1	GSTM1	GSTP1	GSTT1
	n	n	n	n	n
IB (n=1)	1	0	0	0	1
IA (n=1)	0	0	0	0	0
II B (n=7)	5	4	1	0	1
IIIB (n=5)	4	1	0	0	2
IV (n=15)	12	9	2	1	9

Hastaların tümör evreleri ile tümörlü dokularında CYP ve GST izozimlerinin ekspresyon düzeyleri boyanma şiddetlerinin ortalama değerlerine göre yapılan Pearson Correlation analizine göre; tümör evresi ile CYP1A1 boyanma şiddeti arasında istatistiksel olarak anlamlı, pozitif yönde zayıf bir ilişki saptanmıştır. ( $r=0,383$   $p=0,040$ ). Tümör evresi arttıkça CYP1A1 izoziminin ekspresyonun düzeyi artmıştır. Nitekim CYP1A1 izoziminin boyanma şiddeti (+3) en fazla olan altı hastanın tamamı da 4. tümör evresindedir. Ancak CYP1B1, GSTM1, GSTP1, GSTT1 izozim ekspresyon düzeyleri ile tümör evresi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. ( $p>0,005$ ) (Çizelge 3.23 )

**Çizelge 3.23** KHAK’li hastalarda CYP ve GST izozimlerinin tümör evresi ile karşılaştırılması

		CYP1A1	CYP1B1	GSTM	GSTP	GSTT
TUMOR_EVRE	Pearson Correlation	,383(*)	,311	,046	,150	,260
	Sig. (2-tailed)	,040	,101	,811	,436	,173
	N	29	29	29	29	29

\* Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

#### 4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2014 verilerine göre dünyada en sık görülen kanser türü olan akciğer kanseri ülkemizde de özellikle erkeklerde en fazla miktarda görülmektedir. Kardiyovasküler hastalıklar sebepli ölümlerden sonra ikinci sırada yer alan kanser; gelecek zamanlarda hastalığın görülme sıklığının artarak devam edeceğinin sinyallerini vermektedir. [1-4]

Ksenobiyotik denilen vücuda yabancı olan çeşitli ilaçlar, gıda eklentileri, çeşitli kimyasalların çoğu insan vücudunda metabolize olurlar. Biyotransformasyon denilen tüm bu kompleks olaylar sonucunda ksenobiyotiklerin toksisitesi azalıyor ya da ortadan kalkıyorsa bu olaya detoksifikasyon denir. Ksenobiyotik mekanizması sürecinde aktif metabolit oluşumunun artması ve detoksifikasyonun azalması sonucu toksik etkiler görülür ve DNA hasarı, doku hasarı, hücre yaşlanması ve kanser gibi hastalıklar oluşur. [2]

Kanser gelişiminde etkisi olan benzo(a)piren gibi polisiklik aromatik hidrokarbonlar, N-Metil-4-aminobenzen, 2-asetilaminofluren gibi aromatik aminler, nitrozaminler, çeşitli ilaçlar, aflatoksin B1 gibi organik bileşikler, arsenik, asbest, kadmiyum, krom gibi inorganik bileşikler kimyasal karsinojenler grubuna girer ki bunların dışında fiziksel karsinojenlere maruziyet ve genetik faktörlerin de etkisi ile hastalık oluşumu bir dizi endojen ve eksojen etkiler altında gerçekleşir.

Prokarsinojenlerin vücutta oluşturduğu toksik etkiler ksenobiyotik metabolizmasında görevli enzimler ile en aza indirgenir. Akciğer kanserininin oluşumunda da en önemli etken olan sigarada özellikle PAH ve nitrozaminlerin miktarının fazla bulunması bu kanser türünü önemli kılmaktadır. Prokarsinojenlerin ksenobiyotik metabolizmasındaki kanser oluşumundaki rollerini iyi araştırmak ve tartışmak gerekmektedir.

Faz I enzimlerinden CYP1A1 ve CYP1B1 organik maddelerin tam yanmamalarından oluşan sigara dumanında, kirli şehir havasında, iste, kömür ateşinde pişmiş ette, tütülenmiş ve kavrulmuş bazı besinlerde bulunan PAH'ları mutajenik ve

karsinojenik etkili metabolitlerine dönüştürürler. PAH'lardan biri olan benzo(a)pireni (BaP) güçlü karsinojenik metaboliti olan 7,8-dihidrodiol-9,10-epoksite (BPDE) dönüştürür. Reaksiyonlar sonucu oluşan ara metabolitler bir sonraki adım olan Faz II reaksiyonları sonucu GST izoenzimleri ile detoksifiye edilirler. [2]

CYP1A1 ve CYP1B1 izozimlerinin akciğer kanserindeki önemini gösteren çalışmalardan biri olan Anttila ve arkadaşlarının 1992 yılında yaptıkları çalışmada CYP1A1 ve CYP1B1 izozimlerinin normal dokularda negatif boyanma gösterdiğini fakat kanserli dokularda pozitif boyanma gösterdiğini ve bunun da PAH metabolizması ile ilgili olduğunu açıklamışlardır. [63] Bir başka çalışmada Spivack Simon ve arkadaşlarının 2001 yılında CYP1B1 izoenzimi ile ilgili yaptıkları çalışmalarında akciğerin normal ve tümörlü dokularında CYP1B1 ekspresyonunu karşılaştırmışlar ve tümörlü dokuda normal dokuya göre daha yüksek oranda ekspresyonun gerçekleştiğini göstermişlerdir. [71] Aynı çalışmada sigara içimi, cinsiyet ve akciğer kanseri tümör farklılıklarının CYP1B1 izoziminin ekspresyonu ile ilişkilendirememişlerdir. [71] Bir başka çalışmada da Spivack Simon ve arkadaşları 2003 yılında CYP1A1, CYP1B1, GSTM1, GSTM3, GSTP1, GSTT1 izoenzimlerinin tümörlü ve normal akciğer dokularındaki ekspresyonlarının birbirinden farklı olduğunu ve cinsiyet ile sigara kullanımının da bu farklılıkta etkisi olduğunu göstermişlerdir. [73] Sadeck ve arkadaşları ise 2013 yılındaki çalışmalarında CYP1A1 izoziminin sigara içen akciğer kanserli hastaların dokularında sigara içmeyen kontrol grubu dokularındakine göre daha yüksek eksprese olduğunu ve tümör evresi yükseldikçe enzimin aktivitesinin arttığını göstermişlerdir. [66]

Bir başka çalışmada 2010 yılında Oğuztüzün ve arkadaşları; sırasıyla GSTA1, GSTM4, GSTT1 ve GSTP1 izozimlerinin ekspresyonunun, KHDAK'li tümörlü dokularda normal dokulara oranla daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. [74] Kılıç ise çalışmasında KHDAK'li hastaların tümörlü ve normal dokularında CYP1B1 ve GSTP1 izozimlerinin ekspresyonlarını yüksek bulmuş ve CYP1A1, CYP2E1 ve GSTM1 izozimlerinin ise tümöral dokularda normal dokulara göre daha fazla eksprese olduklarını göstermiştir. [84]

Yapılan bu tez çalışmasında 29 KHAK'li hastaların tümörlü dokularında yapılan CYP1A1, CYP1B1, GSTM1, GSTP1, GSTT1 izozimlerinin immünohistokimyasal boyanması yapılarak izozimlerin ekspresyonları birbirleri ile ve hastaların klinik bilgileri ile karşılaştırılmıştır. Pozitiflik oranlarına bakılarak CYP1A1 izoziminin CYP1B1 izozimine göre daha fazla ekspresyon göstermesi istatistiksel olarak doğrulanmamıştır. ( $p=0,099>0,005$ ) CYP1A1 izoziminin GST izozimlerinin her üçünden de fazla eksprese olduğu istatistiksel olarak doğrulanmıştır. ( $p<0,05$ ) CYP1B1 izozimi GSTM1 ve GSTP1 izozimlerinden daha fazla eksprese olmuş ( $p<0,05$ ) ancak GSTT1 izozimi ile aralarında istatistiksel anlamlı bir ilişki kurulamamıştır. ( $p=0,299>0,05$ ) GSTT1 izozimi GSTP1 ve GSTM1 izozimlerinden daha fazla eksprese olduğu istatistiksel olarak doğrulanmış, ( $p<0,05$ ) GSTM1 ile GSTP1 izozimlerinin ekspresyonlarında ise istatistiksel anlamlı ilişki kurulamamıştır. ( $p=0,304>0,05$ ) 29 hastanın 4 tanesi hiç sigara kullanmamış (%13.8) ancak 25 hasta (%86.2) ise hastalığın teşhisi konuluncaya kadar sigara içmiştir. Sigara içen ve sigara içmeyen şeklinde ayırım yapılarak yapılan değerlendirme neticesinde sigara içimi ile CYP ve GST izozimlerinin ekspresyon düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. ( $p>0,005$ ) Buna sebep hasta sayısının azlığıdır. Sigara içimi ile PAH metabolizması arasındaki ilişki düşünülecek olursa literatürdeki çalışmalarla paralel olarak çalışmamızda da CYP izozimlerinin pozitiflikleri oldukça yüksek sonuç vermiştir. Ayrıca çalışmamızın KHAK'li hasta primer ve metastatik olarak gruplandığımız bölümünde görülmüştür ki metastatik tümörlü doku grubunda CYP izozimlerinin her ikisinde primer tümörlü doku grubuna göre daha fazla pozitiflik vermiştir. CYP enzimlerinin katalizlediği I.Faz reaksiyonları sonucu reaktif ara metabolitlerin artmasına neden olmaktadır. Normal hücrelerde II. Faz reaksiyonlarını katalizleyen GST izozimleri bu metabolitleri detoksifiye ederek vücuttan uzaklaştırır. Ancak çalışmamızda da görüldüğü gibi tümörlü hücrelerde GST izozimlerinin ekspresyonu oldukça düşük seviyededir. Metastatik tümörlü doku grubunda GST izozimlerinin ekspresyonu primer tümörlü doku grubuna oranla daha yüksek pozitiflik vermiştir. Tümör daha agresif ve yaygın hale geldikçe GST izozimlerinin ekspresyonu oranı artmıştır. Cinsiyet ayrımında da bu izozimlerin ekspresyon düzeyleri ile hastaların cinsiyetleri arasında anlamlı bir ilişki kurulamamıştır.

Bir başka çalışmada, 1996 yılında Fen Bai ve arkadaşları kemoteröpatik ilaç direçliliğinde GSTP izoziminin etkililiğini araştırmışlar ve KHDAK'li hastalarda GSTP ekspresyonunu anlamlı olarak yüksek bularak bu izozimin kemoterapi yanıt belirleyicisi olarak yararlı olabileceğini vurgulamışlardır. Ayrıca KHAK'li ve KHDAK'li hastaların dokularındaki GSTP izozim boyanmalarında da farklılıklar olduğunu göstermişlerdir.[86] Aynı doğrultuda Nakanishi ve arkadaşları 1996 yılında 54 KHDAK'li hastalarda kemoterapiye yanıt ile ilgili olarak yaptıkları çalışmalarında bu hastalardan alınan dokularda immünhistokimya ile boyama sonucu GSTP ekspresyonu pozitif bulunarak GSTP'nin kemoterapi direçliliğinde önemli bir risk faktörü olduğunu saptamışlardır. [87] Bu çalışmaların aksine Ünsal ve arkadaşları 2003 yılında, KHDAK'li ve KHAK'li hastalarda GSTP enziminin protein ekspresyonu ile cisplatin dirençliliği arasındaki ilişkiyi araştırdıkları çalışmalarında; ilaca yanıtla hasta gruplarında GSTP ekspresyonu arasında anlamlı ilişki bulamazlarken, KHDAK'da GSTP pozitifliğinin KHAK'ya oranla daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir.[76] Çalışmamızda GSTM1,GSTP1 ve GSTT1 izozimlerinin primer metastatik tümürlü dokulardaki ekspresyonlarının pozitiflik oranları sırasıyla %7,14, 0 ve %28,57 şeklinde çıkmıştır. Metastatik tümürlü dokularda ise sırasıyla %13,33, %6,66 ve %60 şeklinde ekspresyon pozitifliği vermiştir. Metastatik tümör dokularında yayılım alanı genişledikçe hastalığın metastatik evrelerinde kemoteropik ilaçların etkisi fazla olmayacaktır. GST'ler kanser ilaçlarının aktivitelerini inhibe ederek hücrede bu ilaçlara karşı direncin gelişmesine neden olmaktadır. GSTT1 izozimi diğer izozimlere göre daha fazla pozitiflik gösterdiğinden GSTT1 izoziminin kemoterapiye yanıtta ilaç dirençliliğinde önemli bir faktör olarak düşünülebilir. Ancak çalışmaya konu olan hasta grubumuzun sayısı yeterli olmadığından geniş kapsamlı çalışma grubu ile ilaç dirençliliği hakkında daha anlamlı bulgular elde edilebilir.

Çalışmamızdaki 29 KHAK'li hastanın yaş ortalaması 59,72 ( $\pm 8,746$ )'dir ve yaş ile CYP1A1 ve CYP1B1 ile GSTM ve GSTP izozimlerinin ekspresyon düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanamamıştır. ( $p > 0,005$ ) Yaş ile GSTT izoziminin ekspresyon düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı, negatif yönde orta düzeyde bir ilişki saptanmıştır. ( $r = -0,496$   $p = 0,006$ ) Yaşın ilerlemesi GSTT izoziminin ekspresyon düzeyi ile ters orantılıdır. Yaş ilerledikçe GSTT



izoziminin ekspresyonu azalmıştır. Sönmez B. Ve ark.(2012) yaptıkları retrospektif çalışmalarında yaygın evre hastalığında yaş ortalamasının sınırlı evre hastalığındakilere göre daha düşük olarak saptamışlar ve genç hastalarda hastalık yayılımının daha hızlı ve kötü prognozla birliktelik gösterdiğini vurgulamışlardır. [88] Bu çalışmadaki 29 KHAK'li hastanın 15'i metastatik grupta olup yaş ortalaması 57,47( $\pm$ 8,314); primer grupta olanlar ise 14 hasta olup ortalama yaş 62,14( $\pm$ 8,839)'tür. Çalışmamız literatürdeki çalışmalarla paralellik göstermiş olup genç hastalarda yayılımın daha hızlı olduğu saptanmıştır.

Sonuç olarak yapılan bu tez çalışmasında, bilindiği kadarıyla literatürde küçük hücreli akciğer kanserinde CYP1A1, CYP1B1, GSTP1, GSTM1 ve GSTT1 izozimlerinin immunohistokimyasal ekspresyonları ilk kez bir arada çalışılarak karşılaştırılmalarda bulunulmuştur. Ayrıca klinik bilgiler ile çalışılan izozimlerin ilişkilendirilmeye çalışılması sonucu hastalık ile prognostik faktörler hakkında bir izlenim sahibi olmamıza katkıda bulunulmuştur. Ancak çalışmada kullanılan vaka sayısı artırılarak daha aydınlatıcı verilere ulaşılabileceği düşünülmektedir.

Bu tez çalışması CYP1A1 izoziminin ekspresyon düzeyinin yüksek GST izozimlerinin ekspresyonlarının ise düşük düzeyde olması ise ksenobiyotik metabolizmasında anlatıldığı üzere KHAK'deki en önemli etken olan sigaradaki PAH 'ların aktivasyonunun artması ve detoksifikasyonun azalması sonucunda toksik etkilerden dolayı kanser oluşumunu arttırdığını desteklemektedir. Kemoteröpatik ilaçlara dirençlilikte I. Faz ve II. Faz reaksiyonlarının enzimlerinin yanında ilaç direncine yol açan yolların ayrıntılı bir biçimde belirleyecek çalışmaların birlikte yapılması gerekmektedir. Literatür verilerine göre bu izozimlerin substratı olan, özellikle platin ve alkilleyici ajan bazlı kanser ilaçlarının özellikle GSTT1 ve CYP1B1 izozimlerinin ekspresyonu yüksek olan KHAK'li hastalara verilirken verilmemesi hususunda klinik açıdan bir ön bilgi oluşturmaktadır.

## KAYNAKLAR

- [1] Dünya Sağlık Örgütü (WHO), Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı, Dünya Kanser Raporu 2008, Ed. P. Boyle, B. Levin, K. Dinshaw, M. Kasler, T. Ngoma, L.Pinillos Ashton, M. ve P.Zhao Lyon Cedex 08, Fransa 2008.
- [2] Vural N. 2005 Toksikoloji Ankara Üniversitesi Eczacılı Fak. Yayınları No:73
- [3] David S. Ettinger, Joseph Aisner, Changing Face of Small-Cell Lung Cancer:Real and Artifact Volume 24 ,Number 28 ,October 1 2006 Journal of Clinical Oncology
- [4] T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Kanser Daire Başkanlığı Türkiye Kanser İstatistikleri; Ocak 2014; Editörler: Murat Gültekin, Güledal Boztaş
- [5] Türkiye İstatistik Kurumu Haber Bülteni Sayı: 15847 16 Nisan 2013 10:00
- [6] Akkoçlu A., Öztürk C.Akciğer Kanseri Multidisipliner Yaklaşım.Toraks Kitapları.Ankara Bilimsel Tıp Yayınevi-1999
- [7] Spitz, M. R., Wei, Q., Dong, Q., Amos, C. I., & Wu, X. Genetic Susceptibility to Lung Cancer The Role of DNA Damage and Repair. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 12(8), 689-698, 2003.
- [8] Alberg AJ, Samet JM. Epidemiology of lung cancer. *Chest* 123:21-49, 2003.
- [9] Slatore, C. G., Littman, A. J., Au, D. H., Satia, J. A., & White, E. Long-term use of supplemental multivitamins, vitamin C, vitamin E, and folate does not reduce the risk of lung cancer. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 177(5), 524-530, 2008.

- [10] The Alpha-Tocopherol, Beta Carotene Cancer Prevention Study Group. The effect of vitamin E and beta carotene on the incidence of lung cancer and other cancers in male smokers. N Engl J Med 330:1029-1035, 1994.
- [11] Hennekens CH, Buring JE, Manson JE, Stampfer M, Rosner B, Cook NR, Belanger C, LaMotte F, Gaziano JM, Ridker PM, Willett W, Peto R. Lack of effect of long 39 term supplementation with beta carotene on the incidence of malignant neoplasms and cardiovascular disease. N Engl J Med 334:1145-1149, 1996.
- [12] Göksel T, Yıldız P, Altın S. Akciğer kanseri. Türk Toraks Derneği Beyaz Kitap; 55- 70, 2010.
- [13] Türkiye Asbest Kontrolü Stratejik Planı – Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu. Mart 2013.
- [14] World Health Organization. Histological typing of lung and pleural tumors. World Health Organization, Copenhagen, 1999.
- [15] Travis WD, Brambilla E, Müller-Hermelink HK, Harris CC, eds. World Health Organization Classification of Tumours, Pathology and Genetics of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart. IARC Pres, Lyon, 12/2004.
- [16] Op.Dr.Ömer Özgür Yıldız Göğüs Cerrahisi Uzmanı –Akciğer Kanseri [www.ozguromeryildiz.com](http://www.ozguromeryildiz.com) ( Erişim Tarihi : 14.12.2013)
- [17] Shepherd FA, Crowley J, Houtte PV, Et Al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: Proposals Regarding The Clinical Staging Of Small Cell Lung Cancer In The Forthcoming (Seventh) Edition Of The TNM Classification For Lung Cancer. J Thoraconcol; 2: 1067-77, 2007.

- [18] Akciğer Kanseri Tanı - Tedavi –Takip *Antakya Konsensus Raporu 2010* Prof. Dr. Adnan Aydın - Prof. Dr. Turhan Ece - Prof. Dr. Erkan Topuz. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd.Şti. ISBN: 978-975-420-777- 4 . 2010.
- [19] Türkiye’de Kanser Kontrolü-Kanserle Savaş Daire Başkanlığı/Ankara -Editör : Murat Tuncer Yardımcı Editörler: Nejat Özgül, Emire Olcayto, Murat Gültekin, ISBN: 978-975-590-300-2 Bakanlık Yayın Numarası: 777 Aralık 2009.
- [20] Principles & Practice of Lung Cancer by Harvey I. Pass (Editor), David P. Carbone (Editor), David H. Johnson (Editor) Publisher: Lippincott Williams & Wilkins, Apr 2010.
- [21] Frank C. Detterbeck, Daniel J. Boffa, MD; Lynn T. Tanoue, The New Lung Cancer Staging System, CHEST.; 136(1):260-271), July 2009.
- [22] Ramo`N Rami-Porta, David Ball, John Crowley, Dorothy J.Giroux, James Jett, William D. Travis, MD, Masahiro Tsuboi, MD, Eric Vallie`Res, And Peter Goldstraw, The IASLC Lung Cancer Staging Project: Proposals For The Revision Of The T Descriptors İn The Forthcoming (Seventh) Edition Of The TNM Classification For Lung Cancer, Thorac Oncol; 2: 593-602, 2007.
- [23] Yaman M. Akciger Kanseri. In: Erk M, ed. Göğüs Hastalıkları 11. Cilt, İstanbul: Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayın No:237, 753 805, 2001.
- [24] Kemal Bakır. Tütün ve Kanser Patogenezi. Tütün ve Tütün Kontrolü. Toraks Kitapları • Sayı 10 • Ocak 2010.
- [25] Lindros KO, Badger T, Ronis M, et al. Phenethyl isothiocyanate, a new dietary liver aldehyde dehydrogenase inhibitor. J Pharmacol Exp Ther; 275(1): 79-83, 1995.

- [26] P.B. Danielson; The Cytochrome P450 Superfamily: Biochemistry, Evolution and Drug Metabolism in Humans; *Current Drug Metabolism*; 3, 561-597, 2002.
- [27] Nelson et al. *DNA & Cell Biology* 12:1-51, 1993.
- [28] Nelson DR. *Arch Biochem Biophys* 369:1-10, 1999.
- [29] Nelson D. Cytochromes P450 in humans. Retrieved May 9, 2005.
- [30] Raunio H, Pasanen M, Mäenpää J, Hakkola J & Pelkonen O. ; Expression of extrahepatic cytochrome P450 in humans. In: Pacifici GM & Fracchia GN (eds) *Advances in Drug Metabolism in Man*: 234-287. European Commission, Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg, 1995.
- [31] Yüksel N. ; Sitokrom P450 Enzim Sistemi ve İlaç Etkileşmeleri; *Klinik Psikiyatri*; Ek 1: 5-16, 2001.
- [32] Schmidt JV & Bradfield CA. ; Ah receptor signalling pathways. *Annu Rev Cell Dev Biol* 12: 55-89, 1996.
- [33] Willey JC, Coy E, Brolly C, Utell MJ, Frampton MW, Hammersley J, Thilly WG, Olson D & Cairns K. ; Xenobiotic metabolism gene expression in human bronchial epithelial and alveolar macrophage cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 14: 262-271,1996.
- [34] Shimada T, Hayes CL, Yamazaki H, Amin S, Hecht SS, Guengerich FP & Sutter TR. ; Activation of chemically diverse procarcinogens by human cytochrome P-450 1B1. *Cancer Res* 56:2979-2984, 1996.

- [35] Anttila S, Hietanen E, Vainio H, Camus A-M, Gelboin HV, Park SS, Heikkilä L, Karjalainen A & Bartsch H. ; Smoking and peripheral type of cancer are related to high levels of pulmonary cytochrome P450IA in lung cancer patients. *Int J Cancer* 47: 681-685, 1991.
- [36] Mclemore T.L., Adelberg, S., Liu, M.C., McMahon, N.A., Yu, S.J., Hubbard, W.C., Czerwinski, M., Wood, T.G., Storeng, R., Lubet, R.A., et al. Expression of CYP1A1 gene in patients with lung cancer: evidence for cigarette smoke-induced gene expression in normal lung tissue and for altered gene regulation in primary pulmonary carcinomas. *J. Natl. Cancer Inst.* 82:1333-1339, 1990.
- [37] Marchand A. , Barouki R. , Garlatti M. Regulation of NADPH : quinoneoxiductase 1 gene expression by CYP1A1 activity. *Mol Pharmacol.* 65(4):1029-37, 2004.
- [38] Murray G.I., Taylor M.C., McFadyen M.C.E., McKay J.A., Greenlee W.F., Burke M.D., Melvin W.T., Tumor specific expression of cytochrome P450 CYP1B1. *Cancer Res.* 57; 3026-3031, 1997.
- [39] Orhan H. , Şahin G. ; Clinical and Toxicological Importance of Glutathione S-Transferases. *T Klin Tıp Bilimleri*, 15-1995.
- [40] Lucente G, Luisi G, Pinnen F. Design and Synthesis of Glutathione Analogues. *Il Farmaco*, 53:721-735, 1998.
- [41] Sies H. Glutathione and Its Role in Cellular Functions. *Free Radical Biology and Medicine.* ; 27:916-921,1999.
- [42] Cnubben N.H.P, Rietjens I.M.C.M, Wortelboer H, Zanden J., Bladeren P.J. The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense. *Envorimental Toxicology and Pharmacology*; 10:141-152, 2001
- [43] Whalen R, Boyer T.D. Human Glutathione S-Transferases. *Sem Liver Dis*, Vol.18, No.4, 1998.

- [44] Lomaestro BM, Malone M. Glutathione in health and disease: Pharmacodierapeutic Issues. *Annals Pharmacother*; 29: 1263-1273, 1995.
- [45] Hayes John D. , Pulforf David J. ; The Glutathione S-Transferase Supergene Family; *Critical Reviews in Biochernisty and Molecular Biology*, 30(6):445-600, 1995.
- [46] Wilce, M Board, P.,Feil,S Parker, ; Crystal Structure of A Theta Class Glutathione Transferase, *The EMBO Journal*,14:2133-2143, 1995.
- [47] Landi S. Mammalian Class Thet GST and Differential Susuceptibility to Carcinogens: a Review, *Mutat Res*, 463(3):247-283, 2000.
- [48] Whalen R, Boyer T.D. Human Glutathione S-Transferases. *Sem Liver Dis*, Vol.18, No.4, 1998.
- [49] Hayes J.D ,Flanagan J.U., Jowsey, I.R.Glutathione Transferases,*Annu. Rev.Pharmacol.Toxicol.*, 45:51-88, 2005.
- [50] Armstrong, R.N., Structure, catalytic mechanism, and evolution of the glutathione transferases. *Chemical Research in Toxicology*, 10: 2-18, 1997.
- [51] Whalen R, Boyer T.D. Human Glutathione S-Transferases. *Sem Liver Dis*, Vol.18, No.4, 1998.
- [52] Oakley A. Glutathione transferases: a structural perspective. *Drug Metab. Rev.* 43 (2): 138–51. doi:10.3109/03602532.2011.558093. PMID 21428697, May 2011.

- [53] Strange R.C., Fyer A.A., Matteredo B., Zhao L., Broome J., Campfle 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.
- [54] Takahashi Y., Champbel E.A., Hirida Y., Takayama T., Listowsky I., The basis of differentiating among the multiple human mu-glutathione S-transferase and molecular cloning of brain GST M5. *J. Biol. Chem.* 268; 8893, 1993.
- [55] Davis, R.J.: Signal transduction by the JNK group of MAP kinases, *Cell*, 103, 239-252, 2000.
- [56] 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.
- [57] Eaton, D.L. And Bammler, T.K. Concise review of glutathione S-transferase and their significance to toxicology. *Toxicological sciences*, 49: 156-164, 1999.
- [58] Board PG, Weber GC, Coggan M, Isolation of a cDNA clone and localization of the human glutathione S-transferase 3 genes to chromosome bands 11q3 and 12q13-14. *Ann Hum Genet* ; 53: 205-213, 1989.
- [59] Ali-Osman F, Akande O, Antoun G, Mao JX, Buolamwini J. Molecular cloning, characterization, and expression in *Escherichia coli* of full-length cDNAs of three human glutathione S-transferase Pi gene variants. *J Biol Chem* ; 272: 10004 -10012, 1997.
- [60] Zimniak P, Nanduri B, Piłkuła S, Bandorowicz-Piłkuła J, Singhal SS, Srivastava SK et al. Naturally occurring human glutathione S-transferase GSTP1-1 isoforms with isoleucine and valine in position 104 differ in enzymatic properties. *Eur J Biochem* ; 224: 893-899, 1994.



- [61] Kayaalp S.O. Tıbbi farmakoloji; Hacettepe Taş Kitapçılık Ltd.Şti, 10.Baskı, 2002.
- [62] Taningher M, Malacarne D, Izzotti A, Ugolini D, Parodi S. Drug metabolism polymorphisms as modulators of cancer susceptibility. *Mutat Res.* ;436: 227-1999.
- [63] Tozkoparan B.,Aytaç P.S. Kanser Kemoterapisinde Terapötik Hedef Olarak Glutasyon S-Transferazlar. *Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Dergisi*, Cilt 27/ Sayı 2/ 139-164, Temmuz 2007.
- [64] Anttila S.Immunohistochemical Detection of Pulmonary Cytochrome P4501A and Metabolic Activities Associated with P4501A1 and P4501A2 Isozymes in Lung Cancer Patients Enevironmental Health Perspectives Vol. 98, pp. 1 79-182, 1992.
- [65] Valle Nazar-Stewart .A population-based study of glutathione S-transferase M1, T1 and P1 genotypes and risk for lung cancer. *Lung Cancer*; 40, 247-258, 2003.
- [66] Nabil El Sadeck. Cytochrome P450-isoenzyme 1A1 in susceptibility to tobacco-related lung cancer. *Asian Cardiovascular & Thoracic Annals* 0(0) 1–4; The Author(s) 2013.
- [67] Ahmet O. Ada. Association between GSTM1, GSTT1, and GSTP1 polymorphisms and lung cancer risk in a Turkish population. 30 December 2011 \_ Springer Science+Business Media B.V. 2011.
- [68] Kyriaki Pliarchopoulou, Gerasimos Voutsinas, George Papaxoinis, Katherine Fkondra, Konstantina Kostaki, Paraskevi Roussou, Konstantinos Syrigos and Dimitrios Pectasides. Correlation of CYP1A1, GSTP1 and GSTM1 gene polymorphisms and lung cancer risk among smokers. *Oncology Letters* 3: 1301-1306, 2012.

- [69] Kyoung-Mu Lee, Daehee Kang, Margie L. Clapper, et al. CYP1A1, GSTM1, and GSTT1 Polymorphisms, Smoking, and Lung Cancer Risk in a Pooled Analysis among Asian Populations. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*; 17:1120-1126,2008.
- [70] Senqing Chen, Kaixian Xue, Lin Xu, Guojian Ma, Jianzhong Wu. Polymorphisms of the CYP1A1 and GSTM1 genes in relation to individual susceptibility to lung carcinoma in Chinese population. *Mutation Research Genomics* 458; 41–47, 2001.
- [71] Simon D. Spivack, Gregory J. Hurteau, Andrew A. Reilly, Kenneth M. Aldous, Xinxin Ding and Laurence S. Kaminsky. CYP1B1 Expression In Human Lung. *Drug metabolism and disposition* Vol. 29, No. 6 DMD 29:916–922, 2001.
- [72] Akbaş E., Seyrek E., Erdoğan N. E., Şenli H., Helvacı İ. ; Glutathione S-transferase P1 geni ekson-6 (ala114val) polimorfizminin akciğer kanseri etyolojisindeki olası etkileri. *Dicle Tıp Dergisi* ; 39 (3): 344-349, 2012.
- [73] Simon D. Spivack, Gregory J. Hurteau, Michael J. Fasco, and Laurence S. Kaminsky. Phase I and II Carcinogen Metabolism Gene Expression in Human Lung Tissue and Tumors *Vol. 9, 6002–6011, December 1, Clinical Cancer Research*, 2003.
- [74] Oguztüzün S., Aydın M., Demirağ F., Yazıcı Ü., Özhavzalı M., Kılıç M., Işcan M. ; The expression of GST isoenzymes and p53 in non-small cell lung cancer .*Folia histochemica ET CYTOBIOLOGICA* Vol. 48, No. 1, pp. 122-127, 2010.
- [75] Demir A., Demir İ., Altın S., Köksal V., Çetinçelik Ü., Dinçer S.İ., GSTM1 Gene Polymorphisms on Lung Cancer Development in the Turkish Population. *Turkish Respiratory Journal*; 6:(3):131-134, 2005.

- [76] Ünsal M, Akpolat I, Kandemir B, Glutathione-S transferase- $\pi$  expression in non small cell lung cancer in the assessment of response to chemotherapy, Saudi Med J. 24 (5): 493-498, 2003.
- [77] Fen Bai . Yoichi Nakanishi, Masayuki Kawasaki, Koichi Takayama, Jun Yatsunami, Xin Hai Pei, Nobuko Tsuruta, Kentaro Wakamatsu, Nobuyuki Hara. Immunohistochemical Expression of Glutathione S-Transferase-n Can Predict Chemotherapy Response in Patients with Nonsmall Cell Lung Carcinoma.American CancerSociety ;78:416-21, 1996.
- [78] Nakanishi Y · Kawasaki M· Bai F. · Takayama K· Pei X.-H· Takano K· Inoue K · Osaki S. Hara N.Kiyohara C . Expression of p53 and Glutathione S-Transferase- $\pi$  Relates to Clinical Drug Resistance in Non-Small Cell Lung Cancer Cancer 1996; 78416-21. 6 American Cancer Society 1996.
- [79] Sørensen M., Raaschou-Nielsen O., Brasch C.A., Tjønnelanda A., Overvad K., Autrup H.; Interactions between *GSTM1*, *GSTT1* and *GSTP1* polymorphisms and smoking and intake of fruit and vegetables in relation to lung cancer.Lung Cancer. 55, 137—144, 2007.
- [80] Liu D., Wang F., Wang Q., Guo X., Xu H., Wang W., Zhang L.; Association of glutathione S-transferase M1 polymorphisms and lung cancer risk in a Chinese population. Clinica Chimica Acta. 414, 188–190, 2012.
- [81] Sarah J. Lewis, Nicola M. Cherry, Robert McL. Niven, Phillip V. Barberb, Andrew C. Poveya. *GSTM1*, *GSTT1* and *GSTP1* polymorphisms and lung cancer risk. Cancer Letters 180, 165–171, 2002.

- [82] Hung R. J., Boffetta P., Brockmoller J., Butkiewicz D., Cascorbi I., Clapper M., Garte S., Haugen A., Hirvonen A., Anttila S., Kalina I., Marchand L., London S.J., Rannug A., Romkes M., Salagovic J., Schoket B., Gaspari L., Taioli E.; CYP1A1 and GSTM1 genetic polymorphisms and lung cancer risk in Caucasian non-smokers: a pooled analysis: *Carcinogenesis* vol.24 no.5 pp.875±882, 2003.
- [83] Demirkan A., Vural B., Üstüner Z., Uygun K., Açıkalin B.Ö., Derin D., Saip P., Özbek U.; CYP1A1, GSTM1 and NQO1 gene polymorphisms: Genetic risk factors for small cell lung cancer. *Turkish Journal of Cancer* 171 Volume 35, No.4, 2005.
- [84] H. Dean Hosgood, Sonja I. Berndt, Qing Lan. GST genotypes and lung cancer susceptibility in Asian populations with indoor air pollution exposures: A meta-analysis. National Cancer Institute, Division of Cancer Epidemiology and Genetics, Occupational and Environmental Epidemiology Branch, 6120 Executive Blvd., EPS 8118, MCS 7240, Bethesda, MD 20892-7240, United States, 2007.
- [85] Maggie M. Ramzy, Mohe El-Din M. Solliman, Hany A. Abdel-Hafiz, Randa Salah. Genetic polymorphism of GSTM1 and GSTP1 in lung cancer in Egypt *International Journal of Collaborative Research on Internal Medicine & Public Health* Vol. 3 No. 1, January 2011.
- [86] Murat Kılıç; Küçük Hücreli Dışı Akciğer Karsinomunda Sitokrom P450 ve Glutasyon S Transferaz İzozimlerinin Gen ve Protein Ekspresyonlarının İncelenmesi. Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Temmuz 2013.
- [87] Valle Nazar-Stewart , Thomas L. Vaughan , Patricia Stapleton, Jason Van Loo, Berta Nicol-Blades , David L. Eaton . A population-based study of glutathione S-transferase M1, T1 and P1 genotypes and risk for lung cancer . *Lung Cancer* 40 (2003) 247\_/258

- [88] Sönmez, B., Ay, B., Eldemir, Y. Ö., & Altınbaş, M.; Küçük hücreli akciğer karsinomu olgularının demografik ve diğer özellikleri: Retrospektif analiz, tek merkez çalışması. *Turkish Journal of Oncology/Türk Onkoloji Dergisi*, 27(3), 2012.
- [89] Serdar Bilgen; Akciğer Kanserinde Metabolik (CYP1) Polimorfizminin İlaç Rezistansındaki Rolü. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü-Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi 2008.