



T.C.

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TÜKÜRÜK BEZİ TÜMÖRLERİNİN OLUŞUMUNDA
MOLEKÜLER BELİRTEÇLERİN VE GLUTATYON S-
TRANSFERAZ İZOENZİMLERİNİN ROLÜNÜN
ARAŞTIRILMASI**

Muharrem ATLI

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Sema ÇETİN

KIRIKKALE- 2022



T.C.
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TÜKÜRÜK BEZİ TÜMÖRLERİNİN OLUŞUMUNDA
MOLEKÜLER BELİRTEÇLERİN VE GLUTATYON S-
TRANSFERAZ İZOENZİMLERİNİN ROLÜNÜN
ARAŞTIRILMASI**

Muharrem ATLI
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Sema ÇETİN

KIRIKKALE- 2022

Muharrem ATLI tarafından hazırlanan “TÜKÜRÜK BEZİ TÜMÖRLERİNİN OLUŞUMUNDA MOLEKÜLER BELİRTEÇLERİN VE GLUTATYON S-TRANSFERAZ İZOENZİMLERİNİN ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ / OY ÇOKLUĞU ile Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof.Dr. Sema ÇETİN

Biyoloji, Kırıkkale Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum

İmza.....

İkinci Danışman: Prof. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN

Biyoloji, Kırıkkale Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum

İmza.....

Başkan: Prof. Dr. Reyhan ÇOLAK

Biyoloji, Ankara Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum

İmza.....

Üye: Prof. Dr. Nazife YİĞİT KAYHAN

Biyoloji, Kırıkkale Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum.

İmza.....

Üye: Prof. Dr. Nursel GÜL

Biyoloji, Ankara Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum

İmza.....

Üye: Prof. Dr. Tülay ÇOBAN

Farmasötik Toksikoloji, Ankara Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum

İmza.....

Tez Savunma Tarihi/...../.....

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Doktora Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

Prof. Dr. Recep ÇALIN

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

CANIM AİLEM'E İTAFEN



ETİK BEYANI

Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Muharrem ATLI
23/06/2022

ÖZET

TÜKÜRÜK BEZİ TÜMÖRLERİNİN OLUŞUMUNDA MOLEKÜLER BELİRTEÇLERİN VE GLUTATYON S-TRANSFERAZ İZOENZİMLERİNİN ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi

Danışman: Prof. Dr. Sema ÇETİN

Ortak Danışman: Prof. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN

Haziran 2022, 106 sayfa

Bu çalışmaya Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Kartal Şehir Hastanesi Patoloji Kliniğinde 2010 ve 2020 yılları arasında pleomorfik adenom, adenoid kistik karsinom ve mukoepidermoid karsinom tanısı almış 61 hasta dahil edildi. Hastaların demografik verileri ile bcl-2, kaspaz-3 ve GSTP_i protein ekspresyonu immünohistokimyasal yöntemle incelendi ve karşılaştırıldı. Pleomorfik adenom tanılı 26 hastada GST izoenzimlerinden GSTA1 (alfa), GSTS1 (sigma), GSTT1 (teta), GSTM1 (mu), GSTO1 (omega), GSTK1 (kappa) protein ekspresyonları immünohistokimyasal yöntemle incelendi ve hastaların demografik verileri ile karşılaştırıldı.

Bcl-2 boyanma yoğunluğu pleomorfik adenom tümör dokularına kıyasla adenoid kistik karsinom ve mukoepidermoid karsinom tümör dokuları arasında belirgin bir şekilde yüksek bulundu. Bcl-2 ekspresyonu ile hastaların demografik verileri kıyaslandığında ortalama tümör çapı ile hastaların bcl-2 ekspresyonu arasında anlamlı farklılık tespit edildi ($p=0.045$). Kaspaz-3 protein ekspresyonu ile benign ve malign tümörlü hastaların demografik verileri arasında anlamlı bir farklılık bulunamadı. GSTP_i boyanma yoğunluğuna göre en yoğun boyanma mukoepidermoid karsinom tümör dokularında görüldü. GSTP_i ekspresyonu ile hastaların demografik verileri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamadı ($p>0.05$).

Pleomorfik adenom tanısı almış 26 hastada, tümör dokuları ile tümöre komşu normal dokularda GSTA1 (alfa), GSTS1 (sigma), GSTT1 (teta), GSTM1 (mu), GSTO1 (omega), GSTK1 (kappa) protein ekspresyonları immünohistokimyasal yöntemle incelendiğinde; GSTA1 ve GSK1 protein ekspresyonu tümörlü dokulara kıyasla

normal dokuda ($p<0.05$), GSTO1 ve GSTM1 protein ekspresyonu ise normal dokuya kıyasla tümörlü dokularda daha yüksek bulundu ($p<0.05$).

Çalışmamız sonucunda benign tümörlere kıyasla malign tümörlerde daha güçlü bcl-2 boyanma yoğunluğu görüldü. Ortalama tümör çapı ile bcl-2 ekspresyonu karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulundu.

Anahtar Kelimeler: Tükürük bezi tümörleri, GST, Kaspaz-3, Bcl-2



ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE ROLE OF MOLECULAR MARKERS AND GLUTATHIONE S-TRANSFERASE ISOENZYMES IN THE DEVELOPMENT OF SALIVARY GLAND TUMORS

Kırıkkale University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology, PhD. Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Sema ÇETİN

Co-Supervisor: Prof.Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN

Haziran 2022, 106 pages

In this study, were included 61 patients diagnosed with pleomorphic adenoma, adenoid cystic carcinoma, and mucoepidermoid carcinoma in the Pathology Clinic of the University of Health Sciences, Kartal City Hospital between 2010 and 2020. Demographic data of the patients and bcl-2, caspase-3, and GSTPi protein expression was analyzed and compared by immunohistochemical method. Protein expressions of GST isoenzymes GSTA1 (alpha), GSTS1 (sigma), GSTT1 (theta), GSTM1 (mu), GSTO1 (omega), GSTK1 (kappa) in 26 patients with a diagnosis of pleomorphic adenoma were analyzed by immunohistochemical method and compared with the demographic data of the patients.

Bcl-2 staining intensity was significantly higher among adenoid cystic carcinoma and mucoepidermoid carcinoma tumor tissues compared to pleomorphic adenoma. When the bcl-2 expression was compared with the demographic data of the patients, a significant difference was found between the mean tumor diameter and the bcl-2 expression of the patients ($p=0.045$). There was no significant difference between caspase-3 protein expression and demographic data of patients with benign and malignant tumors. According to the GSTPi staining intensity, the most intense staining was seen in mucoepidermoid carcinoma tumor tissues. There was no statistically significant difference between GSTPi expression and demographic data of the patients ($p>0.05$).

When the GSTA1 (alpha), GSTS1 (sigma), GSTT1 (theta), GSTM1 (mu), GSTO1 (omega), and GSTK1 (kappa) protein expressions in tumor tissues and normal tissues adjacent to the tumor in 26 patients diagnosed with pleomorphic adenoma were examined by immunohistochemical method; GSTA1 and GSTK1 protein expression was found higher in normal tissues than tumor tissue ($p < 0.05$). GSTO1 and GSTM1 protein expression were higher in tumor tissues than in normal tissue ($p < 0.05$).

As a result of our thesis study, bcl-2 staining intensity was observed to be higher in malignant tumors than benign tumors. When the mean tumor diameter and bcl-2 expression were compared, we found a significant difference between the mean tumor diameter and bcl-2 expression.

Keywords: Salivary glands tumors, GST, Caspase-3, Bcl-2



TEŞEKKÜR

Bu tezin hazırlanmasında, ortaya çıkmasında ve doktora öğrenimim boyunca bilgi ve birikiminin yanı sıra manevi desteğini benden esirgemeyen değerli danışman hocalarım Sayın Prof. Dr. Sema ÇETİN ve Sayın Prof. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN'e teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmamın deneysel kısmında dokuların elde edilmesinde ve immünohistokimyasal boyama sonuçlarının değerlendirilmesinde bana yardımcı olan Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Kartal Dr. Lütfi Kırdar Şehir Hastanesi, Patoloji Uzmanı Sayın Doç. Dr. Kayhan BAŞAK'a teşekkürlerimi sunarım. Çalışmamın istatistik kısmının yapılmasında desteğini esirgemeyen Gazi Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi İstatistik Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Filiz KARDİYEN'e teşekkürlerimi sunarım. Doktora yapamam konusunda beni teşvik eden Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Üçler KISA'ya teşekkürlerimi sunarım. Tezimin deneylerinin yapılmasında birlikte çalıştığım arkadaşlarım Nurdan GÜRBÜZ ve Pınar KAYGIN'a teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca tez çalışmam boyunca sağladıkları imkanlardan dolayı Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Laboratuvarları Müdürlüğü'ne teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmam boyunca hep yanımda olan eşim Güldal ATLI'ya ve çocuklarım Eliz Ela ATLI ve Emir Tuna ATLI'ya teşekkürlerimi iletmek isterim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiv
SİMGELER DİZİNİ	xvi
KISALTMALAR DİZİNİ	xvi
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
1.1. Genel Bilgiler	4
1.2. Tükürük Bezi Embriyolojisi.....	6
1.3. Tükürük Bezi Tipleri.....	7
1.3.1. Parotis Bezi	7
1.3.2. Submandibular Bez	7
1.3.3. Sublingual Bez	8
1.3.4. Minör Tükürük Bezleri.....	8
1.4. Tükürük Bezleri Epidemiyolojisi	9
1.5. Tükürük Bezlerinin Etiyolojisi.....	10
1.6. Dünya Sağlık Örgütü Verilerine Göre Tümörlerin Sınıflandırılması.....	11
1.7. Tükürük Bezi Tümörlerinin Derecelendirilmesi.....	12
1.8. Tükürük Bezi Tümörlerinin Evrenmesi	14

1.9. Tükürük Bezi Tümörlerinin Moleküler Mekanizması	15
1.9.1. Moleküller Belirteçler	17
1.9.1.1. P53	17
1.9.1.2. Bcl-2	18
1.9.1.3. Ki67 (MIB1).....	18
1.9.1.4. Her2/Neu (Cerb-B2).....	19
1.9.1.5. Kaspaz-3	19
1.9.1.6. CD44.....	20
1.9.1.7. P27 (KIP1).....	21
1.10. Tükürük Bezi Tümör Tipleri.....	22
1.10.1. Mukoepidermoid Karsinoma.....	22
1.10.2. Adenoid Kistik Karsinom.....	24
1.10.3. Pleomorfik Adenoma (Benign Mikst Tümör).....	25
1.11. Ksenobiyotiklerin Detoksifikasyon Mekanizması	26
1.11.1. Sitokrom P450 (CYP450, Faz I Enzimleri).....	26
1.11.2. Glutasyon	27
1.11.3. Glutasyon S-Transferazlar (Faz II Enzimleri)	28
1.11.4. Glutasyon S-Transferazların Yapısı ve Fonksiyonları.....	30
1.11.5. Glutasyon S-Transferazların Sınıflandırılması	32
1.11.6. Glutasyon S-Transferaz Ailesi.....	32
1.11.6.1. Glutasyon S-Transferaz Omega Sınıfı	32
1.11.6.2. Glutasyon S-Transferaz Pi Sınıfı (GSTPi).....	33
1.11.6.3. Glutasyon S-Transferaz Alfa Sınıfı	33
1.11.6.4. Glutasyon S-Transferaz Mu Sınıfı	34
1.11.6.5. Glutasyon S-Transferaz Teta Sınıfı	34
1.11.6.6. Glutasyon S-Transferaz Zeta sınıfı	35
1.11.6.7. Glutasyon S-Transferaz Sigma Sınıfı	35

1.11.6.8. Glutasyon S-Transferaz Kappa Sınıfı	36
1.11.7. Glutasyon S-Transferazların Substratları.....	36
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	39
2.1. Kullanılan Malzemeler.....	39
2.1.1. Kullanılan Laboratuvar Cihaz ve Malzemeleri	39
2.1.2. Kullanılan Kitler ve Antikorlar	39
2.2. Materyal	41
2.2.1. Hasta Dokularının Toplanması ve Klinik Bilgiler	41
2.3. Yöntem.....	43
2.3.1. İmmunohistokimyasal Boyama Yöntemi.....	43
2.3.2. İstatistiksel Analiz Yöntemleri.....	44
3. BULGULAR.....	45
4. TARTIŞMA ve SONUÇ	59
KAYNAKLAR	69
ÖZGEÇMİŞ.....	85

ÇİZELGELER DİZİNİ

ÇİZELGE	Sayfa
Çizelge 1.1. Tükürük bezi tümörlerinin sınıflandırılması [27]	11
Çizelge 1.2. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre malign tükürük bezlerinin risk sınıflandırılması [42].....	13
Çizelge 1.3. TNM evrelemesi [44].....	14
Çizelge 1.4. Tükürük bezi evre grupları [44].....	15
Çizelge 1.5. Mukoepidermoid tümörleri sınıflandırmada kullanılan histopatolojik özellikler, puan değerleri ve skorları [89].....	23
Çizelge 2.1. Adenoid kistik karsinom, mukoepidermoid karsinom ve pleomorfik adenomalı hastaların klinik ve demografik verileri	41
Çizelge 2.2. Adenoid kistik karsinom, mukoepidermoid karsinom ve pleomorfik adenomalı hastaların yaş ve tümör boyutu verileri	42
Çizelge 2.3. Pleomorfik adenomalı hastaların klinik ve demografik verileri	43
Çizelge 3.1. Adenoid kistik karsinom, mukoepidermoid karsinom ve pleomorfik adenom tümör tiplerinde bcl-2, kaspaz-3 ve GSTP1 ekspresyon frekans veyüzdeleri.....	45
Çizelge 3.2. Bcl-2, kaspaz-3 ve GST Pi ekspresyon skorlarının cinsiyete göre karşılaştırılması	46
Çizelge 3.3. Bcl-2, kaspaz-3 ve GST Pi protein ekspresyonu ile yaş ve tümör boyutu arasındaki ilişki (Spearman's rho)	46
Çizelge 3.4. Adenoid kistik karsinom, mukoepidermoid karsinom ve pleomorfik adenoma tümör dokularında bcl-2 ekspresyon yoğunluğu	47

Çizelge 3.5. Adenoid kistik karsinom, mukoepidermoid karsinom ve pleomorfik adenoma tümör dokularında kaspaz-3 ekspresyon yoğunluğu	47
Çizelge 3.6. Adenoid kistik karsinom, mukoepidermoid karsinom ve pleomorfik adenoma tümör dokularında GST P1 ekspresyon yoğunluğu.....	48
Çizelge 3.7. Adenoid kistik karsinom, mukoepidermoid karsinom ve pleomorfik adenoma tümör gruplarında bcl-2, kaspaz-3 ve GSTP1 ekspresyonlarının skor ortalamaları (\pm st. sapma).....	48
Çizelge 3.8 Adenoid kistik karsinom, mukoepidermoid karsinom ve pleomorfik adenoma tümör dokularında bcl-2, kaspaz-3 ve GST Pi ekspresyon skorları arasındaki ilişki (Spearman's rho)	50
Çizelge 3.9. Normal ve pleomorfik adenomalı tümör dokusunda GST izoenzimlerinin ekspresyonlarının yaş, cinsiyet, ortalama tümör çapı (MTD), tümör lokalizasyonuna göre ilişkisi.....	53
Çizelge 3.10. Normal ve pleomorfik adenom tümör dokusunda GST skorları arasındaki ilişki (Spearman's rho)	58

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL	Sayfa
Şekil 1.1. Gelişmiş bir tükürük bezinin şematik görünümü [12].	6
Şekil 1.2. Majör tükürük bezlerinin anatomik görünümü [20]	9
Şekil 1.3. Glutasyon'nun kimyasal yapısı [124]	28
Şekil 1.4. Karsinojenlerin metabolizmasında Faz-I ve Faz-II detoksifikasyon enzimleri [126]	29
Şekil 1.5. Glutasyon S-Transferaz Pi-1 yapısı (GSTP1) [135]	31
Şekil 3.1. Pleomorfik adenom, mukoepidermoid karsinom ve adenoid kistik karsinom tümör tiplerinde bcl-2, kaspaz-3 ve GSTP1 ortalama ekspresyon skorları	49
Şekil 3.2. Adenoid kistik karsinom olgusunda bcl-2 ile tümörün boyanması skor 3+ (x200)	50
Şekil 3.3. Mukoepidermoid karsinom olgusunda bcl-2 ile tümörün boyanması skor 3+ (x200)	51
Şekil 3.4. Adenoid kistik karsinom olgusunda kaspaz-3 ile tümörün boyanması skor 3+ (x400)	51
Şekil 3.5 Mukoepidermoid karsinom olgusunda kaspaz-3 ile tümörün boyanması skor 3+ (x400)	52
Şekil 3.6 Adenoid kistik karsinom olgusunda GSTP1 ile tümörün boyanması skor 3+ (x400)	52
Şekil 3.7. Mukoepidermoid karsinom olgusunda GSTP1 ile tümörün boyanması skor+2 (x200)	53
Şekil 3.8. Normal ve pleomorfik adenom tümör dokularında GST izoenzimlerinin ortalama ekspresyon skorları	55
Şekil 3.9. A) Normal tükürük bezi dokusunda GSTA1 boyanması skor 1+ (x200). B) Pleomorfik adenoma olgusunda GSTA1 boyanması skor 0 (x200)	55

Şekil 3.10 A) Normal tükürük bezi dokusunda GSTK1 boyanması skor 3+ (x 200).

B) Pleomorfik adenom olgusunda GSTK1 boyanması skor 3+ (x 200) ... 56

Şekil 3.11. A) Normal tükürük bezi dokusunda GSTM1 boyanması skor 3+ (x 200).

B) Pleomorfik adenom olgusunda GSTM1 boyanması skor 3+ (x 200) ... 56



SİMGELER DİZİNİ

μ	Mikron
°C	Santigrat
cm	Santimetre

KISALTMALAR DİZİNİ

AFIP	Silahlı kuvvetler patoloji enstitüsü
AJCC	Amerikan kanser ortak komitesi
AKK	Adenoid kistik karsinom
CDK	Siklin bağımlı kinaz
CDKI	Sikline bağımlı kinaz İnhibitörü
cDNA	Komplementer deoksiribo nükleik asit
CYP	Sitokrom p450
DDT	Dikloro difenil trikloroetan
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
ESCC	Özefagus skuamoz hücreli kanser
GST	Glutatyon
GST	Glutatyon S-Transferaz
GST-A	Glutatyon S-transferaz Alfa
GST-K	Glutatyon S-transferaz Kappa
GST-M	Glutatyon S-transferaz Mu
GST-O	Glutatyon S-transferaz Omega
GST-P	Glutatyon S-transferaz Pi
GST-S	Glutatyon S-transferaz Sigma
GST-T	Glutatyon S-transferaz Teta
HCC	Hepatoselüler karsinom
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit

kDa	Kilo dalton
kb	Kilo baz
Mdm-2	Mouse double minute-2
MEK	Mukoepidermoid karsinom
mRNA	Mesenger ribo nükleik asit
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NSCLC	Küçük hücreli dışı akciğer kanseri
OSCC	Oral skuamöz hücreli kanser
PA	Pleomorfik adenom
PBS	Phosphate buffered saline
PDG-2	Prostaglandin-2
RNA	Ribo nükleik asit
TNM	Tümör, Nodül, Metastaz
UV	Ultraviyole

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Tükürük bezi tümörleri nadir görülen lezyonlardır. Dünyada yıllık insidansı 100.000 kişide 0,4-13,5 arasında olduğu ve tüm baş boyun tümörlerinin %3-6'sını tüm vücut tümörlerinin %3'ünü oluşturduğu tahmin edilmektedir. Bu tümörlerin tanısında hücre morfolojisi ya da görünümünün temel dayanak noktası olduğu iyi bilinen bir gerçektir. Tükürük bezi tümörleri farklı biyolojik davranış ve benzer histolojik özellik göstermeleri tanısal güçlük yaratmaktadır. İmmünohistokimya tükürük bezi tümörlerinin tanısını kolaylaştırmaktadır [1]. Günümüzde moleküler hedefli kanser tedavileri birçok kanserde standart olarak yerini almakta ve bazı oral kanserlerin tedavisinde gen ekspresyonları prognozla ilişkilendirilmektedir.

Tükürük bezi tümörleri, prognozu tam olarak bilinmeyen histolojik olarak oldukça çeşitli tümöral oluşumlardır. Tümörler her yaşta görülmelerine rağmen daha sık 40'li ve 60'lı yaşlarda ortaya çıkmakta ve erkeklere oranla daha çok kadınları etkilemektedir. Tükürük bezi tümörleri majör ve minör bezlerde görülselerde yaygın olarak görüldüğü yer parotis bezidir. Parotis bezinde oluşan lezyonların %80'ni benign özellik gösterirken sadece %20'si malign özellik göstermektedir [1, 2].

Tükürük bezi tümörleri çok çeşitli histolojik özellik göstermeleri, heterojen yapıları ve öngörülemeyen prognozları nedeniyle her zaman güncelliğini koruyan tümör tipleri arasındadır. Tümörlerin çeşitli morfolojik yapıları ve oldukça fazla histolojik tip ve alt tipe sahip olmaları ve aynı tümör tipinde dahi farklı histolojik özellik göstermeleri klinisyenleri ve patoloğları oldukça zorlamaktadır. Bu durum bilim insanlarını tümörlerin teşhisine yönelik yeni belirteçler kullanmaya yöneltmektedir [1].

Tükürük bezi tümörlerinden en sık karşılaşılan benign tümör pleomorfik adenoma (PA), malign tümör ise adenoid kistik karsinoma (AKK) ve mukoepidermoid karsinomadır (MEK). Pleomorfik adenoma tüm tükürük bezi tümörlerinin yaklaşık %80'ini oluşturur [1, 3,]. Tümörlerin görülme sıklığı sırasıyla parotis bezi, submandibular bez ve minör tükürük bezi şeklinde sıralanmaktadır [4]. Pleomorfik adenoma parotis, submandibular bez ve minör tükürük bezlerinde ortaya çıkan

tümörlerin yaklaşık %45-%70'ini oluşturmaktadır. Erkeklerle nazaran daha çok kadınları (%64,5) etkilemektedir. Histolojik olarak değişen miktarlarda epitel, myoepitel ve mezenkimal komponentlerden oluşan benign mikst tümör olarakta bilinir. Tümörler basit bir cerrahi işlemle çıkarıldıktan sonra %10-%12 arasında yüksek nüks oranına sahiptir. Malign dönüşüm riski lezyonun kalma süresi ve nüks oranı ile birlikte artmaktadır [3, 4].

Mukoepidermoid karsinom, tükürük bezlerinde görülen en yaygın malign tümördür [3]. Tümörler daha çok parotis ve minör tükürük bezlerinde ortaya çıkmakta, erkeklerden daha çok kadınları etkilemektedir. Genel olarak ağrısız yavaş büyüyen şişlikler olarak tarif edilen tümörler, değişen oranlarda intermediate, müköz ve epidermoid olmak üzere üç hücre tipinden oluşur [4].

Adenoid kistik karsinom, yavaş gelişen ve oldukça agresif tükürük bezi tümörüdür. Tükürük bezlerinin herhangi bir bölgesinde ortaya çıkmakla birlikte %50-60 sıklıkla minör tükürük bezlerinde görülmektedir [3, 4]. Tümörlerin küçük boyutlu olması ve yavaş gelişme göstermesi yakın dokulara invazyon yapmasını sağlar. Adenoid kistik karsinomlar genel olarak tübüler, kribriform ve solid olmak üzere üç histopatolojik patternle karakterize edilir. Solid pattern yüksek lokal nüks, yüksek metastaz hızı ve daha yüksek mortalite ile ilişkilendirilmektedir [3, 4].

Tükürük bezi tümörlerinin oluşumunda rol oynayan etiyolojik faktörler belirsizdir [3]. Ancak ultraviyole (UV), kötü diet, vitamin eksikliği (Avitaminöz) ve iyonize radyasyon, virüsler (Epstein Barr Virüsü), çeşitli mesleki maruziyetlerin (ağaç işlemeciliği, kuaför ve güzellik salonu çalışanları) tükürük bezi tümör oluşumunda rol oynamaktadır. Epidemiyolojik çalışmalar tükürük bezi tümörlerinin oluşumunu çeşitli kaynaklardan gelen iyonize radyasyona maruz kalma ile ilişkilendirmektedir[3]. Japonya'ya atılan atom bombası sonrası hayatta kalanlarda ve çocukluk çağında radyasyona maruz kalan bireylerde tükürük bezi tümörlerine daha sık rastlanması bu bulguları desteklemiştir [3, 4].

Radyasyonun hücrelerin makromoleküllerine zarar verdiği ve yüksek enerjili ışınların hücrelerde suyla birlikte serbest oksijen radikallerinin oluşumuna neden olduğu bilinir. Oluşan yüksek enerjili doymamış elektron çiftleri, membran lipidleri ve DNA gibi kararlı moleküllere saldırmakta ve DNA da mutasyonlara yol açmaktadır. Değişik yollarla vücuda giren yabancı bileşiklerin metabolize edilmesi

Faz I ve Faz II olarak adlandırılan iki farklı enzim grubu tarafından sağlanır. Faz I metabolizması ksenobiyotik bileşiklerin sitokrom P450 (CYP) monooksijenazlar tarafından oksidasyonunu içerir. Bu adımı GST enzimleri tarafından katalizlenen Faz II konjugasyon reaksiyonları izler. Faz-I enzimleri tarafından oksidasyona uğratılan bileşikler, Glutasyon s-transferaz enzimleri (GST) tarafından daha polar hale getirilerek idrar ya da safra yoluyla atılmaktadır [5, 6].

Redoks tepkimeler sonucunda çeşitli toksik saldırılara maruz kalan hücreler ya apoptozu indükleyerek tümör hücrelerinin uzaklaştırılmasını sağlar ya da DNA molekülleri üzerindeki redoks aracılı hasar nedeniyle, malignitenin gelişimini başlatırlar. Redoks tepkimeler sonucunda oluşan elektrofilik bileşikler GST enzimleri tarafından glutatyonla konjuge edilerek hücrelerden uzaklaştırılır. Genetik çalışmalar sonucu bu enzimleri kodlayan genlerde meydana gelen delesyonlar, enzim aktivitesinin azalmasına ve heterozigot bireylerde baş-boyun, meme, akciğer ve beyin dahil birçok organ ve dokuda kanser oluşumundan sorumlu tutulmaktadır [6]. Glutasyon s-transferazların detoksifikasyondaki rollerinden başka apoptoz, hücre döngüsü, hücre proliferasyonu ve karsinogenezde de rol oynayacağı bilinmektedir [7].

Apoptoz normal ve neoplazi gibi spesifik patolojik koşullarda yaşlanmış, zarar görmüş ve değişime uğramış hücrelerin uzaklaştırılmasını ve doku homeostazının sürdürülmesini sağlayan programlanmış ölüm sürecidir. Apoptoz oranındaki değişiklikler, genellikle patolojik ve onkojenik değişikliklerle ilişkilidir. Tümör oluşum sürecinde apoptozun inhibisyonu kanserin patogenezinde ve davranışında rol oynayan önemli faktörlerden biridir. Apoptoz düzenleyici moleküllerin keşfi, moleküler kanser tedavisi için yeni potansiyel hedeflerin belirlenmesine yol açmıştır. Apoptotik ve anti-apoptotik belirteçlerin ekspresyonunun araştırılması, malign tümörlerin prognozunu belirlemede fayda sağlayabilir.

Antiapoptotik belirteçlerden bcl-2, apoptozu ve hücre proliferasyonunu baskılayarak normal ve neoplastik hücrelerin uzun süre hayatta kalmasını sağlar. Bcl-2 ekspresyonu; oral epitelyal displazi, oral submukoz fibrozis ve oral skuamoz hücreli kanser gibi birçok lezyonda görülmektedir. Bcl-2 ekspresyonunun epitelyal malignitelerde değişime uğradığı, hücre tipi ve farklılaşma derecesi ile ilişkili olduğu epitelyal displazinin şiddeti ile artan, oral kanser oluşumu ile azalan ekspresyon

gösterdiği bildirilmektedir [8]. Bcl-2 ekspresyonu, tümör hücrelerinin genişlemesini teşvik eder ve onlara secici bir sağkalım avantajı sağlayabilir.

Apoptozun başlatılması için iç ve dış yolak olmak üzere iki ana yol vardır. Dış yolak, kaspaz-8'in aktivasyonuna yol açan hücre yüzeyi reseptörlerini aktive ederek kaspaz-3 aktifleştirir. İç yolak mitokondriden sitokrom c salınımı ile aktifleştirilir. Sitokrom C apaf-1 ile apoptozom kompleksini oluşturarak kaspaz-9 aktifleştirir. Aktive edilen kaspaz-9, kaspaz-3 aktivasyonuna yol açar. Kaspazlar apoptotik sinyallerin aktivasyonunda ve yayılmasında rol oynar.

Kaspaz-3 ekspresyonu, özofagus skuamoz hücreli karsinom, diffüz B-hücreli lenfoma, hodkin lenfoma, baş ve boyun skuamoz hücreli karsinoma, prostat kanseri, kolon kanseri, meningioma ve meme kanserinde dahil birçok kanser tipinde anormal ekspresyon gösterdiği saptanmıştır. Azalan kaspaz-3 ekspresyonu tümörün büyümesi ve sağkalımı ile ilişkilendirilmektedir [9]. Ancak tükürük bezi tümörlerinde kaspaz-3 ekspresyonu ve klinikteki rolü ile ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmamaktadır.

Çalışmamızın amacı, pleomorfik adenom, mukoepidermoid karsinom ve adenoid kistik karsinomdan oluşan 61 benign ve malign tükürük bezi tümörlerinde moleküler belirteçlerden bcl-2, kaspaz-3 ve GST pi izoenzim ekspresyonunu tespit etmek ve hastaların klinik ve demografik verileri ile karşılaştırmaktır. Ayrıca tükürük bezi 26 pleomorfik adenom tümör dokusunda Faz II detoksifikasyon reaksiyonlarında yer alan GST izoenzimlerinden GSTM1 (mü), GSTT1 (teta), GSTA1 (alfa), GSTK1 (kappa), GSTS1 (sigma) ve GSTO1 (omega) izoenzimlerinin immünohistokimyasal ekspresyonunu tespit ederek, hastaların klinik ve demografik verileriyle karşılaştırmaktır.

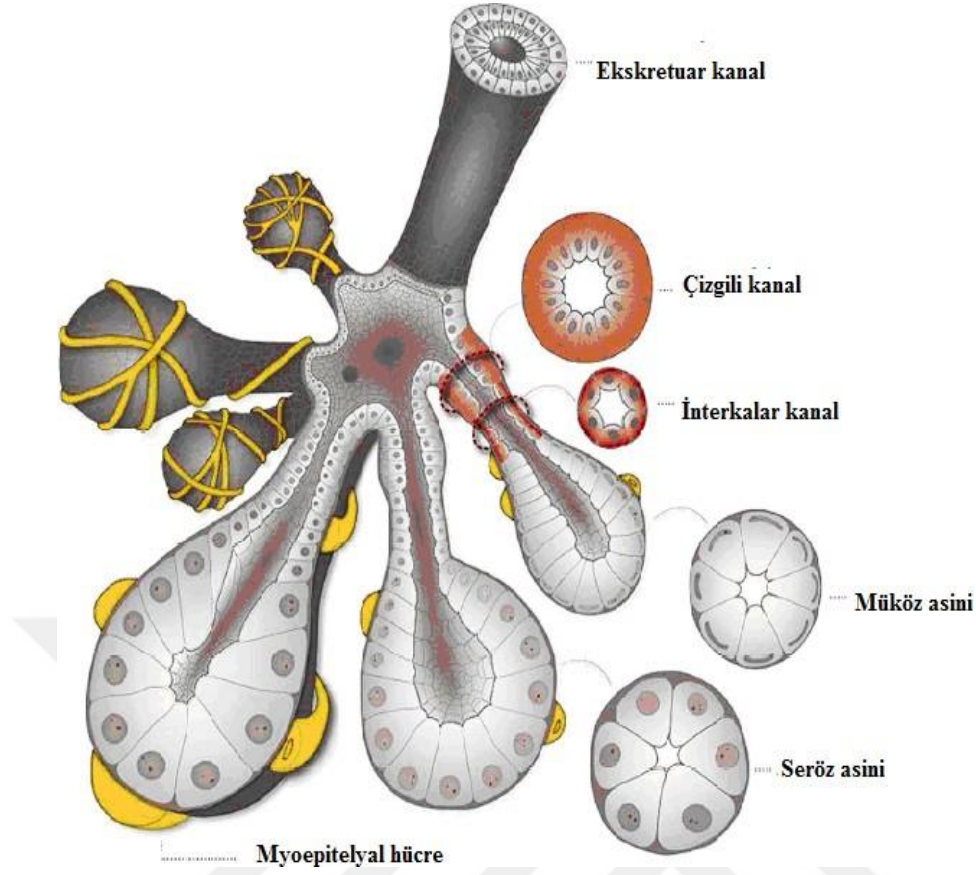
1.1. Genel Bilgiler

Tükürük bezleri majör ve minör bezler olmak üzere iki grupta incelenen dış salgı bezleridir. Majör tükürük bezleri parotis, submandibular (submaksiller) ve sublingual olmak üzere birer çifttir. Minör tükürük bezleri ise üst sindirim sistemi üzerine dağılmıştır ve sayıları 800-1000 arasında değişim göstermektedir. Bu bezler salgılama özelliklerine göre seröz, müköz ya da serö-müköz olabilirler. En büyük bez olan parotis seröz salgı üretirken submandibular ve sublingual bezler serö-müköz

salgı üreten bezlerdir. Majör ve minör tükürük bezlerinden günlük üretilen tükürük salgısı 1000-1500 cc civarında olup bu miktar bazı hastalık durumlarında değişim göstermektedir [10].

Tükürük bezleri baskın olarak asiner hücreler ve kanal hücreleri ile bu hücrelerin etrafını çevreleyen kasılabilen miyoepitelyal hücrelerden oluşur [10, 11, 12]. Tükürük kanal hücreleri interkalar hücreler, çizgili hücreler ve boşaltım kanal hücreleri olarak sınıflandırılabilir. İnterkalar kanallar birleşerek çizgili kanalı, çizgili kanallar da birleşerek boşaltım kanalını oluşturarak ağız boşluğuna açılmaktadır. İnterkalar kanal hücreleri, asiner sekresyonu bezin geri kalan kısmına bağlayan ilk kanal ağıdır. Çizgili kanal hücreleri, sodyumun geri emiliminde yer alan ikinci kanal ağıdır. Boşaltım kanal hücreleri sodyum emilimini devam ettirerek potasyum salgılayan ve tükürüğün oral boşluğa ulaşmasını sağlayan son kanal ağını oluşturur Şekil 1.1. Bu kanallarla ağız içine salgılarını ulaştıran bu bezler sayesinde ağız mukozasının yağlanması, besinlerin ıslatılması ve yiyeceklerin kolay bir şekilde yutulması ayrıca ağız içindeki yemek atıklarının ve bakterilerin uzaklaştırılması sağlanır.

Tükürük bezlerinden salgılanan tükürüğün %99'u su ve geri kalan %1'i inorganik maddelerden oluşan hipotonik bir sıvıdır. Asiner hücrelerde oluşan ilk tükürük izotonikken tükürük kanallarından geçerken modifiye olur ve hipotonik hal alır. Her bir tükürük bezi tarafından salgılanan tükürüğün içeriği ve miktarı farklıdır. Uyarılmamış tükürük bezlerinde tükürüğün %20'si parotis, %65'i submandibular, %7-8'i sublingual bez ve %10'undan azı ise küçük tükürük bezleri tarafından salgılanır. Uyarılmış bezlerden parotis salgınının 2/3'ünü salgılamaktadır [10]. Salgılanan tükürük, sodyum, potasyum, kalsiyum, magnezyum, bikarbonat ve fosfat dahil olmak üzere çeşitli elektrolitler içeren ve pH'sı 6,5-7,4 civarında olan kompleks bir sıvıdır [13]. Tükürük bileşiminden dolayı ağız mukozasının korunmasında, diş çürüklerinin önlenmesinde, yutma, çiğneme gibi çeşitli mekanizmalarda rol oynamaktadır. Ayrıca immünoglobulinler, laktoferrin proteinler, enzimler ve müsinlerin yanı sıra üre ve amonyak gibi azotlu bileşikler de bulunmaktadır [14]. Bu bileşiklerden fosfat, üre ve bikarbonatlar tampon olarak işlev görürken proteinler, immünoglobulinler, enzimler ve laktoferrin oral alanda antibakteriyel etki sağlar [15]. Tükürük akışı uyku esnasında azalırken uyarılma ile birlikte akış hızının arttığı rapor edilmiştir [16].



Şekil 1.1. Gelişmiş bir tükürük bezinin şematik görünümü [12].

Tükürük salgılanması medülladaki nükleuslu bir merkez tarafından kontrol edilir. Bu sekresyonu sağlayan çiğneme, tat alma ve koklama gibi çeşitli tetikleyiciler vardır. Bunlara ek olarak ağrı, çeşitli ilaçlar, lokal veya sistemik hastalıklar da tükürük sekresyonunu etkileyen diğer faktörler olarak sıralanmaktadır [17].

1.2. Tükürük Bezi Embriyolojisi

İnsanlarda majör tükürük bezleri gebeliğin yaklaşık ilk 6 ile 8. haftası arasında oluşmaya başlar. Ektodermden köken alan bu bezlerin tomurcukları ilk evrede oral mukoza epitelinin katlanmasıyla başlar. Bu katlanma gelişen fasiyel sinire yüzeyel bir düzlemde kulağın gerisine doğru devam ederek gelişen parotis bezinin derin yüzü gebeliğin üçüncü ayında fasiyel sinirin dalları arasından tomurcuklanmaya başlar. Bu tomurcuklar daha sonra birleşerek parotisin derin lobunu oluşturur ve gebeliğin altıncı ayında bez gelişimi tamamlanır. Submandibular bezler ağzın zeminindeki mezenkim içinden epiteliyal bir çıkıntı şeklinde oluşmaya başlar. Submandibular ve

sublingual bezler 13-16. haftaya kadar tamamen farklılaşır ve lümene bitişik hücrelerin desmozom ve mikrovillüs çıkıntıları belirgin olarak farklılaşır. Bazal lamina epiteli, myoepitel hücrelerine benzer şekilde çevreler ve 16. haftada interkalar ve çizgili kanallar belirginleşir ve bu gelişme gebeliğin 28. haftasına kadar devam eder [18]. Tükürük bezleri geliştikçe glandüler elemanlara kıyasla bağ dokusu küçülür ve miyoepitelyal hücre sayısı azalır.

Minör tükürük bezleri oral ektoderm ve endodermden köken alırlar, gebeliğin 10. haftasından sonra gelişmeye başlar.

1.3. Tükürük Bezi Tipleri

İnsanlarda tükürük oluşumunu sağlayan üç çift majör tükürük bezi ve kısa kanallar ile doğrudan ağız boşluğuna açılan ve sayıları 800-1000 arasında olan minör tükürük bezleri bulunmaktadır [10]. Majör tükürük bezleri parotis (kulak altı), submandibular (çene altı) ve sublingual (dilaltı) bezlerdir. Bu bezler ağız boşluğu dışında bulunur ve dallanmış kanallar vasıtasıyla salgılarını ağız boşluğuna bırakırlar.

1.3.1. Parotis Bezi

Parotis bezi insanlarda ağzın her iki tarafında kulak kepçesinin önünden çene köşesinin arkasına doğru uzanan en büyük tükürük bezleridir. Ortalama her bir parotis bezi- 20-28 gr ağırlığında fibröadipöz bir doku kapsülüyle çevrilidir. Parotis bezi fasiyel sinir tarafından iki ana bölümü bir isthmus ile birleştirilen yüzeysel (%80) ve derin (%20) olmak üzere iki loba ayrılmıştır. Görünüş olarak ters çevrilmiş bir piramidi andırmaktadır. Parotis ana kanalı olan stenon, masseter kası üzerinden geçerek maksiller ikinci molar dişin lateralinden ağız boşluğuna açılır [19] (Şekil 1. 2). Parotis bezi seröz bir bezdir ve sadece amilaz, sialomüsin ve sülfomüsin bakımından zengin sulu bir tükürük salgılamaktadır. Parotis bezi tükürük salgısı sempatik sinirler tarafından kontrol edilir [20].

1.3.2. Submandibular Bez

Submandibular bez boyunda digastrik üçgene doğru uzanan büyük süperfasiyel lob ve ağız tabanına uzanan daha küçük derin lobdan oluşur. Bu iki lop mylohyoid kasın posterior kenarı etrafından devam eder. Bez embriyolojik safhanın altıncı

haftasından tek bir epitelyum çıkıntı olarak gelişmeye başlar. Bez ortalama 7-8 gr ağırlığında badem şeklindedir [21]. Submandibular kanallar dil bağının (lingual frenulum) her iki tarafından wharton kanalı ile ağız boşluğuna açılır (Şekil 1. 2). Submandibular bezde interkalar kanallar parotis bezine göre daha kısadır ancak çizgili kanallar daha dallanmış ve daha geniştir [22]. Submandibular kanallar erişkinlerde yaklaşık 5 cm uzunluğundadır ve kanalın duvarı daha incedir.

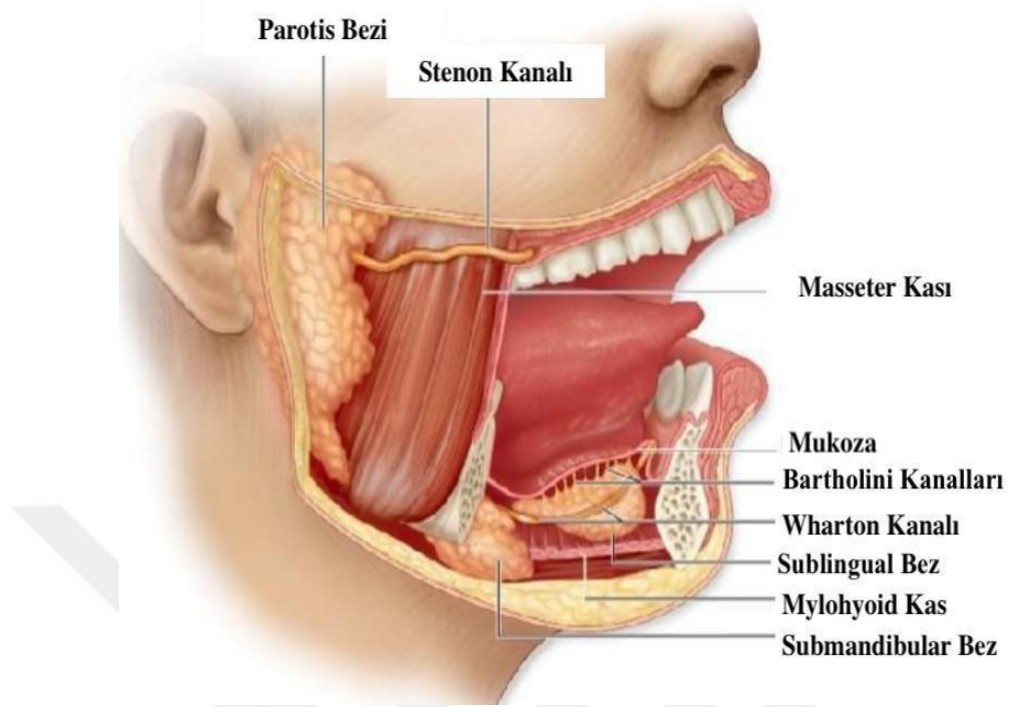
Submandibular bezler seröz ve müköz salgı üreten karışık (mixed acini) asiner hücrelerden oluşur. Seröz salgı üreten asiner hücreler daha baskındır. Ağız içindeki tükürük miktarına önemli ölçüde katkı sağlayan bu bezler esas olarak ağız mukozasının yağlanmasını ve korunmasını sağlayan sülfatlanmış glikoproteinler, nöronal ve epidermal büyüme faktörlerinden oluşan yapışkan bir tükürük salgılar. Bezin uyarılması submandibular gangliondan çıkan mandibular sinirin fasiyel ve lingual dalları ve sempatik sinirler yoluyla olur.

1.3.3. Sublingual Bez

Sublingual bezler embriyonik gelişimin 7. ve 8. haftası oluşmaya başlar. Sublingual bezler yaklaşık 3 gr ağırlığında en küçük majör bezlerdendir. Ağız tabanı bağ dokusu ve mylohyoid kasın arasına lokalize olmuştur [23]. Sublingual bezler seröz ve müköz salgı üreten asiner hücrelerden oluşur. Müköz salgı üreten asiner hücreler seröz salgı üreten hücrelere göre daha yoğundur [24]. Sublingual bez tarafından üretilen tükürük submandibular bezin wharton kanalına yakın dil bağının (lingual frenulum) her iki tarafından bartholin kanalı ile ağız boşluğuna açılır (Şekil 1. 2).

1.3.4. Minör Tükürük Bezleri

Minör tükürük bezleri gebeliğin 3. ayından itibaren gelişmeye başlar, sert damak ve diş etleri dışında oral mukoza boyunca lokalize olmuşlardır ve çoğunlukla gevşek bir bağ doku ile çevrili müköz asiner hücrelerden oluşur. Bezin kanal sistemi majör tükürük bezi kanallarına benzerlik gösterir. Sayıları 800-1000 kadar olup, doğrudan oral kaviteye açılırlar. Minör tükürük bezleri günlük salgılanan tükürüğün %6-10'unu oluşturur. Salgılanan tükürük enfeksiyon ve diş üzerinde mikroorganizmaların oluşumunu önleyen müsin, (yaklaşık %70) immünoglobülin A, asit fosfataz ve lizozom bakımından zengindir [25, 26].



Şekil 1.2. Majör tükürük bezlerinin anatomik görünümü [20]

1.4. Tükürük Bezleri Epidemiyolojisi

Dünya Sağlık Örgütü'nün 2017 sınıflandırmasına göre 36'dan fazla benign ve malign tükürük bezi alt tipi olduğu bildirilmektedir [27]. Majör tükürük bezlerinde ortaya çıkan tümörlerin %80'ini benign ve %20'sini malign tümörler oluşturmaktadır. Majör tükürük bezi tümörleri yaygın olarak parotis bezinde görülür ve bu tümörlerin %80'i benign oluşumlardır. Ancak submandibular bezlerden köken alan tümörlerin %40'ı ve sublingual bezlerden köken alan tümörlerin %90'ından fazlası malign özellik göstermektedir [28].

Tükürük bezi tümörleri tüm baş ve boyun kanserlerinin yaklaşık olarak %3-5'ini oluşturmaktadır [29]. Bu tümörlerin yıllık insidansı dünyanın farklı yerlerinde 100.000 kişi başına %0,5-2 arasında değişim göstermektedir. Batı toplumunda tüm tükürük bezi tümörlerinin yıllık insidansı ise %2,5-3'tür. Birleşmiş milletlerde

tükürük bezi kanserlerinin insidansında son yıllarda bir artış eğilimi görülmektedir. Bu tümörlerin insidansının 1974-1976 yılları arasında %6,3'iken 1998-1999 yılları arasında ise %8,1 ulaştığı tespit edilmiştir [30].

1.5. Tükürük Bezlerinin Etiyolojisi

Tükürük bezi kanserleri oldukça heterojen bir yapıya sahip olup, diğer tümörlere nispeten seyrek görüldükleri için etiyolojisi tam olarak bilinmemektedir. Kansere neden olan genetik ve epigenetik faktörler, tüm kanser türlerinde olduğu gibi tükürük bezi tümörlerinin oluşumunda da rol oynamaktadır. Tükürük bezi tümörlerinin oluşumuna alkol, sigara, beslenme ve diyet, radyasyon, bazı hastalıklar (Hodgkin's lenfoma), İnsan bağışıklık yetmezliği virüsü, Herpes Simpleks virüsü ve Epstein Barr virüsü gibi virüslerin yanı sıra kauçuk üretimi, otomobil endüstrisi, ağaç işlemciliği ve güzellik salonu çalışanlarının maruz kaldığı kimyasalların neden olduğu rapor edilmektedir [31, 32]. Alkol tüketimi ve sigara kullanımının tükürük bezi tümörlerinin oluşumunda doğrudan etkili olmadığı, ancak alkol ve sigarayı birlikte kullananlarda bu tümörlerin gelişiminde sinerjik etki oluşturduğu bilinmektedir [33, 34].

Tükürük bezlerinin radyasyona karşı oldukça hassas oldukları bilinmektedir. İsveç'te medullablastoma tanısı konulan kemoterapi ve radyasyonla tedavi edilen çocuklarda uzun süreli klinik takipte, iyonize radyasyona bağlı olarak tükürük bezi tümörlerinin geliştiği gözlenmiştir. Aynı zamanda Japonya da atom bombası atılan bölgelerde hayatta kalan bireylerde tükürük bezi tümörlerinin oluşumunda artış görülmüştür [35]. Yapılan çalışmalar radyasyon dozuna bağlı olarak uzun dönemde mukoepidermoid karsinom gelişme riskinin yüksek olduğunu göstermiştir [36].

Beslenme ve diyetin tükürük bezi tümör oluşumunun önlenmesinde etkili olduğuna dair çalışmalar mevcuttur [37]. C vitamini bakımından zengin, kolesterol bakımından yoksun sebze ve meyve tüketen bireylerde bu tümörlerin görülme sıklığında azalma olduğu tespit edilmiştir [37]. Çin'de yapılan bir vaka kontrol çalışmasında koyu renkli sebzeler ya da karaciğer tüketiminin tükürük bezi tümörü oluşumunda koruyucu rol oynadığı ve bu gıdaları fazla miktarda tüketenlerde tükürük bezi tümör oluşumunun %70 oranında azaldığı görülmüştür. Bunun sonucunda C vitamini bakımından zengin ancak kolesterol bakımında yoksun bir diyetin tükürük bezi

tümör oluşumunun önlenmesinde önemli faktör olabileceği sonucuna varılmıştır [37].

Ayrıca obezite ve ailesel yatkınlık gibi faktörlerinde tükürük bezi tümörü oluşumuna katkı sağladığı yönünde görüşler de mevcuttur [38, 39]. Güney Avrupa'nın büyük topluluklarında insan bağışıklık yetmezliği virüsünün tükürük bezi kanseri oluşum riskini arttırdığı ileri sürülmüştür [39].

1.6. Dünya Sağlık Örgütü Verilerine Göre Tümörlerin Sınıflandırılması

Dünya Sağlık Örgütü 2017 yılında tükürük bezi tümörlerinde önceki sınıflandırmaya kıyasla bazı değişiklikler yaparak tükürük bezi tümörlerinin sınıflandırılmasını güncellemiştir [27]. Buna göre meme analogu sekretuar karsinoma, sekretuar karsinom olarak yeniden adlandırılmıştır. Ayrıca benzer klinik ve patolojik özellik gösteren kistadenokarsinom, müsinöz adenokarsinom, intestinal adenokarsinom gibi tümörler adenokarsinom adı altında sınıflandırılmıştır. Kötü diferansiye büyük ve küçük hücreli kanserler kötü diferansiye endokrin ve non-endokrin karsinomlar olarak yeniden revize edilmiştir [27, 40].

Dünya Sağlık Örgütü'nün 2017 yılında yapmış olduğu son sınıflandırmaya göre tükürük bezi tümörleri Çizelge 1. 1'deki gibi sınıflandırmıştır [27].

Çizelge 1.1. Tükürük bezi tümörlerinin sınıflandırılması [27].

Malign Epitelyal Tümörler:	
Asinik Hücreli Karsinom	Müsünöz Adenokarsinom
Mukoepidermoid Karsinom	Onkositik Karsinoma
Adenoid Kistik Karsinom	Tükürük Kanalı Karsinom
Polimorf Düşük Dereceli Adenokarsinom	Adenokarsinom, (Başka türde sınıflandırılmamış)
Epitelyal-Miyoeptelyal Karsinom	Miyoeptelyal Karsinom
Berrak Hücreli Karsinom	Karsinom Ex Pleomorfik Adenom
Bazal Hücreli Adenokarsinom (başka türde sınıflandırılmamış)	Karsinosarkom
Sebaseöz Adenokarsinom	Metastatik Pleomorfik Adenom
Sebaseöz Lenfoadenokarsinom	Skuamöz Hücreli Karsinom

Çizelge 1.1. (Devamı)

Kist Adenokarsinom	Küçük Hücreli Karsinom
Düşük Dereceli Kribriform Kistadenokarsinom	Büyük Hücreli Karsinom
Sialoblastom	Lenfoepitelyal Karsinom

Benign Epitelyal Tümörler	
Pleomorfik Adenom	Kanaliküler Adenom
Myoepitelyoma	Sebaseöz Adenoma
Bazal Hücreli Adenom	Lenfadenom (Sebaseöz, non-Sebaseöz)
Whartin Tümör	Duktal Papillom - Inverted ductal papilloma, - Intraductal papilloma. - Sialadenoma papilliferum
Onkositom	Kistedenom

Yumuşak Doku Tümörleri
Hemanjiom

Hematolenfoid Tümörler
Hodgkin Lenfoma
Diffuse Large B Hücreli Lenfoma
Ekstra Nodal Marjinal Zon Lenfoma (MALT)

Sekonder Tümörler

1.7. Tükürük Bezi Tümörlerinin Derecelendirilmesi

Tükürük bezi tümörleri oldukça fazla histolojik tip ve alt tipe sahip heterojen olmayan ve nispeten yaygın lezyonlardır [41]. Bu nedenle tümörlerin prognozu ve klinik yönetimi açısından derecelendirme önem arz etmektedir. Dünya Sağlık Örgütü'nün 2017'de yaptığı en son sınıflandırmaya göre, otuzdan fazla benign ve malign histolojik alt tipte tükürük bezi tümörü tanımlanmıştır [27]. Oldukça farklı histolojik özellik göstermeleri tükürük bezi tümörlerinin prognozu ve klinik yönetimi açısından zorluk teşkil etmektedir. Yaş, cerrahi sınır ve tümör evresi klinik açıdan önemli olsa da malign tümörlerin derecelendirilmesi prognoz açısından oldukça önemlidir [42]. En yaygın kullanılan derecelendirme sistemi, Silahlı Kuvvetler Patoloji Enstitüsü (AFIP), Brandwein Sistemi ve Modifiye Healey Sistemidir. Silahlı

Kuvvetler Patoloji Enstitüsü ve Brandwein Sistemi tümörleri her bir parametre için bir nokta değer sistemine göre derecelendirirken Modifiye Healey Sisteminde belirli histolojik parametreler bir derece ile karakterize edilir ve tümör histolojik parametrelerine göre derecelendirilir. Bu derecelendirme sistemlerine göre tükürük bezi tümörleri düşük, orta ve yüksek dereceli olarak sınıflandırılır. Ancak orta (intermediate) derecelendirme tartışmalı olduğu için DSÖ, tükürük bezi malign tümörlerini yüksek ve düşük riskli olarak Çizelge 1. 2 ‘de gibi sınıflandırmaktadır [42].

Çizelge 1.2. Dünya Sağlık Örgütü’ne göre malign tükürük bezlerinin risk sınıflandırılması [42].

Düşük Riskli	Yüksek Riskli
Asinik hücreli karsinoma	Sebasöz karsinom ve lenfadenokarsinom
Düşük dereceli mukoepidermoid karsinom	Yüksek dereceli mukoepidermoid karsinom
Epitelyal-miyoepitelyal karsinom	Adenoid kistik karsinom
Polimorfik düşük dereceli adenokarsinom	Müsinöz adenokarsinom
Berrak hücreli karsinom	Skuamöz hücreli karsinom
Bazal hücreli karsinom	Küçük hücreli karsinom
Düşük dereceli tükürük kanal karsinomu	Büyük hücreli karsinom
Miyoepitelyal karsinom	Lenfoepitelyal karsinom
Onkositik karsinom	Metastatik pleomorfik adenom
Karsinoma ex pleomorfik adenoma (intrakapsüler/ minimal olarak invazif ya da düşük dereceli)	Karsinoma ex pleomorfik adenoma (yaygın olarak invazif ya da yüksek dereceli)
Sialoblastoma	Karsinosarkom
Adenokarsinom NOS ve kistadenokarsinom, düşük dereceli	Adenokarsinom ve kistadenokarsinom, NOS, yüksek dereceli

1.8. Tükürük Bezi Tümörlerinin Evrenmesi

Majör tükürük bezi tümörlerinin sınıflandırması Amerikan Kanser Komitesi Topluluğu (AJCC) evreleme kitapçığının VIII. baskısındaki TNM (tümör, nodül, metastaz) sınıflaması kullanılarak yapılmaktadır. Minör tükürük bezlerinin sınıflandırması ise tümörün köken aldığı anatomik yerin sınıflandırılmasına dahil edilmektedir [40]. TNM sınıflamasına göre yapılan evreleme ile hastalığın prognozu hakkında bilgi sahibi olunmaktadır. Amerikan Kanser Komitesi tarafından yapılan TNM evrelemesi 8. baskıda evreleme sistemine yeni kriterler eklenmiştir [43, 44]. Sekizinci evreleme sistemindeki TNM evreleme faktörleri Çizelge 1. 3'te evre grupları ise Çizelge 1. 4'te açıklanmıştır.

Çizelge 1.3. TNM evrelemesi [44].

T. Primer Tümör

- Tx Primer tümör değerlendirilememiştir.
- Tis Karsinoma in situ
- T0 Primer tümöre ait bulgu yoktur.
- T1 Tümörün en büyük çapı 2 cm'den küçük ve ekstraparenkimal yayılım yok
- T2 Tümörün en büyük çapı 2 cm'den büyük ve 4 cm'den küçük ve ekstraparenkimal yayılım yok
- T3 Tümörün en büyük çapı 4 cm'den büyük ve/veya ekstraparenkimal yayılım var
- T4a Tümör deri, mandibula, kulak kanalı ve/veya fasiyal siniri istila etmiş
- T4b Tümör kafa tabanı ve/veya pterigoid plate invazyonu ve/veya karotid arteri istila etmiş

NOT: Ekstraparenkimal yayılım klinik veya makroskopik olarak yumuşak dokuların invazyonudur.

Çizelge 1.3. TNM evrelemesi devamı

<p>N. Bölgesel Lenf Nodları</p> <ul style="list-style-type: none">• NX Lenf nodu metastazı değerlendirilememiştir.• N0 Lenf nodu metastazı yoktur.• N1 Tek bir ipsilateral lenf nodunda metastaz var ve bu lenf nodunun en büyük çapı 3cm'den küçük ve ektranodal yayılım yok.• N2a Tek bir ipsilateral lenf nodunda metastaz var ve bu lenf nodunun en büyük çapı 3 cm'den büyük ve 6 cm'den küçük, ektranodal yayılım yok veya 3 cm'den küçük ama ektranodal yayılım var.• N2b Multipl ipsilateral lenf nodunda metastaz var ve bu lenf nodlarının her birinin en büyük çapı 6 cm'den küçük ve ektranodal yayılım yok.• N2c Bilateral ya da kontra-lateral lenf nodlarında metastaz var ve bu lenf nodlarının her birinin en büyük çapı 6 cm'den küçük ve ektranodal yayılım yok.• N3a tek bir lenf nodunda tutulum var ve en büyük metastatik lenf nodu çapı 6 cm'den büyük ve ekstra nodal yayılım yok. <p>N3b Tek bir ipsilateral lenf nodunda tutulum var bu lenf nodunun çapı 3 cm'den büyük ve ekstra nodal tutulum var; multiple veya bilateral ya da kontralateral lenf nodlarında tutulum var, bu lenf nodlarının herhangi birinde ekstra nodal yayılım var.</p>
<p>M. Uzak Metastaz</p> <ul style="list-style-type: none">• M0 Uzak metastaz yok• M1 Uzak metastaz var

Çizelge 1.4. Tükürük bezi evre grupları [44].

Evre 1	T1	N0	M0
Evre 2	T2	N0	M0
Evre 3	T3	N0	M0
Evre 3	T0, T1, T2, T3	N1	M0
Evre 4a	T4a	N0, N1, N2	M0
Evre 4b	T4b	Herhangi N	M0
Evre 4b	Herhangi T	N3	M0
Evre 4c	Herhangi T	Herhangi N	M1

1.9. Tükürük Bezi Tümörlerinin Moleküler Mekanizması

Kromozom anomalileri, özellikle translokasyonlar, transformasyon özeliğine sahip onkoproteinleri kodlayan füzyon onkogenlerinin oluşumu ile sonuçlanabilir. Bugüne kadar birçok insan neoplazmalarında 800'den fazla füzyon onkogeni tanımlanmıştır [45]. Bu onkogenlerin çoğu önemli tanısal ve prognostik biyo-belirteçler olarak

tedavide yeni hedeflerin odağı haline gelmektedir. Son yapılan çalışmalar gen füzyonlarının insan kanser morbiditesinin en az %20'sinden sorumlu olduğunu göstermektedir [45, 46]. Gen füzyonları daha çok lösemi ve sarkom gibi tümörlerde yaygın olsada, bazı kanserlerinde kromozom düzenlemeleri sonucunda bu onkogenleri eksprese ettiği tespit edilmiştir [48]. Tükürük bezi neoplazilerinde de intra-kromozomal olarak oluşmuş gen füzyonları tanımlanmıştır. Füzyon onkogenleri tümör tipine spesifik tanısallı belirteçlerdir. Solid tümörlerde tanımlanan füzyon genleri, anormal transkripsiyon faktörlerini kodlar ve büyüme sinyallerini düzenleyen kimerik proteinlerin eksprese edilmesini sağlar [47]. Bu nedenle füzyon genleri klinik ve patolojik açıdan önemli genlerdir ve yeni kanser tedavi modellerinin geliştirilmesinde kilit rol oynar [48].

Tükürük bezi tümörlerinin patogenezi, histolojilerindeki çeşitlilik ve biyolojik davranışlarındaki farklılık nedeniyle tam olarak aydınlatılamamıştır. Tükürük bezi tümörlerinden en sık karşılaşılanı, pleomorfik adenomadır ve patogenezi hakkında kesin bir bilgi yoktur. Son zamanlarda yapılan sitogenetik ve moleküler çalışmalar pleomorfik adenomun 8. ve 12. kromozomunun uzun kolunda bulunan anomalileri birçok kez göstermiştir. Bu bölgelerdeki translokasyonların, protoonkogenleri aktive ederek tümör gelişimini ya da ilerlemesini teşvik ettikleri düşünülmektedir [49]. Translokasyonlar ve kromozom anomalileri sonucu PA'larda PLAG1 ve HMGA2 füzyon onkogenleri tanımlanmıştır. PLAG1 ve HMGA2 gen füzyonları, PA ve ex pleomorfik karsinomların %50-70'inde görülmektedir. PLAG1 protoonkogenin ektopik ekspresyonu, pleomorfik tümörlerin gelişimini tetikler. Hedef genlerin deregülasyonuna ve hücre döngüsünün kontrolsüz proliferasyonuna yol açar [50, 51].

Mukoepidermoid karsinom en sık karşılaşılan malign tükürük bezi tümörüdür. Bu tümörlerin %70'i MECT1 ve MAML2 füzyon geni ile sonuçlanan t(11;19)(q21-22; p13) translokasyonu göstermektedir [52]. Mukoepidermoid karsinomlarda tanımlanan bu translokasyon tümörleri, onkositik neoplazilerden ayırmada yardımcı olmaktadır.

Adenoid kistik karsinom, ikinci en yaygın tükürük bezi malign tümörüdür. Sitogenetik çalışmalar sonucunda AKK'larının MYB-NFIB füzyon geni ile sonuçlanan t(6;9)(q22-23; p23-24) translokasyonu gösterdiği tespit edilmiştir. MYB

geni hücre proliferasyonu, apoptoz ve hücre farklılaşmasının kontrolünde önemli bir rol oynar. Olgunlaşmamış, çoğalan hücrelerde yüksek oranda eksprese edilir ve hücreler farklılaştıkça ekspresyonu azalır. Bu füzyon onkogenleri, adenoid kistik karsinomda oldukça fazla eksprese edilmektedir [53]. Füzyon onkoproteinlerinin moleküler sonuçları ve hedef genleri belirlemeye yönelik devam eden çalışmalar, nihayetinde tükürük bezi neoplazmalarında yeni sürücü genlerin tanımlanmasına yol açacak ve ayrıca tükürük bezi kanserleri için yeni terapötik stratejilerin geliştirilmesi için temel oluşturacaktır.

1.9.1. Moleküller Belirteçler

1.9.1.1. P53

Genomun gardiyanı olarak da bilinen p53, 17. kromozomun (17p13.1) kısa kolu üzerinde yer alan bir gen tarafından kodlanan, 393 aminoasitten oluşan nükleer bir fosfoproteindir. P53 hücre siklusunun durdurulmasında, DNA'nın bütünlüğünün korunması ve onarımında ve ayrıca hasarlı hücrelerin apoptotik yolağa sokulmasında rol oynayan bir genidir [54]. İnsan kanserlerinde en sık olarak p53 genin mutasyona uğradığı mutant p53 proteinin tümör hücrelerinde biriktiği düşünülmektedir [55].

Normal koşullar altında bölünen hücrelerde p53 Mdm-2 (Mouse double minute-2) regülatörüne bağlanır. Mdm-2 sadece p53'ün biyolojik aktivitesini engellemez, aynı zamanda ubiquitin proteazom yolu aracılığıyla parçlanmasını sağlayarak negatif feedback mekanizması olarak işlev görür, bu nedenle p53 normal hücrelerde ya yoktur ya da yok denecek kadar azdır. Ancak mutant p53 proteininin yarılanma ömrü, uzun olduğu için tümör hücrelerinde çeşitli yollarla varlığı gösterilmektedir.

Hücre bölünmesi sırasında hücre döngüsünü denetleyen bu genler hücre DNA'sında meydana gelen hasarın onarılamayacak kadar büyük olduğu durumunda hücreyi apoptoza yönlendirerek hasarlı hücrelerin ortamdaki uzaklaştırılmasını sağlamaktadır. Böylece DNA'nın bütünlüğünün korunması ve hücrenin hayatta kalması sağlanır [55]. Normal hücre bölünmesi sırasında p53, hasarlı DNA'ya sahip hücreleri tanıyarak hücre döngüsünü G1 den S fazına geçiş esnasında durdurur. Normal bölünen hücrelerde nükleusta yer almasına rağmen, DNA hasarının tamir edilemediği durumlarda nükleustan sitoplâzmaya geçer ve doğrudan bcl-2 ve bcl-2 ailesi proteinleri ile etkileşerek bunların aktivasyonunu ve regülasyonunu sağlar.

Bunun sonucu olarak proapoptotik proteinlerin (Bax proteini) salınımının sonucu mitokondri aracılığı ile hücre, apoptoza yönlendirmiş olur [56]. Yapılan araştırmalar sonucunda p53 tümör supressör geninde meydana gelen mutasyon sonucunda, kanser oluşuma ihtimalinin kaçınılmaz olduğu ve kanser hücrelerinde mutant p53 protein ekspresyonunun saptanmış olması bu savı desteklemektedir. Ayrıca mutant p53 protein ekspresyonu gözlenen tümör hücrelerinin p53 ekspresyonu gözlenmeyen tümör hücrelerine oranla daha hızlı bölünebildiği ve yüksek metastaz ve invazyon yeteneğine sahip olduğu bildirilmektedir [57].

1.9.1.2. Bcl-2

Hücre gelişiminin birçok fizyolojik ve neoplastik oluşumları sırasında apoptozu inhibe ederek hücre ölümünün kontrol edilmesinde önemli bir proto-onkogendir [58]. Bcl-2 kromozom 18q21 üzerine lokalize 26 kDa'luk bir proteine sahip 230 aminoasitlik bir protoonkogendir. B hücreli lenfoma (Bcl-2) ailesi apoptoz ile ilişkili birçok farklı düzenleyici protein içerir. Bcl-2 protein ekspresyonun, çeşitli kanser tiplerinde artmış olduğu ve bunun tedaviye direnç gelişimi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir [59]. Malign oluşumların başlamasında ve devamlılığında bcl-2 proteinlerinin anti-apoptotik aktivitelerinin etkili olduğu bildirilmektedir [60]. Bcl-2 ekspresyonunun hücre proliferasyon miktarını artırmaktan ziyade, hücre sağkalım oranını artırarak malign hücre sayısında artışa neden olduğu ve hücre içerisinde bcl-2 ekspresyon düzeyindeki artışın kanser oluşumu ile ilişkili olduğu varsayılmaktadır [61].

1.9.1.3. Ki67 (MIB1)

Ki67 belirteci ilk kez 1980'lerin başlarında Scholzer and Gerdes tarafından tanımlanmıştır. Bu belirtecin molekül ağırlığı 345-395 kDa olup, 10. kromozomun kısa kolu üzerinde (10q25) lokalize olan 29,965 bp uzunluğunda bir proteindir. Hücre proliferasyon belirteci olan Ki67 hücre döngüsünün tüm aktif döngüleri (G1, G2, S, M) boyunca eksprese olurken ancak dinlenme fazındaki (G0) hücrelerde eksprese edilmemektedir [63, 64]. Ki67, yaklaşık 1-1,5 saatlik yarılanma ömrü ile hücre döngüsü boyunca sürekli olarak fosforile ve defosforile edilir. Ki67 ekspresyonu, siklin B/sikline bağlı kinaz-2 gibi anahtar düzenleyiciler tarafından proteolitik yollarla düzenlenir. Mitoz (Anafaz ve telofaz) sonuna doğru Ki67 düzeyi

hızlı bir şekilde azalmaktadır. Ki67 proteininin ekspresyonu, malign tümörlerde intrinsik hücre popülasyonlarının proliferasyon aktivitesi, tümör derecesi ve tümör agresifliğinin bir belirteci olarak kullanılır. Ki67 proteini moleküler düzeyde iyi tanımlanmış olup tümörün klinik evresi ve metaztazı ile ilişkilendirilmektedir [64]. Ayrıca birçok tümörde Ki67 pozitifitesi tümör proliferasyonu ve nüksü ile ilişkili olup, Ki67 pozitif malign hücrelerin oranı ve sağkalımı arasında bir ilişki vardır. Ki67'nin, prognostik bir belirteç olarak meme, serviks, prostat, akciğer, yumuşak doku kanserleri ve merkezi sinir sistemi kanserleri de dahil olmak üzere birçok farklı insan kanser tipinde yaygın olarak çalışılmaktadır [65]. Ki67, proliferasyon yapan kanser hücrelerinde kötü bir prognoz belirteci olarak tanımlansa da proliferasyon artışıdaki tam rolü belirsizliğini sürdürmektedir [66].

1.9.1.4. Her2/Neu (Cerb-B2)

Her2/neu protoonkogeni çeşitli insan kanserlerinin gelişimi ve ilerlemesinde rol alan tirozin kinaz reseptörünü kodlayan transmembran bir proteindir. On yedinci kromozomun (17q21) kısa kolu üzerinde lokalize olmuş 185 kDa'luk bir proteini kodlayan EGFR/Her ailesinin bir üyesidir [67]. Bazı tümörlerde artmış Her2/neu düzeyi proliferasyon yapan hücrelerin apoptoz, migrasyon ve invazyonu ile ilişkilendirilmektedir. Hücrede Her2/neu sinyal yolunda meydana gelen düzensizlikle Her2/neu overekspresyonu sonucunda DNA sentezi artar, hücre büyümeye yönelir ve tümör oluşumu artar. Her2/neu protein ekspresyonu daha çok immünohistokimyasal yöntemle parafine gömülü dokulardan ya da floresan in situ hibridizasyon gen amplifikasyonu ile değerlendirilir. Tümör örnekleri dört kademeli bir skorlama sistemi ile 0 ile +3 arasında puanlanır. İmmünohistokimyasal teknikte protein ekspresyonunun belirlenmesinde oluşan farklılıkların tümörün derecesi, takip işlemleri ve kullanılan antikor tipine bağlı olduğu düşünülmektedir [68]. Ayrıca meme ve mide kanserlerinde Her2/neu ekspresyonu hastalar açısından önem arz etmekte ve yeni gelişen hedefe yönelik ilaç tedavilerinde başarı düzeyini artırmaktadır.

1.9.1.5. Kaspaz-3

Apoptoz veya programlanmış hücre ölümü yolu embriyonik gelişim, immün sistemin işlevselliği ve doku homeostazının sürdürülmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Apoptotik hücre ölüm yolunda meydana gelen bozulma kanserin patogenezinde ve

biyolojisinde önemli kilit faktörlerdir [69]. Apoptozun başlaması için iç ve dış olmak üzere iki yolak vardır. Dış yolakta hücre ölümü kaspaz-8'i aktive ederek kaspaz-3'ün daha da aktifleşmesini sağlayarak hücre yüzeyindeki reseptörlerin aktifleştirilmesi sonucu başlamaktadır. İç yolak ise mitokondriden sitokrom c'nin salınımı ile aktive edilir. Sitokrom c ile Apaf-1 arasında oluşan ve apoptozom olarak da bilinen kompleks, kaspaz-9'u aktifleştirir. Aktif kaspaz-9, kaspaz-3'ü aktifleştirir. Kaspaz-3, iç yolak ve dış yolaktaki nükleer değişimlerden sorumludur [70]. Kaspaz-3, proteaz ailesinin bir üyesi olup hücre ölüm yolunun kilit efektörüdür. Kaspaz-3 ekspresyonu baş ve boyun kanserleri de dahil olmak üzere çeşitli insan kanserlerinde tespit edilmektedir [71].

1.9.1.6. CD44

Transmembran bir glikoprotein olan CD44, P-glikoprotein olarak da adlandırılır. Hücre-hücre ve hücre-matriks bileşenlerinin etkileşiminde rol oynayan hücre yüzeyi adezyon molekülüdür [72, 73, 74]. Hücre farklılaşması, proliferasyon, migrasyon, hücre sağkalım ve anjiogenezin yanı sıra inflamasyon, apoptozis ve embriyonal gelişimde de rol oynadığı rapor edilmektedir [75]. CD44, 11. kromozomun (11p13) kısa kolu üzerinde lokalize olmuş tek zincirli gen tarafından kodlanan bir proteindir. Bu proteinin molekül ağırlığı 85-200 kDa olup, genomik yapısında 20 ekzon bulunur. Homopöetik hücreler tarafından eksprese edilen ilk 5 ekzon ürünü standart tip olarak, 6. ekzondan 20. ekzona kadar olanlar ise varyant olarak adlandırılır [76]. Bu proteinin standart tipleri ve varyantları, baş ve boyun kanserleri dahil birçok farklı kanser tipinde yüksek düzeyde eksprese olmaktadır. Bu nedenle bazı insan malignitelerinde agresif davranışın göstergesi olarak kabul görmektedir [77]. CD44, derinin mukoz membranlarının normal bazal epitelinden ve normal glandular epitelyumdan ya da bu yapılardan köken alan tümöral oluşumlardan eksprese edilmektedir [78]. CD44, molekülü ekstrasellüler alan, intrasellüler alan ve transmembran olmak üzere üç ana kısımdan oluşur [79] Ekstrasellüler kısım hyaluronik asit için bir bağlanma bölgesi olan N-terminal bir uç içerir. Bu kısım ile hyoluronik asittin birleşmesi sonucu oluşan sinyal iletimi, kanser kök hücrelerinin farklılaşmasında ve gelişimini devam ettirmesinde önemli rol oynamaktadır [80]. Kanser kök hücre belirteci olarak tanımlanan CD44'ün, kanser hücrelerinin oluşum sürecine de katkı sağladığı düşünülmektedir. Baş ve boyun tümörleri dahil çeşitli insan malignitelerinin agresif davranışı ve kötü prognozu ile ilişkilendirilmektedir.

Bir ko-reseptör olarak ligandlara bağlanarak sinyal iletiminin sürdürülmesini sağladığı için karsinogenezle de ilişkilendirilmektedir [81]. CD44 hyaluronik asite bağlanarak bir ko-reseptör olarak davranır, Her2 ve Src kinazlar ile kompleks oluşturarak tümörogeneizde sinyal yolları arasında sinyal karmaşıklığına yol açtığı düşünülmektedir [81]. Kanser kök hücre belirteci olarak hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşiminde bilinen önemli rolü nedeniyle tümör agresifliği ve metastazla ilişkili olabileceği ileri sürülmektedir [82].

1.9.1.7. P27 (KIP1)

Hücreler hayatta kalabilmeleri için bölünme esnasında çok sıkı mekanizmalarla kontrol edilirler. İnsan kanserlerinde çoğunlukla bu sıkı kontrol mekanizmaları kaybolmuştur. Hücre döngüsü sikline bağlı kinazlar (CDK) tarafından ilerletilir. Siklin kinaz inhibitörleri, sikline bağlı kinazların önemli düzenleyicileridirler. Hücre döngüsünün ilerlemesi ve proliferasyonu; siklinler, sikline bağlı kinazlar (CDKs) ve siklin kinaz inhibitörleri (CKI) arasındaki kompleks bir etkileşim ile sağlanır. Sikline bağlı kinazların aktivitesi, p15, p16, p18 ve p19 ve p21, p27 ve p57 gibi siklin kinaz inhibitörleri tarafından kontrol edilir. p27, 12. kromozom (12p13) üzerinde lokalize olmuş sikline bağlı kinaz, inhibitör B olarak tanımlanmaktadır. İnsan p27 amino terminal bölgesi p21 proteini ile %44 benzerlik gösterir ve bu bölge inhibitör aktiviteye sahiptir. İlk kez 1994 yılında CIP/KIP ailesinin bir üyesi olarak Polyak tarafından keşfedilmiştir. En önemli işlevi ekstraselüler mitoz ve antimitotik sinyallere aracılık etmektir [83].

P27 siklin (A, B, D ve E) / CDK (1, 2, 4 ve 6) bağlanmasıyla, CDK katalitik bölgesinden siklinin, sikline bağlı kinazdan ayrılmasını sağlar. Aynı zamanda p27, kanser hücrelerinin proliferasyon mekanizmalarını inhibe eden tümör baskılayıcı bir proteindir. p27, siklinler tarafından retinoblastoma geninin fosforilasyonunu inhibe ederek Retinoblastomadan E2F transkripsiyon faktörünün ayrılmasını önler. Böylece hücre döngüsü sırasında G1/S geçişindeki genlerin transkripsiyonu önlenir. Çekirdekte p27 kaybı, ya da azalması veya bu proteinin sitoplazmik lokalizasyonuna çoğu insan tümörlerinde sıklıkla rastlanmaktadır [84]. Tümörlü hastalarda sitoplazmik p27 düzeyi kötü prognozla ilişkilendirilmektedir. Bu yüzden sitoplazmik p27 bir protoonkogen olarak düşünülmektedir. Sitoplazmik p27 RhoA proteinine

bağlanarak aktinin RhoA-ROCK aracılı regülasyonunu inhibe eder. Böylece siklinebağlı kinazlardan bağımsız mekanizmalarla tümör infiltrasyonu ve göçünü desteklemektedir [84,85].

1.10. Tükürük Bezi Tümör Tipleri

1.10.1. Mukoepidermoid Karsinoma

Mukoepidermoid karsinom (MEK), tükürük bezlerinde görülen malign oluşumların yaklaşık %12-29'nu oluşturan en yaygın malign tümördür [86, 87]. Baş ve boyun bölgesinde görülen bu tümörlerin yarısından fazlası parotis bezinde ve daha seyrek olarak minör tükürük bezlerinde görülmektedir. Minör tükürük bezlerinde pleomorfik adenom ve adenoid kistik karsinomdan sonra en sık karşılaşılan malign tükürük bezi tümördür. Sık olarak parotis bezinde lokalizasyon göstermektedir. Mukoepidermoid karsinomlar her yaşta görülmesine rağmen erişkinlerde 40'lı ve 50'li (ortalama yaş:45) yaşlarda daha sık görülmektedir. Ayrıca çocuklarda da görülen malign tükürük bezi tümördür [71]. Erkeklerle oranla (3:2) kadınları daha sık etkilediği rapor edilmektedir [88].

Tümörler genel olarak solid, ağrısız ve yavaş gelişen şişlikler olarak tanımlanmaktadır. Düşük dereceli tümörler, düzgün sınırlı, ağrısız, yavaş gelişen kitlelerdir. Düşük dereceli tümörlerde sağkalım oranı yüksektir. Yüksek dereceli tümörler ağrılı, çevre dokulara infiltrasyon gösteren lenf nodu metastazı ve fasiyal sinir paralizinin sık karşılaştığı agresif lezyonlardır. Mukoepidermoid karsinomlar histolojik olarak solid şekilde büyüme gösteren epidermoid hücreler, mukus üreten hücreler (müköz) ve intermediate (ara) hücrelerden oluşmaktadır.

Epidermoid hücreler daha çok odaksal dağılım gösterir. Bol eozinofilik sitoplâzmaya sahip, nadir olarak keratinli veya keratinsiz yapı gösterirler. Yüksek dereceli mukoepidermoid tümörler, sitolojik atipi, yüksek mitoz frekansı ve nekroz alanlarının yanı sıra nöronal invazyon gösterme olasılıkları da yüksektir. Mukoepidermoid karsinomlar prognozunda oldukça fazla farklılıkların görüldüğü tümöral oluşumlardır. Histolojik olarak bu tümörler beş histopatolojik kriter (kistik komponent <%20, nöral invazyon, nekroz, 4 veya >4 mitoz/10BBA, anaplazi) içeren

sisteme göre düşük (low), intermediate (orta) ve yüksek (high) olmak üzere sınıflandırılmaktadır [89] Çizelge 1.5.

Müköz hücreler ayrı ayrı ya da kümelenmiş şekilde oluşumlar olup, soluk veya şeffaf sitoplâzmalı, hücre sınırı belirgin küçük perifer yerleşimli basık bir nükleusa sahip oluşumlardır.

İntermediate hücreler daha baskın olup, bazofilik yetersiz sitoplâzmalı bazal hücrelerden, epidermoid ve müköz hücrelerin bir karışımı gibi görünen daha bol, soluk eozinofilik sitoplâzmalı büyük oval hücrelerden oluşur.

Çizelge 1.5. Mukoepidermoid tümörleri sınıflandırmada kullanılan histopatolojik özellikler, puan değerleri ve skorları [89].

Histopatolojik Özellikler	Puan Değeri
Kistik komponent <%20	2
Nöral İnvazyon	2
Nekroz	3
4 veya 4> mitoz/10BBA (mikroskopik büyüme alanında)	3
Anaplazi	4
Tümör Derecesi	Puan skoru
Düşük dereceli	0-4
Orta dereceli	5-6
Yüksek dereceli	7 ve >7

Bu derecelendirme genellikle, Modified Healey Sistem, AFIP veya Brandwien Sistem'den birine göre yapılmaktadır [90]. Mikroskopik derecelendirme şekli, tümörlerin prognozunu belirlemek açısından önemlidir [91]. Bu derecelendirme sistemine göre çeşitli hücre tiplerinin gerçek oranları, hücre atipi, nekroz varlığı, mitoz indeksi ve tümör invazyonu değerlendirilmesi yapılır [92].

Tümörlerin prognozunda tümörün anatomik yeri, tümör derecesi, tümör evresi ve cerrahisi oldukça fazla önem taşımaktadır. Düşük dereceli tümörlerde sağkalım oranı daha yüksek (%95) ve lokal metastaz daha az görülürken yüksek dereceli tümörler daha düşük bir sağkalım oranı (%45) ve daha yüksek metastaz göstermektedir. Bu nedenle yüksek dereceli tümörler, düşük dereceli tümörlerden daha kötü bir prognoza

sahiptir ve daha yoğun bir tedavi gerektirmektedir. Prognoz, tümörün derecesine ve tümör tipleri arasındaki belirgin farka bağlıdır. Ölüm, genellikle cerrahi sınırları aşan ve sıklıkla kemik, akciğer ve beyine metastaz yapan yüksek dereceli ve yüksek nüks oranına sahip agresif tümörlerde görülmektedir. Bu tümörlerin tedavisi, boyun diseksiyonlu ya da diseksiyonsuz olarak tümörün uzaklaştırılması ile sağlanmaktadır. İleri evre tümörlerde radyoterapinin hafifletici bir etki sağladığı, ancak prognozda fazla etkili olmadığı gözlenmiştir [93].

1.10.2. Adenoid Kistik Karsinom

Adenoid kistik karsinom (AKK), majör ve minör tükürük bezlerinin nadir malign tümörleridir. Modifiye miyoepitelyal ve duktal hücrelerden oluşan bifazik malign epitelyal bir tümördür. Adenoid kistik karsinomlar tüm tükürük bezi malign oluşumlarının %5-10'unu ve baş-boyun bölgesindeki tüm malign oluşumların %1-2'sini oluşturmaktadır [94]. Bu tümörler, klinik ve patlojik olarak yavaş gelişen, agresif, geniş lokal doku infiltrasyonu ve perinöral invazyon gösterirler. Adenoid kistik karsinomlar cerrahi olarak primer tümörün uzaklaştırılmasından uzun yıllar sonra bile uzak metastaz eğilimi ve yüksek nüks oranına sahiptir [95]. Tümörler klinik olarak daha çok ilerlemiş evrelerde tespit edilirler. Yaşamın her döneminde görülseler de daha çok erişkinlerde, 40'lı ve 60'lı yaşlarda ortaya çıkmaktadır. Kadınlarda erkeklere oranla (3:2) biraz daha sık karşılaşılmaktadır [96]. Adenoid kistik karsinomların, histolojik olarak tübüler, kribriform ve solid olmak üzere üç tipi bulunmakta ve ayrıca aynı tümörde farklı histolojik yapılar bir arada yer almaktadır [97]. Tümörlerin histolojik tipi ile prognozu arasında bir ilişki olduğu ileri sürülmektedir [98].

Adenoid kistik karsinomların prognozunda önemli bir faktör solid komponent bileşenlerin yüzdesine göre yapılan histolojik derecelendirme değildir. Adenoid kistik karsinom doğal süreci çok iyi tanımlanmış bir tükürük bezi tümörüdür. Hastaların 10 yıllık sağkalım oranı yaklaşık %50 dir. Yapılan çalışmalar sonucunda adenoid kistik karsinom tümörlerinin histolojik tipi ile prognozu arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Kribriform ve tübüler tipte on yıllık sağkalım oranının %47,4 iken solid tipte bu oran %16,7 olarak belirlenmiştir. Ayrıca hasta sağkalımında tümör lokalizasyonu, klinik evre ve tümörün histolojik patterninin önemli paramtereler olduğu bildirilmiştir [99].

Biyolojik olarak oldukça agresif tümörler oldukları için klinik olarak tespit edildikten sonra bilinen en uygun tedavi yöntemi cerrahidir. Ancak cerrahi yolla çıkarıldıktan sonra da nüks etme yeteneklerinin yüksek olması, perinöral invazyon, lenf nodu tutulumu ve uzak metastaz görülmesi nedeniyle ilgi çekmektedirler [100]. Adenoid kistik karsinomlu hastalar daha çok ileri evrede tespit edildikleri için kötü uzun süreli prognoza sahiptir. Tümörlerin tedavisinde yaygın kullanılan yöntem radikal cerrahi, boyun diseksiyonu ve postoperatif radyoterapi gibi geleneksel yöntemlerdir [101, 102].

1.10.3. Pleomorfik Adenoma (Benign Mikst Tümör)

Pleomorfik adenoma (PA), mezenkimal ve epitelyal bileşenlerden oluşan heterojen morfoloji gösteren benign tümördür. Ayrıca duktal epitelyum ve mezenkimal hücre elemanları birlikte bulunduğu için, benign mikst tümör olarak da adlandırılmaktadır [103]. Pleomorfik adenoma, tükürük bezi benign tümörlerinin %40-45'ini oluşturmaktadır ve %80'ninden fazlası parotis bezinde görülmekte, ayrıca submandibular (%10), sublingual (%1) ve minör tükürük bezlerinde (%9) de rastlanmaktadır [104]. Çoğunlukla parotis bezinin superfasiyal lobunun alt polünde yerleşim gösterdikleri ve nadiren parotis bezinin derin lobundan parafaringeal boşluğa doğru uzanım gösterdikleri rapor edilmektedir [105]. Pleomorfik adenomlar yavaş gelişen ağrısız solid kitlelerdir, makroskopik olarak tümörler çoğunlukla düzgün sınırlı, psödopod çıkıntılara sahip, kesit yüzeyi parlak etsi görünümde ve ince bir kapsülle çevrilidir. Tümörler yaygın olarak erişkinlerde 30'lu ve 50'li yaşlarda ortaya çıkmakta ve erkeklere oranla kadınları daha sık (2:1) etkilemektedir [106, 107,]. Psödopod çıkıntılarının varlığı operasyon sonrası vakaların %20-25'inde multisentrik tümör odaklarının gelişmesine yol açmakta ve bu nedenle tümörün cerrahi olarak çıkarılması işlemi sırasında bir miktar normal dokununda çıkarılması önerilmektedir [106, 108].

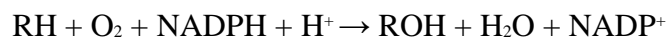
Pleomorfik adenom doğal seyrinde malign kanser odakları olguların %10-12'sinde gözlenmektedir [104, 106]. Malign dönüşüm daha çok PA'ların epitel hücrelerinde ortaya çıkmaktadır. Pleomorfik adenomlarda karsinomatoz odakların geliştiği ve bu lezyonların süresi ile malign dönüşüm riskinin arttığı iyi bilinen bir gerçektir [108]. Ayrıca bu tümörlerin malign tümörlere dönüşmesinde hastanın yaşı, tümör çapı, radyasyon ve tümör nüksünün de etkili olduğu ileri sürülmektedir [109].

1.11. Ksenobiyotiklerin Detoksifikasyon Mekanizması

1.11.1. Sitokrom P450 (CYP450, Faz I Enzimleri)

Sitokrom P450 (CYP) monooksijenaz enzimleri, ksenobiyotikleri metabolize eden Faz I enzimleridir ve ksenobiyotik mekanizmasının en önemli yolunu oluşturmaktadır [110]. İnsanların maruz kaldığı neredeyse tüm kimyasalların metabolizması, CYP süper ailesinin bir ya da birden fazla üyesi tarafından sağlanmaktadır [111]. CYP enzimleri, aminoasit dizileri ve protein ürünlerine bağlı olarak CYP gen ailelerine ve alt ailelere ayrılır. İnsanlarda şimdiye kadar saptanmış 20 gen ailesi ve yaklaşık 60 kadar p450 geninin olduğu tahmin edilmektedir [112]. CYP1, CYP2 ve CYP3 ailelerindeki bu enzimler, üst sindirim sistemi dokularıda dahil olmak üzere böbrek, adrenal bez, beyin, akciğer, hepatik ve ekstrahepatik dokularda dağılım göstermektedir. P450'ler genellikle endoplazmik retikulum ve mitokondri iç membranda bulunan zara bağlı enzimlerdir [113]. Ancak bazı veriler sitokrom P450'nin peroksizomlarda, farklı golgi bölmelerinde, çekirdek dış membranında ve plazma zarında da bulunduğunu göstermiştir [114]. CYP'ler biyolojik ve klinik süreçlerde rol oynayan kilit enzimlerdir. Bu enzimlerin substratı olarak, prostaglandin ve lökotrienler dahil yağ asitleri, steroidler ve ilaçlar, çevresel kimyasallar ve kirleticiler, yiyecek katkı maddeleri dahil birçok endojen ve eksojen bileşik görev yapar [112, 115]. Bununla beraber, kolesterol, safra asitleri, eikosanoidler, vitamin D3 gibi fizyolojik olarak önemli endojen bileşikleri de CYP enzimleri tarafından metabolize edildiği bilinmektedir [116, 117]. CYP enzimleri kimyasalların aktivasyonu ve detoksifikasyonunda yer alan yükseltgenme, indirgenme ve hidroliz gibi üç ayrı reaksiyon basamağında da yer alırlar.

En önemli faz I transformasyon reaksiyonu, oksidasyondur. Mitokondriyal sitokrom p450, iç zara bağlı bütünleyici zar proteinleridir ve matristeki iki çözünür protein, adrenodoksin ve NADPH-adrenodoksin redüktaz yoluyla NADPH'den monooksijenasyon reaksiyonları için elektron alırlar. Sadece bir molekül oksijen atomu ksenobiyotik bileşiğe transfer edilirken diğer oksijen atomu suya indirgenir [117]. Faz I transformasyon reaksiyonu sonucu oksidasyon reaksiyonu aşağıdaki gibidir.



Sitokrom p450 katalitik döngüsünde ksenobiyotikle CYP450'nin oksitlenmiş aktif bölgesi birleşir. Böylece ferrik-hem substrat kompleksi oluşur. Oluşan bu kompleks bileşik, NADPH'dan adrenodoksin redüktaz ve CYP450 redüktaz tarafından bir elektron aktararak indirgenir. Daha sonra CYP450 (Fe^{+3}) kovalent olmayan yollarla bağlanır, p450 (Fe^{+3}) NADPH'den gelen bir elektron transferiyle p450 (Fe^{+2}) indirgenir. Bunu takiben, oksijen (O_2), CYP450 (Fe^{+2})'ye, nonkovalent olarak bağlanır ve NADPH'dan CYP450 redüktaz kanalıyla gelen ikinci elektron ile indirgenerek, süperoksit radikaline (O_2^-) dönüşür. Oksijen, substrat-enzim kompleksine sokulur, ardından mikrozomal veya mitokondriyal elektron transfer bileşenleri aracılığıyla NADPH'den ikinci bir elektron transfer edilir. Substratın oksitlenmesi sonucu bir molekül su açığa çıkar. Sitokrom P450'ler genellikle hidrofobik substratı hidrofilik forma dönüştürerek vücuttan atılmasını kolaylaştırır ya da diğer enzimlerin işlevlerini kolaylaştırmak için suda çözünür hale getirir [118, 119].

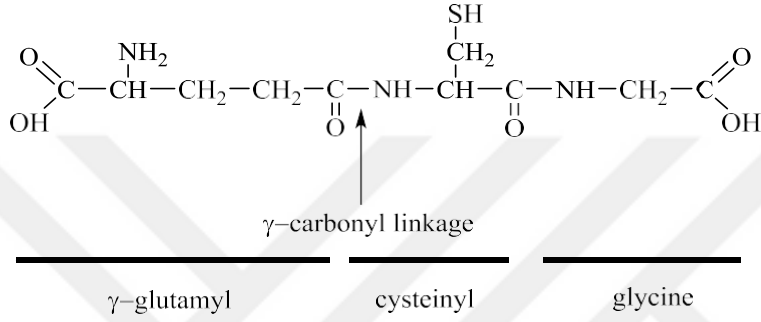
Hidroliz reaksiyonlarını katalizeyen enzimler, hücrelerin granüllü endoplazmik retikulumunda ve mitokondirisinde bulunmaktadır. Esterazlar, amidazlar, epoksit hidrolazlar ve karboksihidrolazlar tarafından endojen substratları ve ksenobiyotikleri hidroliz ederler [120].

1.11.2. Glutatyon

Aeorobik solunum yapan canlılarda metabolizma, bazal düzeydeyken dahi oksijen radikallerinin oluşumu kaçınılmazdır. Oluşan moleküler oksijenin (triplet) suya indirgenmesi sırasında süperoksit anyon radikali, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali oluşur. Serbest oksijen radikalleri ayrıca lipitlerle birleşerek alkil ya da peroksil radikalleri oluşturabilir. Bu reaktif oksijen türleri antioksidan savunma mekanizmaları tarafından sürekli inaktif hale getirilir. Bu mekanizmanın bozulması oksidatif strese yol açmaktadır. Böyle bir durumdan DNA, lipidler, proteinler ve karbonhidratlar dahil tüm biyolojik membran tipleri etkilenmektedir [121]. Geri dönüşümsüz hücre hasarını önlemek için oluşan oksijen radikalleri antioksidant savunma mekanizmasını indükler ve böylece redoks dengenin korunması sağlanır [122]. Hücre ve vücut sıvılarında oksidan saldırıları önleyerek oluşacak ürünlerden hücreleri koruyan birçok enzim sistemi vardır. Hücre içi redoks dengesinin

korunmasında rol oynayan enzimlerin başında glutatyon gelmektedir. Glutatyon hem hücre içi antioksidant savunmada hem de birçok metabolik süreçte rol oynamaktadır [123].

Glutatyon, glutamik asit, sistein ve glisinden oluşan bir tripeptittir. Glutatyon hücre içinde iki şekilde sentezlenir. İlk olarak glutamin-sistein ligaz, glutamin ve sisteini bağlayarak γ -glutamilsisteini oluşturur ve ardından glutatyon sentetaz, γ -glutamilsisteine glisini bağlayarak GSH molekülünü meydana getirir. Glutatyon veya γ -glutamilsisteine glisin yapısı Şekil 1.3’de gösterilmiştir [124].



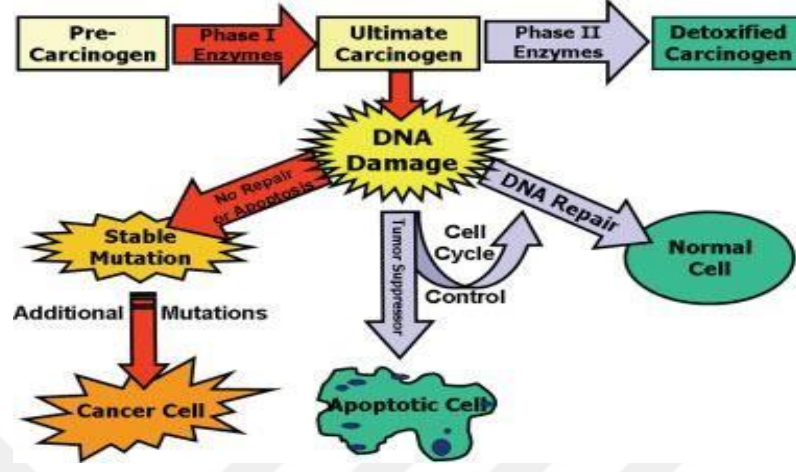
Şekil 1.3. Glutatyon’nun kimyasal yapısı [124].

Glutatyon organizmada, indirgenmiş ve okside glutatyon şeklinde bulunur. İndirgenmiş glutatyon hücrelerde en fazla bulunan formudur ve %90 dan fazlası hücre sitozolünde bulunur [124]. İndirgenmiş glutatyon hücre metabolizmasının ana ürünlerinden biri olup hücreleri oksidatif hasardan korur. Glutatyon, hücre sel detoksifikasyonda rol oynar ve detoksifikasyon reaksiyonlarına doğrudan katıldığı için bazı enzimlerin aktivatörü ya da substratı olarak görev yapar [124, 125]

1.11.3. Glutatyon S-Transferazlar (Faz II Enzimleri)

Glutatyon s-transferazlar, toksik ve elektrofilik çeşitli karsinogen bileşiklerin tripeptid glutatyonla konjugasyonunu sağlayan Faz-II dimerik enzim ailesidir [110, 126]. Konjugasyon sonucu elde edilen konjugat, suda daha fazla çözünür ve daha az toksiktir, dolayısıyla potansiyel DNA hasarına karşı koruma sağlar. Eğer reaktif

moleküller Faz II detoksifikasyonuna uğramazlarsa proteinlere, RNA ve DNA'ya zarar verebilirler. Detoksifikasyon mekanizması Şekil 1. 4'de gösterildiği gibidir.



Şekil 1.4. Karsinojenlerin metabolizmasında Faz-I ve Faz-II detoksifikasyon enzimleri [126].

Ksenobiyotiklerin ve karsinojenlerin metabolizması genellikle, Faz I ve Faz II olmak üzere ikiye ayrılır. Faz I basamağından çıkan ürünler yeterince suda çözünür formda değildir ve metabolize edilmeleri gerekir. Faz II reaksiyonunda büyük ve suda çözünür polar bir grup glukuronidasyon, metilasyon, asetilasyon ya da sulfasyon yolu ile eter ya da ester bağlarını oluşturarak bir hidroksil oksijene bağlanır [127].

Konjugasyon reaksiyonlarından en sık görüleni, glukuronik asit konjugasyon reaksiyonudur. Glukuronik asit konjugasyonunda glukuronil vericisi üridin difosfat glukuronozil transferaz (UDP-glukuronozil transferaz), hem endoplazmik retikulum hem de sitozolde bulunan çeşitli glukuronozil transferazların katalizörüdürler. Glukuronid, substratların oksijen, azot ya da kükürt gruplarına bağlanır ve glukuronat şeklinde atılmasını sağlar [128].

Sülfatlama reaksiyonlarında aril aminler, alkoller ve fenoller sülfatlanır. Sülfat vericisi adenozin 3'-fosfat-5'-fosfosülfat'tır. Sülfatlanmış bu konjugatlar iyonize oldukları ve suda daha kolay çözüldükleri için ortamdan hızlıca uzaklaştırılırlar. Sülfotransferazlar ayrıca steroidler, karbonhidratlar, proteinler gibi endojen bileşiklerin sülfatlanmasını kataliz ederler [128].

Glutasyon ile konjugasyonda glutasyon s-transferazlar, bazı ilaçlar ve karsinojenler gibi toksik bileşiklere karşı önemli bir savunma mekanizması oluştururlar. Glutasyon konjugatları atılmadan önce daha ileri derecede metabolize edilirler. Glutasyona ait glutamil ve glisin grupları, özgül enzimlerle uzaklaştırılır ve geri kalan sisteinin amino grubuna asetil grubu eklenir. Oluşan bileşik L-asetilsistein konjugatı, merkaptürik asite dönüştürülür ve idrarla atılır. Glutasyon molekülündeki sülfhidrül grubu, güçlü nükleofilik grup gibi hareket eder, epoksid veya bazı toksik bileşiklerin elektrofilik merkezlerine bağlanarak onların detoksifiye edilmelerini sağlar [129, 130].

Asetilasyon reaksiyonlarında, asetil KoA, asetil vericisi olarak fonksiyon görür. Bu reaksiyon karaciğerde bulunan asetil transferazlar tarafından katalizlenir. Asetil KoA' dan gelen asetil grubu ile endojen açıl grubu aktive olur ve böylece asetil-KoA ile ksenobiyotik bileşik kojuje olur [130].

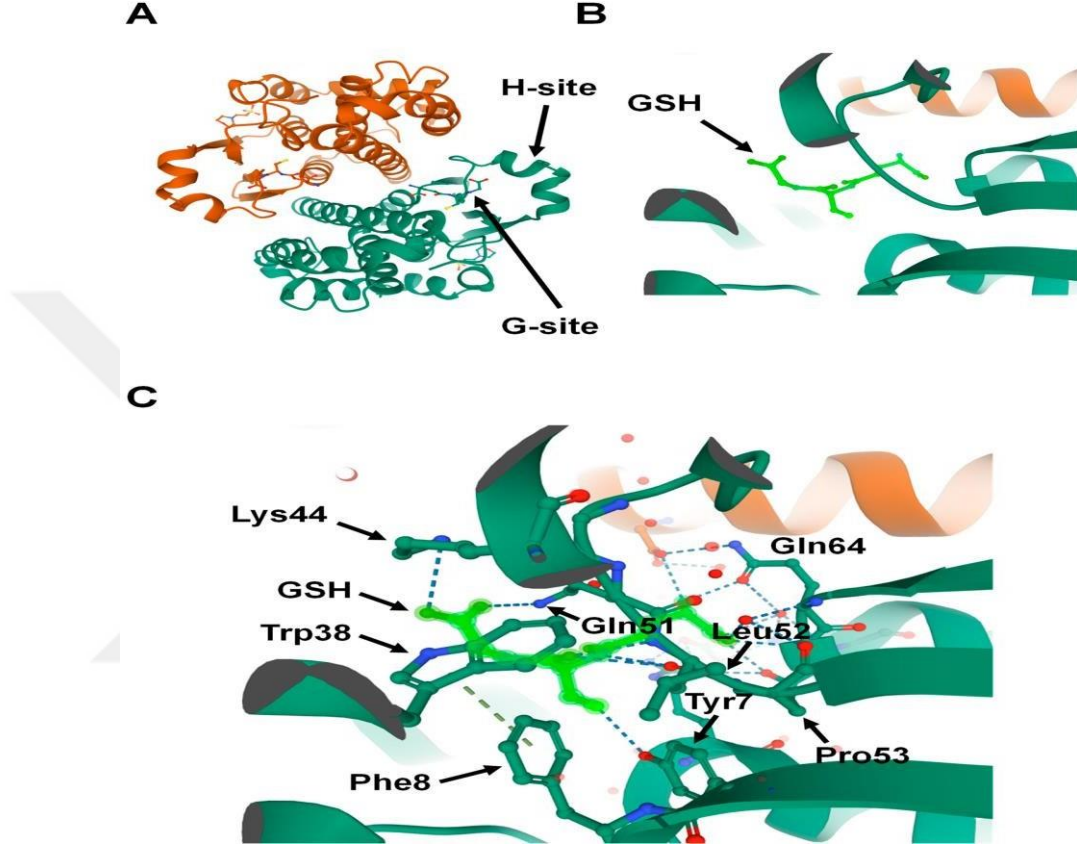
Metilasyonda, metil verici olarak S-adenozilmetiyonin kullanılır. Konjugasyonla ksenobiyotik bileşiğin fonksiyonel grubu maskelenir ve suda çözünürlüğü azaltılır. Metilasyon sonucu aminler, fenol yapısındaki bileşikler, tiyol grubu içeren maddeler aktif metil grupları ile N, O ve S metil konjugatlarını oluştururlar [129, 131].

1.11.4. Glutasyon S-Transferazların Yapısı ve Fonksiyonları

Glutasyon s-transferazlar detoksifikasyon metabolizmasında önemli bir rol oynadıkları için yapısal olarak tanımlanan ilk sitozolik enzimlerdir. Glutasyon s-transferaz enzimlerinden yapısı ilk belirlenen glutasyon s-transferaz pi (GSTPi)' dir [132]. Kristallografik çalışmalar sonucunda memelilerde GST'lerin benzer tersiyer bir yapı sergilediği ve homodimer enzimler olduğu tespit edilmiştir [133]. Sonradan yapılan yapısal analizlerle, sitozolik GST'lerin N-terminal ve C-terminal alandan oluşan temel bir protein katına sahip olduğu ortaya çıkmıştır.

N-terminal alanı GST'lerin protein yapısının yaklaşık üçte biridir ve bir β - α - β - α - β - β - α motifi oluşmaktadır. G bölgesini oluşturan N-terminal bölgedeki β - β - α motifi, tüm GST izoformlarında en korunmuş bölgedir. G bölgesi ayrıca glutasyonun gamma glutamil bölgesini tanıyarak indirgenmiş glutasyon için bir bağlanma bölgesi sağlar. C-terminal alanı GST'lerin protein yapısının üçte ikisini oluşturur. Bu alan H bölgesini oluşturan α -heliks bir yapıya sahiptir ve elektrofilik substratlara

bağlanmayı sağlar. Sınıflar arasında H bölgesi, G bölgesinin aksine şekil ve kimyasal yapı bakımından oldukça değişkendir. H bölgesindeki bu değişkenlik enzimin substrat seçiciliğinde belirleyici bir faktördür. Glutasyon s-transferaz Pi yapısı Şekil.1.5’de gösterilmiştir [134].



Şekil 1.5. Glutasyon S-Transferaz Pi-1 yapısı (GSTP1) [135].

Glutasyon s-transferazların temel fonksiyonu, toksik ve karsinojenik bileşiklerin elektrofilik bölgesine glutasyonun konjugasyonunu katalizleyerek bu biyolojik olarak aktif bileşiklerin daha az reaktif ve hücrelerden daha kolay atılan ürünlere dönüşmesini sağlamaktadır [135]. Detoksifikasyondaki rollerine ek olarak GST’ler, hücre sinyalizasyonu, post-translasyonel modifikasyon ve kemoterapötik ajanlara karşı direnç oluşumunda, aminoasitlerin, steroid hormonların ve eikosanoidlerin sentezinde ve inaktivasyonunda rol oynayan önemli enzimlerdir. Örneğin GST Mu ve Pi sınıfı, mitojen aktive edici protein kinaz yolunun regülasyonunu sağlayarak c-Jun N-terminal kinaz-1 ve apoptozis sinyal regüle edici kinazlarla doğrudan

etkileşerek hücre sağkalım ve hücre ölüm sinyalizasyonunu sağlar [135, 136]. Ayrıca GST'lerin tüm hücre tiplerinde ve agresif kanser hücrelerinde yüksek düzeyde ekspresyonu, tümörün ilerleyişinde ve kanserin patogenezinde kilit rol oynadığı gösterilmektedir. Son zamanlarda redoks onkoloji alanında yapılan çalışmalar GST'lerin yeni işlevlerine ışık tutmaktadır [136].

1.11.5. Glutasyon S-Transferazların Sınıflandırılması

Glutasyon s-transferazlar doğada bakteriler, mayalar, küfler, yumuşakçalar, kabuklular, solucanlar, kurbağalar, böcekler, bitkiler, balıklar, kuşlar ve memeliler de dahil birçok organizmada bulunmaktadır [137]. Glutasyon s-transferaz enzimleri omurgalılarda, aminoasit dizilerine, primer yapılarına, sekans homolojilerine, izoelektrik noktalarına ve enzimlerin kimyasal davranışlarına göre membrana bağlı mikrozomal, mitokondriyal ve sitoplazmik olmak üzere üç grupta sınıflandırılır [138].

Sitozolik GST'ler en az sekiz sınıftan ve her bir sınıf çoklu izoenzimlerden oluşur. Bu sınıfların en geniş grubu insanlarda bulunmaktadır. Buna göre sitozolik GST'ler GST Mü (GSTM1-1, GSTM2-2, GSTM3-3, GSTM4-4, GSTM5-5), GST Alfa (GSTA1-1, GSTA2-2, GSTA3-3, GSTA4-4, GSTA5-5), GST Pi, GST Teta (GSTT1-1, GSTT2-2), GST Sigma, GST Zeta ve GST Omega (GSTO1-1, GSTO2-2) olmak üzere yedi sınıfa, membrana bağlı GST'ler MGST1, MGST2 ve MGST3 olmak üzere üç sınıfa ve mitokondriyal GST ise GST Kappa (GSK1-1) olarak sınıflandırılmaktadır [138, 139].

1.11.6. Glutasyon S-Transferaz Ailesi

1.11.6.1. Glutasyon S-Transferaz Omega Sınıfı

Glutasyon s-transferaz omega (GSTO1), GST üst ailesinin diğer üyelerinden yapı ve işlev olarak farklı özelliklere sahip, yeni tanımlanmış bir GST alt ailesidir. Hem GSTO1 hem de GSTO2 altı ekzondan oluşur ve 10q24.3 kromozomu üzerinde 7.5 kb ile ayrılırlar [140, 141]. Diğer GST'lerin aksine enzimin aktif bölgesinde serin veya tirozin yerine sistein bulunmaktadır [140]. İnsanlarda tanımlanmış iki izoenzimi (GSTO1 ve GSTO2) bulunmaktadır. Bu GST'ler, yaygın GST substratları (1-kloro-2,4-dinitrobenzen gibi) ile zayıf katalitik aktiviteye sahiptir. Ancak GSH'a bağımlı

tiyoltransferaz, dehidroaskorbat redüktaz ve monometilarsonat redüktaz aktivitesi sergileyerek ryanodin reseptörleri tarafından Ca^{+2} salımını modüle ederler [141]. İnsanlarda; karaciğer, kolon, kalp, yumurtalık, pankreas, prostat ve dalak dahil olmak üzere birçok dokuda yüksek GSTO1 ekspresyonu görülür. GSTO2 ekspresyonu yaygın olarak testiste görülür. Bu enzimlerin oldukça yaygın dağılım göstermeleri önemli biyolojik fonksiyonlara sahip olduklarını göstermektedir [142].

1.11.6.2. Glutasyon S-Transferaz Pi Sınıfı (GSTPi)

Glutasyon s-transferaz pi sınıfı, en yaygın tanımlanan ve kromozom 11q13.3 üzerine lokalize olmuş enzim formudur. Glutasyon s-transferaz pi geni yaklaşık 4 kb uzunluğunda, 715 baz mRNA ve 210 aminoasiti kodlayan 7 ekson ve 6 introndan oluşur [143]. Karaciğer dışında birçok dokuda bulunan enzimdir. Glutasyon s-transferaz pi geni insanlarda polimorfik olup, 105 ve 114. aminoasit dizilişlerindeki değişikliklere göre dört aleli bulunmaktadır. 105. aminoasitte izolosin yerine valin ve 114. aminoasitte alanin yerine valin bulunduğu enzim polimorfik olup katalitik bölgesindeki değişiklikten dolayı farklı etki gösterir. Glutasyon s transferaz pi apoptozun önlenmesinde rol oynar. Artan ekspresyonu çoğu insan malignitelerinde bulunur ve ilaç dirençliliği ile ilişkilendirilir. Glutasyon s-transferaz pi prostat, baş-boyun skuamoz hücreli kanser, mide, akut lenfoblastik lösemi, kronik lenfoid lösemi, akciğer, kolon, ovaryum, böbrek, testis, mesane kanseri gibi pek çok insan tümörlerinde yüksek düzeyde eksprese olduğu bulunmuştur [143, 144]. Glutasyon s-transferaz pi bazı çalışmalarda doksorubisin, sisplatin, taksol, karboplatin gibi kemoterapötik ilaçlara dirençle ilişkili olduğu bulunmuştur [144].

1.11.6.3. Glutasyon S-Transferaz Alfa Sınıfı

İnsan GST alfa sınıfı, kromozom 6p12 üzerine lokalize olmuş genler tarafından kodlanır (145). Alfa sınıfı GST'lerin insanlarda tanımlanmış beş izoenzimi (GSTA1, GSTA2, GSTA3, GSTA4 ve GSTA5) bulunmaktadır [134]. Bu izoenzimlerden GSTA1 ve GSTA2 insan dokularında en bol eksprese edilenleridir. Karaciğerde eksprese edilen GST'lerin yarısından fazlasını oluşturmaktadır [146]. GSTA1 ve GSTA2'nin ekspresyonundaki değişikliğin, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunu etkilediği düşünülmektedir.

Glutasyon s-transferaz alfa sınıfı GST'ler, insan dokularında böbrek, adrenal doku ve karaciğerden eksprese edilmektedir. Alfa sınıfının üyeleri yüksek glutasyon

peroksidaz aktivitesine sahip olan GSTA sınıfı üyeleri, hücrelerin reaktif oksijen türlerine ve peroksidasyon ürünlerine karşı korunmasında önemli rol oynar [147]. Ayrıca hem GSTA1 hem de GSTA2 genlerinin polimorfik olduğu gösterilmiştir. Glutasyon s-transferaz alfa sınıfı düzenleyici sekansının polimorfik olması nedeniyle ekspresyonlarının fazla varyasyon gösterdiği de bilinmektedir.

1.11.6.4. Glutasyon S-Transferaz Mu Sınıfı

Glutasyon s-transferaz Mu sınıfı kromozom 1p13.3 üzerine lokalize olmuş 10 ekzon içeren enzim formudur [148]. Tanımlanmış beş izoenzim formu (M1'den M5'e kadar) vardır. Bu genlerin ekspresyonu dokular arasında oldukça fazla varyasyon gösterir. Glutasyon s-transferaz Mu sınıfı GST'lerden en fazla eksprese olan GSTM1' dir [149]. Böbrek, beyin, kemik, akciğer, uterus, testis, paratiroid, prostat ve oral mukaza dahil birçok organda eksprese olmaktadır. İnsanlarda M1 gen polimorfizmi, %40-%60 oranında otozomal dominant olarak kalıtılmaktadır. Bu gen polimorfizmleri bireylerin kanserojenlere ve toksinlere karşı duyarlılığının yanı sıra bazı ilaçların toksisitesini ve etkinliğini artırarak kanserojenlere duyarlılıkla ve birtakım kanserlerdeki artışla ilişkilendirilmektedir. [150]. Bu enzimler ayrıca lipid peroksidasyonu sonucu oluşan 4-hidroksi alkenlerin detoksifikasyonunda yüksek katalitik aktiviteye sahiptirler.

1.11.6.5. Glutasyon S-Transferaz Teta Sınıfı

Glutasyon s-transferaz teta kromozom 22q11.2 üzerine lokalize olmuş yaklaşık 50 kb aralıkla sıralanmış iki genden (GSTT1 ve GSTT2) oluşmaktadır. Bu izoenzimler benzer yapıya sahiptirler ve GSTT1 8.1 kb ve GSTT2 ise 3.2 kb uzunluğundadır. İnsanlar arasında ekspresyonları çok geniş dağılım göstermektedir [151]. Yapılan çalışmalar sonucunda GST teta, hemen hemen tüm organizmalarda bulunmaktadır. İnsanlarda daha çok beyin, kalp, böbrek, kolon, omentum, overler, paratiroid, testis, timus, tonsil, uterus ve sinoviyal membranlardan eksprese olduğu bilinmektedir. Bilinen substratları arasında tütün dumanında bulunan polisiklik hidrokarbonlar ve hava, su, gıdalarda bulunan çevresel karsinojenler ve ilaçlar gelmektedir [152]. Bu enzim sınıfında görülen genetik varyasyon sonucunda tüm gende görülen delesyon enzimin aktivitesini azaltmaktadır. Glutasyon s-transferaz teta sınıfında görülen delesyonlar özellikle bazı ırksal farklılıklara neden olmaktadır. Örneğin Kafkas popülasyonlarında gen polimorfizmi %18 iken bu oran Çin ve Kore popülasyonlarında

%60 kadardır. GSTT1 gen polimorfizmi dünya nüfusunun yaklaşık %38’inde görüldüğü tahmin edilmektedir [153]

1.11.6.6. Glutasyon S-Transferaz Zeta sınıfı

Kromozom 14q24.3 üzerine lokalize olmuş 29 kDa’luk bir protein kodlayan 10.9 kb’lık tek bir gendir. Halojenlenmiş asitlerin GSH’a bağlı transformasyonlarının yanı sıra fenilalanin ve tirozinin katabolik yolunda önemli bir izomeraz olarak rol oynar [154]. Fenilalanin ve tirozinin katabolize edildiği böbrek proksimal tübül hücreleri ve hepatositlerde eksprese edilir. Bu enzimin eksprese edilememesi, fenilketonüri, tirozinemi ve alkaptonüri gibi çeşitli metabolik rahatsızlıklara yol açmaktadır. GSTZ1’in cDNA’sındaki 3. eksonda görülen iki nükleotid farklılığı DNA üzerindeki polimorfizm analizlerinin yapılmasını sağlar ve buda fenilalanin katabolizma yolundaki kusurların araştırılmasına imkan tanır. GST zeta diğer GST’lere benzer özellikte olup glutasyonun bağlanması için bir G bölgesine sahiptir. İnsalarda beyin, akciğer, kolon, kalp, kas ve testis olmak üzere çeşitli organ ve dokulardan eksprese edilmektedir [155,156].

1.11.6.7. Glutasyon S-Transferaz Sigma Sınıfı

Glutasyon s-transferazların en büyük alt ünitelerinden biri olan sigma sınıfı, doğada hem omurgalılarda hem de omurgasızlarda bulunan sitozolik GST ailesine ait bir enzimdir. Memelilerde, sadece bir sigma sınıfı GST tanımlanmıştır. Memeli GST sigma enzimleri sırasıyla 28 ve 41 kb genler tarafından kodlanır ve beş introna bölünmüş altı ekzondan oluşur. Sigma sınıfı GST’ler, diğer sitozolik GST sınıfları gibi, aktif bölgede genişletilmiş bir konformasyonda GSH’yi bağlayan N-terminal tioredoksin benzeri bir alana sahiptir [157].

Memelilerde prostaglandin sentetaz aktivitesi gösterir ve J2 serisi prostoglandinlerin sentez yolunu başlatır. Prostaglandinlerin sentezlenme sürecini başlatarak pro ve anti inflamatuvar süreçte yer alırlar. Prostaglandin 2 (PDG2) inflamatuvar süreçte erken bir faz aracıdır. Sigma sınıfı GST’lerin yüksek düzeyde ekspresyonu PDG2’nin aşırı üretilmesine ve fetal fibrosizse yol açmaktadırki bu özellikleri, bu sınıfı benzersiz yapmaktadır.

Ayrıca sigma sınıfı GST’ler lipid peroksidasyon ürünlerinin inaktive edilmesinde, biyosentetik reaksiyonların katalizlenmesinde önemli rol oynarlar. Memelilerde

akciğer, karaciğer, plasenta, dalak, kemik iliği, deri ve adipoz dokudan eksprese edilirler [158].

1.11.6.8. Glutasyon S-Transferaz Kappa Sınıfı

GST kappa sıçan karaciğeri mitokondri matriksinden ilk kez izole edilmiştir. İnsanlarda cDNA genom dizi karşılaştırmaları sonucunda kromozom 7q34 üzerine lokalize yaklaşık 5.68 kb uzunluğunda yedi intronla ayrılmış sekiz ekzon içermektedir [159]. Kappa sınıfı GST'ler hem yapısı hem de hücrealtı lokalizasyonu bakımından mitokondri ve peroksizomlarda sitozolik GST'lerden farklıdır [160]. Glutasyon s-transferaz kappa (GSTK1) glutasyon kojugasyon aktivitesi, etakrinik asit, p-nitrobenzil klorür, p-nitrofenilasetat ve trans-trans-nona-2,4-dienal substrat olarak kullanır. GST Kappa peroksidaz aktivitesine sahip olduğundan, peroksizomlarda veya mitokondride oluşan lipid peroksitlerin detoksifikasyonunda önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Aşırı kilolu/obez deneklerde GSTK1'in mRNA seviyelerinin zayıf kontrollerdekinden önemli ölçüde düşük olduğu ve adipoz doku GSTK1 mRNA seviyeleri ile vücut kitle indeksi arasında ters korelasyon olduğu bilinmektedir. GST kappa aynı zamanda adiponektin biyosentezinin multimerizasyonun kilit düzenleyicisidir ve proteinlerin doğru katlanmasını ve birleştirilmesini kolaylaştırmak için bir şaperon olarak işlev gördüğü düşünülmektedir. Adiponektin ekspresyonu, insülin direnci, obezite ve diyabet ile ilişkili olduğundan, GSTK1 ekspresyon seviyesi bu metabolik bozukluklarda önemli bir faktör olabilir. Ayrıca, GSTK1 promotöründeki bir polimorfizm, insülin sekresyonu ve yağ birikimi ile ilişkilendirilmiştir. Genom çalışmaları sonucunda, çoğu omurgalı genomunun GSTK1 geninin tek bir kopyasını içerdiğini göstermektedir. Bakterilerden ökaryotik canlılara geniş bir dağılım gösteren bu enzimler insanlarda mide, böbrek, adrenal bez ve karaciğer dokularından eksprese edilmektedir [160].

1.11.7. Glutasyon S-Transferazların Substratları

Glutasyon s-transferazlar, indirgenmiş glutasyonun tiyol grubu ile elektrofilik merkezli ksenobiyotik bileşiklerin elektrofilik bölgelerini nötralize ederek oksidatif strese neden olan bileşikleri, çevresel kirleticileri ve kanserojen ilaçları detoksifiye eder. Glutasyon s-transferazlar çok substratlı bir enzimdir. alkiler, aril halidler, laktonlar, epoksitler, kinonlar, esterler ve aktiflenmiş akenler, kolesterol-5,6-oksit,

4-hidroksil-2-nonenal, dopaminokrom, adenin propenal, aminokrom, 9-hidroperoksilinoleik asit gibi endojen moleküllerin, aflatoksin B1-8,9-epoksit, heksaklorobütadien, bütadien, stiren oksit, akrolein, trikloroetilen, metilen klorid, nitrokinolin oksit, etilen oksit gibi çevresel karsinojenler ve DDT, lindan, metil paration ve atrazin gibi pestisitlerin ve sisplatin, siklofosfamid, klorambusil, fosfomisin tiyotepe, nitrogliserin ve asetaminofen, adriamisin gibi bir çok farklı kimyasal ya da metabolik ara ürünler GST'lerin substratlarını oluşturmaktadır [161].

Glutasyon s-transferazlar, hücrelerde çeşitli yollarla oluşan zararlı bileşiklerin detoksifikasyonunun yanı sıra, hormonların biyosentezinde, taşınmasında ve substratı olmayan yağ asitleri, safra tuzları ve bilirubin gibi bileşiklere bağlanarak hücreden uzaklaştırılmasında rol alırlar [162].



2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Kullanılan Malzemeler

2.1.1. Kullanılan Laboratuvar Cihaz ve Malzemeleri

- Etüv (Binder ED53)
- Tam otomatik rotary mikrotom (Leica RM2255)
- Vorteks (Heidolph- MRHei)
- Ultra distile su sistemi (Elga Purelab Optia)
- Isıtıcılı manyetik karıştırıcı (IKA C-Mag H58)
- Ocak (Arçelik 021)
- Buzdolabı (Beko-9621)
- Düdüklü tencere (Hisar)
- Boyama tablası (Biogen)
- Mikrotom bıçağı (Shandon MB35)
- Lamel (24x50 Isolab)
- Poly-L-lysin kaplı lamlar (Thermo)
- Otomatik pipet seti (CAPP)
- Işık mikroskobu (Zeiss-Primostar)
- -80 °C Derin Dondurucu (GFL6485)
- Mezür, Beher, Erlenmayer, balon joje

2.1.2. Kullanılan Kitler ve Antikorlar

- 3.3-Diaminobenzidine kromojen kit (GBI Lab)
- Sitrat Tamponu (Boster)
- Fosfat Tamponu (Boster)
- Ksilol (Merck)
- Alkol (Merck)
- %3'lük H₂O₂ (Hidrojen Peroksit) (Boster)

- Anti-GSTM1 (Sc-517262; Santa Cruz Biotechnology., Inc), 1:50 oranında dilüe edildi
- Anti-GSTT1 (anti GST-Theta1 from Cloud Clone Corp. TX, USA), 1:200 oranında dilüe edildi.
- Anti-GSTA1 (bs-13396 R; Bioss Inc), 1:50 oranında dilüe edildi.
- Anti-GSTS1 (sc-30,067; Santa Cruz Biotechnology, Inc), 1:200 oranında dilüe edildi.
- Anti-GSTO1 (ab88604; Abcam Inc., Cambridge, UK), 1:150 oranında dilüe edildi.
- Anti-GSTP1 (E-AB-40418, Elabscience Biotechnology Inc, USA), 1:500 oranında dilüe edildi.
- Anti-GSTK1(ERP 1939; Origen Technologies Inc, Rockville, MD), 1:250 oranında dilüe edildi.
- Anti-Bcl-2 (E-AB-64075, Elabscience Biotechnology Inc, USA), 1:50 dilüsyon oranında dilüe edildi.
- Anti-Caspase-3 (E-AB-63602, Elabscience Biotechnology Inc, USA), 1:100 oranında dilüe edildi.
- Anti-p53 (E-AB-32469, Elabscience Biotechnology Inc, USA), 1:300 oranında dilüe edildi.
- Anti- Ki67 (E-AB-63523, Elabscience Biotechnology Inc, USA), 1:500 oranında dilüe edildi.
- Ant-Cd44 (E-AB-63249, Elabscience Biotechnology Inc, USA), 1:50 oranında dilüe edildi.
- Anti- Cerb-B₂ (E-AB-32198, Elabscience Biotechnology Inc, USA), 1:400 oranında dilüe edildi.
- Anti-p27 (E-AB-60071, Elabscience Biotechnology Inc, USA), 1:100 oranında dilüe edildi.

2.2. Materyal

2.2.1. Hasta Dokularının Toplanması ve Klinik Bilgiler

Çalışma için Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Kartal Dr. Lütfi Kırdar Şehir Hastanesi'nden 2020/514/213/1 no'lu karar ile etik kurul onayı alınmıştır. Bu çalışma Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2020/035 no'lu proje ile desteklenmiştir.

Hasta dosyalarından elde edilen bilgiler geriye dönük olarak incelenmiştir. Hastaların yaş, cinsiyet, tümör lokalizasyonu, histopatolojik tanı, tümör çapı ve nüks durumu dosya kayıtlarından ve hastane elektronik veri tabanından elde edilmiştir.

Çalışmamıza Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Kartal Dr. Lütfi Kırdar Şehir Hastanesi Patoloji Kliniği'nde 2010-2020 yılları arasında tükürük bezi kanseri tanısı almış toplam 61 hasta dahil edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen hastaların klinik bilgiler şu şekildedir: Hastaların 20'si (%32,8), adenoid kistik karsinom, 10'u (%16,4) mukoepidermoid karsinom ve 31'i (%50,8) pleomorfik adenom tanılı hastalardan oluşmaktadır. Hastaların 11'inde (%18) nüks görülürken, 51'inde (%52,0) nüks tespit edilememiştir. Çalışmaya dahil edilen hastaların klinik ve demografik verileri Çizelge 2.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1. Adenoid kistik karsinom, mukoepidermoid karsinom ve pleomorfik adenomalı hastaların klinik ve demografik verileri

	n	%
Tümör Tipi		
Adenoid kistik karsinom	20	32.8
Mukoepidermoid karsinom	10	16.4
Pleomorfik adenom	31	50.8
Cinsiyet		
Kadın	31	50.8
Erkek	30	49.2
Nüks		
Yok	50	82.0
Var	11	18.0

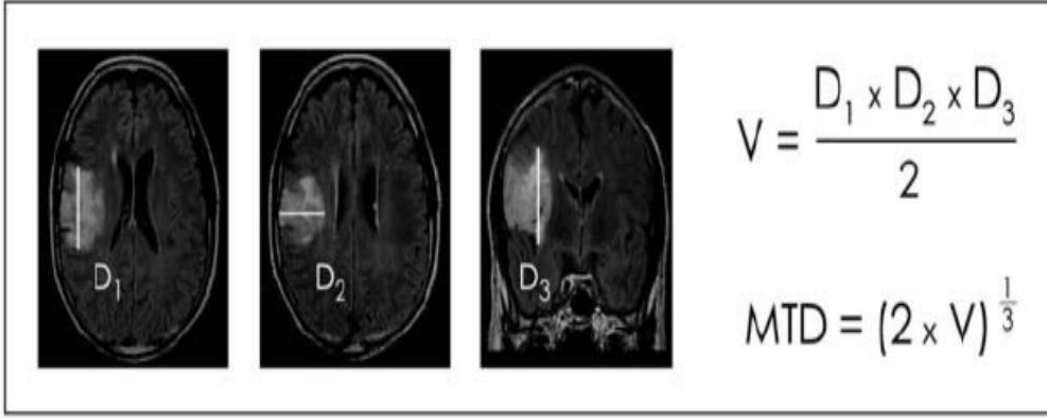
Çalışmaya dahil edilen hastaların 31'i (%50,8) kadın 30'u (%49,2) erkektir. Hastaların ortalama yaşı 47.26 ± 15.24 (minimum: 16, maksimum:77) olup medyanı 48 dir. Hastaların tümör boyutu minimum 0,1 cm maksimum 7 cm olup, ortalama

tümör çapı 2.85 ± 1.42 olarak belirlenmiştir. Hastaların ortalama yaşı ve tümör boyutu verileri Çizelge 2. 2’de gösterilmiştir. Ortalama tümör çapı aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

Tümör boyutuna ilişkin üç ölçü ile ortalama tümör çapı hesaplandı:

$$\text{Tümör hacmi: } V = \frac{D_1 \times D_2 \times D_3}{2}$$

$$\text{Ortalama Tümör Çapı: } MTD = (2 \times V)^{\frac{1}{3}} \text{ (mean tumor diameter)}$$



Çizelge 2.2. Adenoid kistik karsinom, mukoepidermoid karsinom ve pleomorfik adenomalı hastaların yaş ve tümör boyutu verileri

	Ortalama	Standart Sapma	Medyan	Minimum	Maximum
Yaş	47.26	15	48	16	77
	Ortalama	Standart sapma	Medyan	Minimum	Maximum
Tümör boyutu	2.851	1.5	2.8	0.1	7

Çalışmaya dahil edilen pleomorfik adenomalı hastaların parafin bloklardan Glutasyon-S-Transferaz alfa (GSTA-1), sigma (GSTS-1), teta (GSTT-1), kappa (GSTK-1), mu (GSTM-1), omega (GSTO-1) izoenzimlerinin immünohistokimyasal boyaması için 4-5 μm kalınlığında ince kesitler alındı. İmmünohistokimyasal boyanma yoğunluğuna göre GST izoenzimlerin protein ekspresyonu 0,1, 2 ya da 3 olarak skorlandı.

GST izoenzimlerinin protein ekspresyonlarını belirlemek için çalışmaya 26 pleomorfik adenomalı hasta dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen 26 hastanın 12’si (%46,2) kadın ve 14’ü (%53,8) erkekti. Hastaların ortalama yaşı $43.19 \pm (15.64)$ ve ortalama tümör çapı $2.17 \pm (0.86)$ cm olarak saptandı. Tümör lokalizasyonuna göre

11 hasta (%42,3) sağ parotis yerleşimli, 7 hasta (%26,9) sol parotis yerleşimli ve 8 hastanın (30.8) lokalizasyonu ise bilinmemektedir. Pleomorfik adenomalı hastaların klinik ve demografik verileri Çizelge 2.3’de gösterilmiştir.

Çizelge 2.3. Pleomorfik adenomalı hastaların klinik ve demografik verileri

Cinsiyet	n	Mean (Standard Deviation)	%
Kadın	12		46.2
Erkek	14		53.8
Yaş	26	43.19(15.64)	100
Ortalama tümör çapı (MTD)	26	2.17(0.86)	100
Tümör lokalizasyonu			
Sol Parotis	7		26.9
Sağ Parotis	11		42.3
Belinmeyen lokalizasyon	8		30.8

2.3. Yöntem

2.3.1. İmmunohistokimyasal Boyama Yöntemi

Belirlenen hasta dokularında her bir antikor için 4-5 µm kalınlığında poly-L-lysin kaplı lamlara ince kesitler alındı. Deparafinizasyon için dokular etüvde 70 °C’de 1 saat, ardından sıcak ksilolde 10 dakika bekletildi. Etüvden çıkarılan preparatlar soğuk ksilolde 10 dakika bekletildi. Ardından azalan konsantrasyonlardaki alkol serilerinde birer dakika tutuldu. Distile suda 1-2 dakika bekletilen preparatlar endojen peroksidaz aktivitesini inhibe etmek için 10 dakika H₂O₂ blokajında tutuldu. Çeşme suyunda 5 dakika yıkanan preparatlar PBS (Phosphate Buffer Saline) tamponuna batırılıp çıkarıldıktan sonra antijen retrieval solüsyonu (Citrated Buffer pH 6,5, Boster Biological Technology, Pleasanton, CA, USA) içerisinde düdüklü tencerede 3 dakika kaynatıldı. Nonspesifik boyanmanın engellenmesi amacıyla protein blocking (SHP125) (ScyTek Laboratories, West Logan, UT, USA) solüsyonunda 10 dakika bekletilen preparatlar 1 saat süreyle uygun dilisyon oranlarında hazırlanan antikorlarla GSTP1, GSTT1, GSTO1, GSTK1, GSTS1, GSTA1, GSTM1, Bcl-2, Caspase-3, p53, p27, Cd44, Cerb-B₂, Ki67 oda

sıcaklığında bir saat inkübasyona bırakıldı. Ardından preparatlar 3 kez PBS tamponuyla yıkandı. Sekonder antikor streptavidin-peroksidaz kompleksinde (SHP 125) (ScyTek Laboratories, West Logan, UT, USA) 10 dakika tutuldu. Ardından 3 kez PBS tamponuyla yıkanan preparatlar 5 dakika DAB'da (3,3'Diaminobenzidine) tutulduktan sonra 1 dakika distile suda yıkandı. 2 dakika hematoksilende bekletilen preparatlar çeşme suyunda yıkandı. Ardından artan alkol serilerinde 1'er dakika tutuldu, havada kurutulduktan sonra ksilolda 5 dakika bekletildi. Son olarak Kanada balzamu ile preparatlar kapatıldı. İmünohistokimyasal değerlendirmeler ışık mikroskopunda dokuların boyanma yoğunluklarına göre; (0): negatif boyanma (boyanma yok), (+1): hafif boyanma (protein ifadesi var), (+2): orta şiddette protein ifadesi, (+3): şiddetli boyanma ifadesi şeklinde yapıldı

2.3.2. İstatistiksel Analiz Yöntemleri

Analizler R Studio Version 1.4.1103 kullanılarak yapılmıştır. Cinsiyet ile bcl-2, kaspaz-3 ve GST Pi arasındaki ilişki için Mann Whitney-U testi kullanılarak analiz edildi. Yaş, tümör boyutu ve bcl-2, GSTPi, kaspaz-3 arasındaki ilişki için Spermán's rank testi kullanılarak analiz edildi. Tümör grupları ve bcl-2, kaspaz-3 ve GSTPi arasındaki ilişki Kruskal Wallis testi kullanılarak analiz edildi. Cinsiyet gruplarına göre normal ve tümör dokularında GST izoenzim ekspresyonu Mann Whitney U testi kullanılarak analiz edildi. GST ifadesi ile yaş arasındaki ilişkiler Spearman'ın rho korelasyon katsayısı kullanılarak analiz edildi. Normal ve tümör dokularında tümör lokalizasyonuna göre GST izoenzim ekspresyonu Kruskal Wallis H testi kullanılarak karşılaştırıldı ve test sonucunda lokalizasyonlar arasında istatistiksel anlamlılık olması durumunda post-hoc ikili testler kullanıldı. Normal ve tümör dokuları GST ekspresyonu ve MTD arasındaki ilişkiler Spearman'ın rho korelasyon katsayısı kullanılarak analiz edildi. Normal ve tümör dokularında GST izoenzim ekspresyonu, Wilcoxon signed-rank testi kullanılarak karşılaştırıldı. Sonuçlar $p < 0.05$ için anlamlı olarak kabul edildi.

3. BULGULAR

Çalışmamızda tükürük bezi malign ve benign tümörlerinde moleküler belirteçlerin ve GST izoenzimlerinin protein ekspresyonları immünohistokimyasal metod kullanarak araştırıldı. Çalışmaya dahil edilen 31 benign ve 30 malign tümörlü dokuda moleküler belirteçlerden p53, Ki67, p27, Bcl-2, Kaspaz-3, Cd44 ve Cerb-B2 ve GST izoenzimlerinden GSTPi (GSTP1) ekspresyon düzeylerini ve ayrıca pleomorfik adenomalı 26 hasta dokusunda GST mu (GSTM1), GST omega (GSTO1), GST sigma (GSTS1), GST kappa (GSTK1), GST alfa (GSTA1) ve GST teta (GSTT1) protein ekspresyon düzeylerini araştırdık. Benign ve malign tümörlerde immünohistokimyasal olarak bcl-2, kaspaz-3 ve GSTP1 protein ekspresyonu gözlenirken, P53, P27, Ki67, CD44, Cerb-B2'nin benign ve malign tümörlerde eksprese olmadığı gözlemlendi. Moleküler belirteçlerin benign ve malign tümörlerdeki ekspresyonlarının boyanma frekansları ve yüzdeleri Çizelge 3.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Adenoid kistik karsinom, mukoepidermoid karsinom ve pleomorfik adenom tümör tiplerinde bcl-2, kaspaz-3 ve GSTP1 ekspresyon frekans ve yüzdeleri

	Bcl-2	Kaspaz-3	GSTP1
	n (%)	n (%)	n (%)
Adenoid kistik karsinom	20(100)	20(100)	10(50)
Mukoepidermoid karsinom	10(100)	10(100)	7(70)
Pleomorfik adenom	29(93.5)	30(96.8)	23(74.2)

Bcl-2 ve kaspaz-3 ekspresyonu adenoid kistik karsinom ve mukoepidermoid karsinom tümörlü dokuların %100 ünde pozitif boyanma gösterirken, GSTP1 adenoid kistik karsinom tümör dokularının %50'sinde, mukoepidermoid karsinom tümör dokularının ise %70'inde pozitif boyanma göstermiştir. Pleomorfik adenom tümör dokularında bcl-2 protein ekspresyonu tümör dokularının %93,5'inde pozitif boyanma gösterirken, kaspaz-3 protein ekspresyonu %96,8'inde ve GSTP1 protein

ekspresyonu %74,2'sinde pozitif boyanma göstermiştir. Tümörlerin boyanma yüzde ve frekansları Çizelge 3.1'de gösterilmiştir.

Pleomorfik adenom, mukoepidermoid karsinom ve adenoid kistik karsinomlu hasta dokularında bcl-2, kaspaz-3 ve GSTP1 protein ekspresyonu ile cinsiyet arasındaki ilişki kıyaslandığında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p > 0.05$). Skorların cinsiyete göre karşılaştırılması Çizelge 3.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2. Bcl-2, kaspaz-3 ve GST Pi ekspresyon skorlarının cinsiyete göre karşılaştırılması

	Bcl-2	Kaspaz-3	GSTP1
p-value	0.623	0.476	0.514

Bcl-2, kaspaz-3 ve GSTP1 protein ekspresyonları ile hastaların yaş ve tümör boyutu arasındaki ilişki karşılaştırıldığında hastaların yaşı ile bcl-2, kaspaz-3, GSTP1 protein ekspresyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamazken ($p > 0.05$), tümör boyutu ile bcl-2 protein ekspresyon düzeyi arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur ($p < 0.05$). Çizelge 3.3'de bcl-2, kaspaz-3 ve GSTP1 protein ekspresyonları ile yaş ve tümör boyutu arasındaki ilişki gösterilmiştir.

Çizelge 3.3. Bcl-2, kaspaz-3 ve GST Pi protein ekspresyonu ile yaş ve tümör boyutu arasındaki ilişki (Spearman's rho)

	Bcl-2	Kaspaz-3	GSTP1
Yaş	0.185 (0.153)	0.039 (0.763)	-0.041 (0.756)
Tümör Boyutu	0.258 (0.045)	-0.001 (0.994)	0.112 (0.391)

*Parantez içindeki değerler p değerlerini göstermektedir.

Boyanma yoğunluklarına göre incelendiğinde 31 pleomorfik adenom vakasının %93,6'sının ($n=29$) pozitif bcl-2 protein ekspresyonu gösterdiği, ancak bu vakalardan sadece %51,6'sında ($n=16$) güçlü bcl-2 protein ekspresyonu görülürken %6,5'inde ($n=2$) negatif bcl-2 protein ekspresyonu görülmüştür. Mukoepidermoid kanserli 10 (%100) vakanın tamamında pozitif bcl-2 protein ekspresyonu görülürken, bu vakalardan %80'i ($n=8$) bcl-2 ile güçlü ekspresyon göstermiştir. Adenoid kistik karsinomlu tümörlerin %100'ünde ($n=20$) pozitif bcl-2 protein ekspresyonu

görülürken, bu vakaların %65'i (n=13) bcl-2 ile güçlü ekspresyon göstermiştir. Çizelge 3. 4'de adenoid kistik karsinom, mukoepidermoid karsinom ve pleomorfik adenom tümör dokularında bcl-2 ekspresyon yoğunluğu gösterilmiştir.

Çizelge 3.4. Adenoid kistik karsinom, mukoepidermoid karsinom ve pleomorfik adenoma tümör dokularında bcl-2 ekspresyon yoğunluğu

Bcl-2	0	1	2	3	Toplam
	n (%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)
Adenoid kistik karsinom	0(0)	2(10)	5(25)	13(65)	20(100)
Mukoepidermoid karsinom	0(0)	0(0)	2(20.0)	8(80.0)	10(100)
Pleomorfik adenom	2(6.5)	2(6.5)	11(35.5)	16(51.6)	31(100)

Kaspaz-3 ile boyanma yoğunluğuna göre pleomorfik adenomalı 31 vakanın %97,8 (n=30)'i kaspaz-3 ile pozitif ekspresyon gösterirken, bu vakaların sadece %25,8 (n=8)'i güçlü kaspaz-3 boyanması gösterirken %3,2 (n=1)'si kaspaz-3 ile negatif boyanma gösterdi. Mukoepidermid kanserli vakaların %100 (n=10)'ü kaspaz-3 ile pozitif ekspresyon gösterdi. Bu vakalardan %30 (n=3)'ü kaspaz-3 ile güçlü boyanma gösterdi. Adenoid kistik karsinomlu vakaların %100 (n=20)'ünde kaspaz-3 pozitif ekspresyonu görüldü. Ancak boyanma yoğunluklarına göre bu vakalardan %45 (n=9)'inde kaspaz-3 ile yoğun boyanma gösterdi. Çizelge 3.5'de adenoid kistik karsinom, mukoepidermoid karsinom ve pleomorfik adenom tümör dokularında kaspaz-3 ekspresyon yoğunluğu gösterilmiştir.

Çizelge 3.5. Adenoid kistik karsinom, mukoepidermoid karsinom ve pleomorfik adenoma tümör dokularında kaspaz-3 ekspresyon yoğunluğu

Kaspaz-3	0	1	2	3	Toplam
	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)
Adenoid kistik Karsinom	0(0)	5(25.0)	6(30.0)	9(45.0)	20(100)
Mukoepidermoid karsinom	0(0)	2(20.0)	5(50.0)	3(30.0)	10(100)
Pleomorfik adenom	1(3.2)	9(29.0)	13(41.9)	8(25.8)	31(100)

Pleomorfik adenomlu 31 vakanın %74,2'si (n=23) GSTP1 ile pozitif ekspresyon gösterdi. Bu vakalardan %25,8'inde (n=8) negatif GSTP1 ekspresyonu görülürken, GSTP1 ile güçlü boyanma izlenmedi. Mukoepidermoid kanserli vakaların %70'i (n=7) GST Pi pozitif ekspresyon gösterirken, bu vakalardan %30'u (n=3) ise GSTP1 ile negatif ekspresyon gösterdi. Mukoepidermoid kanserli vakaların

%10'unda (n=1) GSTP1 ile yoğun boyanma gözlemlendi. Adenoid kistik karsinomlu vakaların %50'sinde (n=10) GSTP1 ile pozitif ekspresyon görülürken bu vakalardan %50'sinde (n=10) negatif GSTP1 ekspresyonu görüldü. Çizelge.3.6'da adenoid kistik karsinom, mukoepidermoid karsinom ve pleomorfik adenom tümör dokularında GSTP1 ekspresyon yoğunluğu gösterilmiştir.

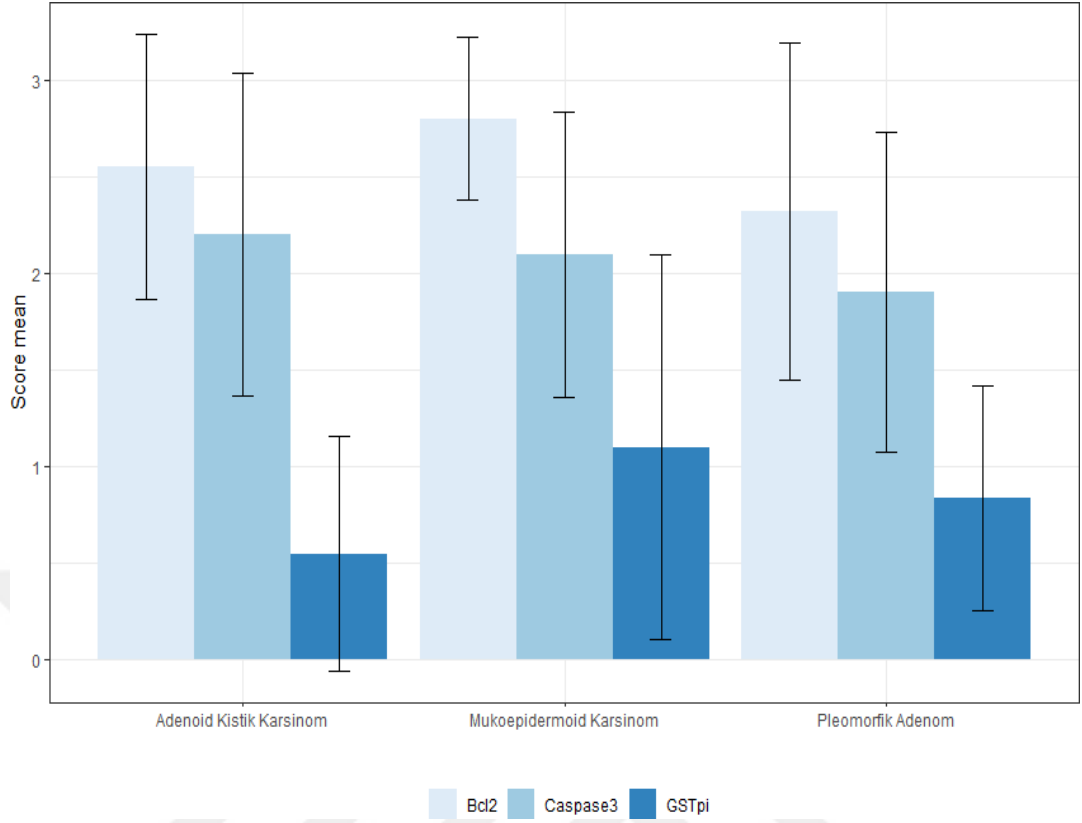
Çizelge 3.6. Adenoid kistik karsinom, mukoepidermoid karsinom ve pleomorfik adenoma tümör dokularında GST P1 ekspresyon yoğunluğu

GSTP1	0	1	2	3	Toplam
	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)
Adenoid kistik karsinom	10(50.0)	9(45.0)	1(5.0)	0(0)	20(100)
Mukoepidermoid karsinom	3(30.0)	4(40.0)	2(20.0)	1(10.0)	10(100)
Pleomorfik adenom	8(25.8)	20(64.5)	3(9.7)	0(0)	31(100)

Her üç tümör tipinde de boyanma skorlarının ortalamalarına bakıldığında, en yoğun boyanma bcl-2'de en az yoğunlukta boyanma ise GSTP1 protein ekspresyonunda gözlenmiştir. Tümör gruplarının skor ortalamaları Çizelge 3.7'de ve ortalama ekspresyon düzeyleri Şekil 3.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.7. Adenoid kistik karsinom, mukoepidermoid karsinom ve pleomorfik adenoma tümör gruplarında bcl-2, kaspaz-3 ve GSTP1 ekspresyonlarının skor ortalamaları (\pm st. sapma)

	Bcl-2	Kaspaz-3	GSTP1
Adenoid kistik karsinom	2.55 \pm 0.686	2.20 \pm 0.834	0.55 \pm 0.605
Mukoepidermoid karsinom	2.80 \pm 0.422	2.10 \pm 0.738	1.10 \pm 0.994
Pleomorfik adenom	2.32 \pm 0.871	1.90 \pm 0.831	0.84 \pm 0.583
Kruskall-Walls test (p-value)	0.219	0.451	0.142



Şekil 3.1. Pleomorfik adenom, mukoepidermoid karsinom ve adenoid kistik karsinom tümör tiplerinde bcl-2, kaspaz-3 ve GSTP1 ortalama ekspresyon skorları

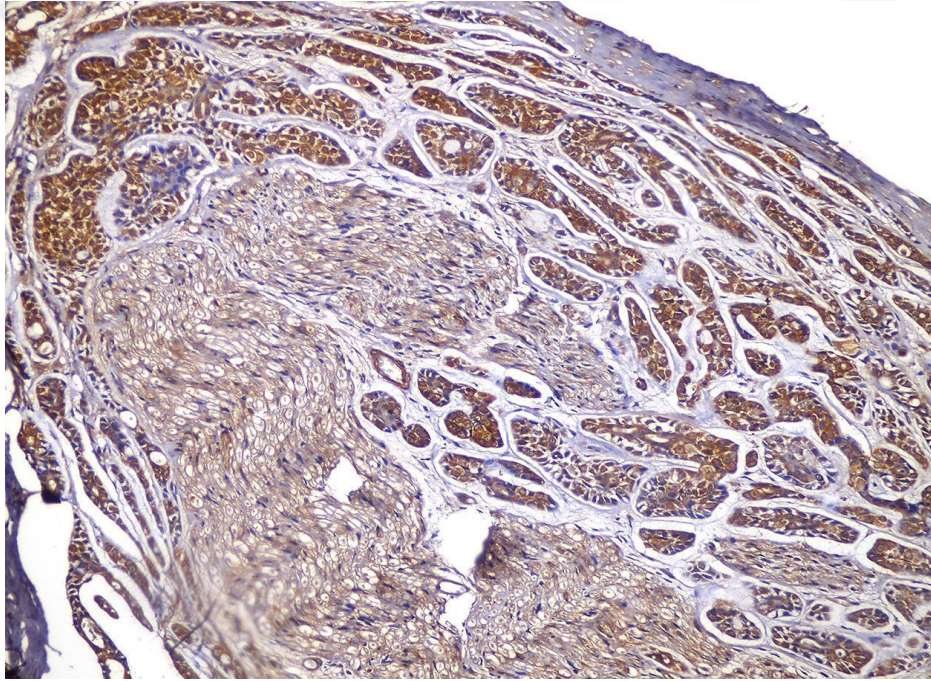
Tümör tipleri bazında skorlar arası ilişkilere bakıldığında; adenoid kistik karsinom tümör için, bcl-2 ve kaspaz-3 ($p\text{-value} = 0.32 > 0.05$), bcl-2 ve GSTP1 ($p\text{ değeri} = 0.12 > 0.05$) ve kaspaz-3 ve GSTP1 ($p\text{-value} = 0.09 > 0.05$) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.

Mukoepidermoid karsinom tümör için bcl-2 ve kaspaz-3 ($p\text{-value} = 0.90 > 0.05$), bcl-2 ve GSTP1 ($p\text{-value} = 0.90 > 0.05$) ve kaspaz-3 ve GSTP1 ($p\text{-value} = 0.70 > 0.05$) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.

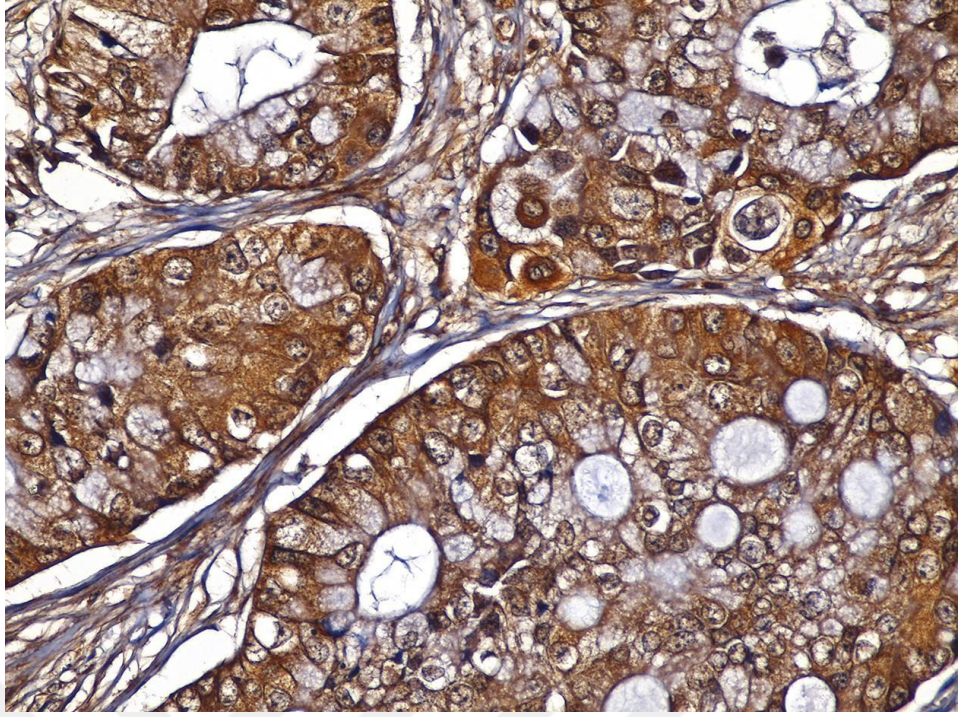
Pleomorfik adenom tümör için, bcl-2 ve kaspaz-3 ($p\text{-value} = 0.00 < 0.05$) (spearman coef= 0.66), bcl-2 ve GSTP1 ($p\text{ value} = 0.00 < 0.05$) (spearman coef= 0.61) ve kaspaz-3 ve GSTP1 ($p\text{ value} = 0.00 < 0.05$) (spearman coef= 0.73) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Tümör tipleri bazında skorlar arası ilişki Çizelge 3.8’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.8 Adenoid kistik karsinom, mukoeypidermoid karsinom ve pleomorfik adenoma tümör dokularında bcl-2, kaspaz-3 ve GST Pi ekspresyon skorları arasındaki ilişki (Spearman's rho)

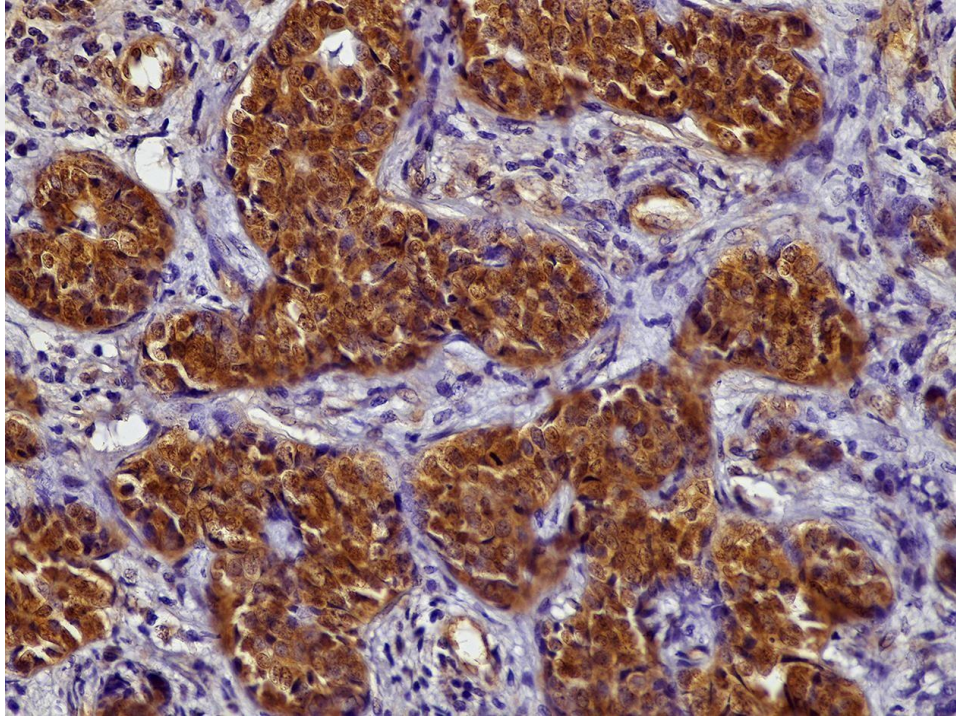
		Kaspaz-3	GSTP1
Adenoid kistik karsinom	Bcl-2	0.24 (0.32)	0.36 (0.12)
	Kaspaz-3		0.39 (0.09)
Mukoeypidermoid karsinom	Bcl-2	0.05 (0.90)	0.05 (0.90)
	Kaspaz-3		0.14 (0.70)
Pleomorfik adenom	Bcl-2	0.66* (0.00)	0.61* (0.00)
	Kaspaz-3		0.73* (0.00)



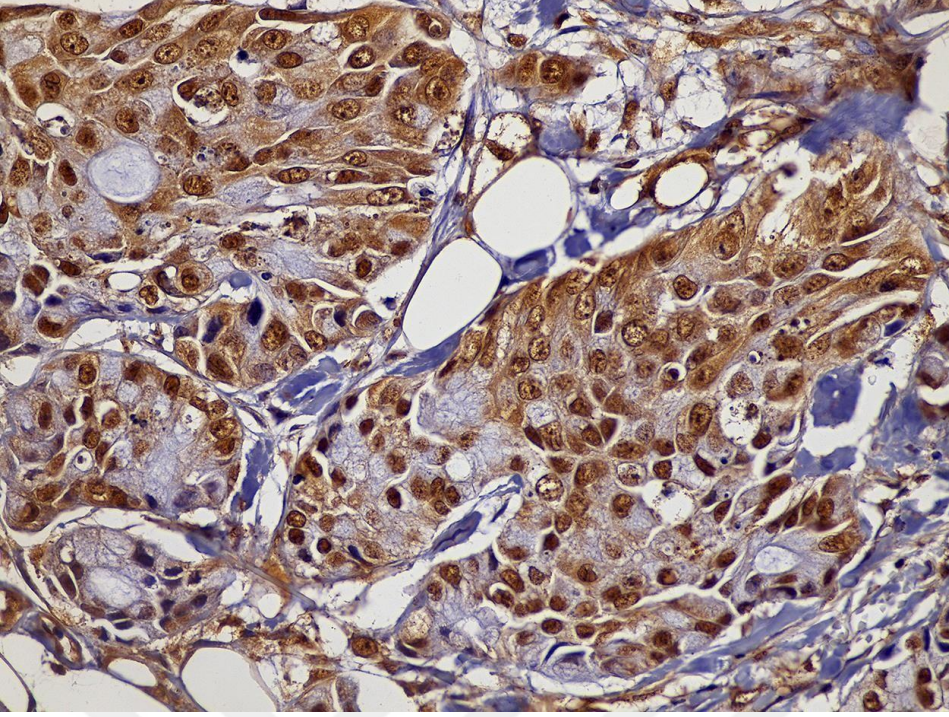
Şekil 3.2. Adenoid kistik karsinom olgusunda bcl-2 ile tümörün boyanması skor 3+ (x200)



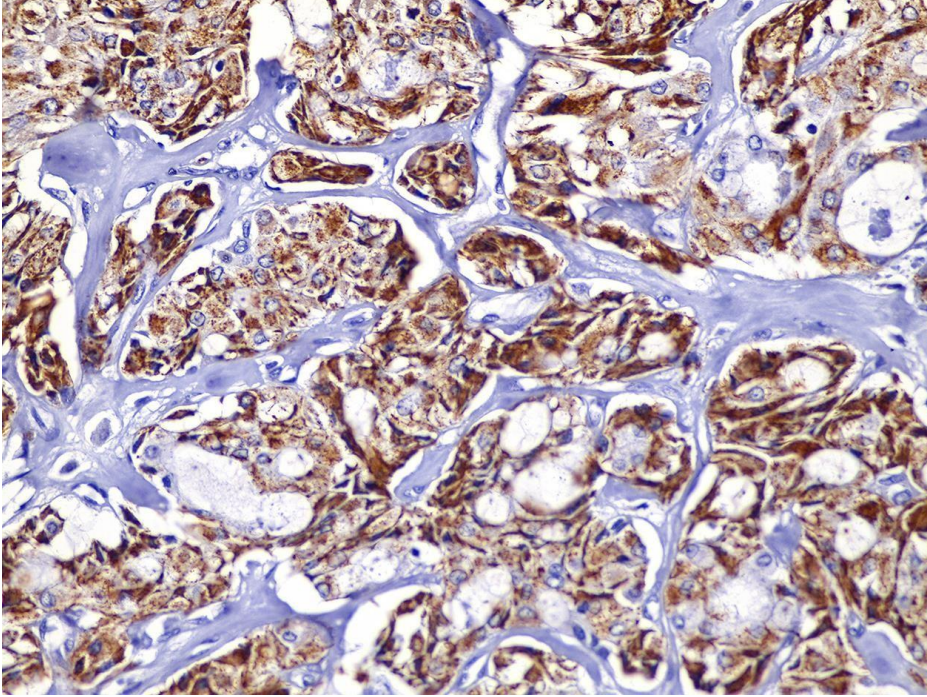
Şekil 3.3. Mukoepidermoid karsinom olgusunda bcl-2 ile tümörün boyanması skor 3+ (x200)



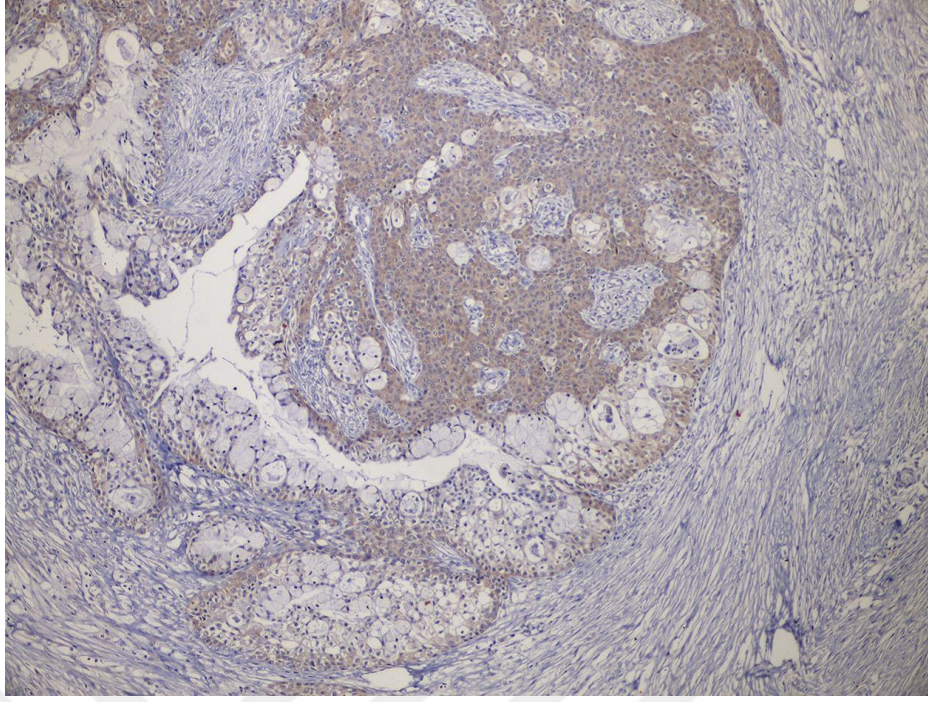
Şekil 3.4. Adenoid kistik karsinom olgusunda kaspaz-3 ile tümörün boyanması skor 3+ (x400)



Şekil 3. 5 Mukoepidermoid karsinom olgusunda kaspaz-3 ile tümörün boyanması skor 3+ (x400)



Şekil 3. 6 Adenoid kistik karsinom olgusunda GSTP1 ile tümörün boyanması skor 3+ (x400)



Şekil 3.7. Mukoepidermoid karsinom olgusunda GSTP1 ile tümörün boyanması skor+2 (x200)

Çizelge 3.9. Normal ve pleomorfik adenomalı tümör dokusunda GST izoenzimlerinin ekspresyonlarının yaş, cinsiyet, ortalama tümör çapı (MTD), tümör lokalizasyonuna göre ilişkisi.

Değişken		GSTA1		GSTT1		GSTK1	
		N	T	N	T	N	T
	Mean	1.19	0.5	2.15	1.81	1.85	1.15
	Std. Dev.	0.4	0.59	0.88	0.63	0.78	0.61
	p	0.001*		0.116		0.003*	
YAŞ	Sperman's rho	-0.143	0.194	-0.274	0.115	-0.338	0.111
	p	0.485	0.363	0.175	0.576	0.091	0.589
MTD	Sperman's rho	-0.338	0.130	0.106	-0.092	0.055	0.146
	p	0.091	0.546	0.607	0.653	0.790	0.476
CİNSİYET							
Erkek	Mean	1.15	0.69	2.07	1.64	2	1.21
	Std. Dev.	0.376	0.63	0.997	0.745	0.784	0.699
Kadın	Mean	1.27	0.27	2.25	2	1.67	1.08
	Std. Dev.	0.467	0.467	0.754	0.426	0.778	0.515
	p	0.498	0.086	0.742	0.155	0.215	0.532
LOKALİZASYON							
Sol parotis	Mean	1.17	0.33	2.57	1.71	2.14	1.14
	Std.Dev.	0.408	0.516	0.535	0.951	0.378	0.69
Sağ parotis	Mean	1.18	0.55	2.36	2	1.82	1.18
	Std.Dev.	0.405	0.522	1.027	0.447	0.982	0.405
Bilinmeyen lokalizasyon	Mean	1.29	0.57	1.5	1.63	1.63	1.13
	Std.Dev.	0.488	0.787	0.535	0.518	0.744	0.835
	p	0.870	0.736	0.017*	0.349	0.456	0.998

Çizelge 3.9. (Devamı)

		GSTM1		GSTO1		GSTS1	
		N	T	N	T	N	T
	Mean	1.88	2.35	2	2.54	1.38	1.73
	Std. Dev.	0.86	0.74	0.84	0.58	0.8	1.07
	p	0.048*		0.018*		0.247	
YAŞ	Spearman's rho	-0.075	0.033	-0.519*	-0.091	-0.115	0.571*
	p	0.716	0.874	0.007	0.659	0.577	0.002
MTD	Spearman's rho	-0.051	0.127	-0.158	-0.204	0.325	0.044
	p	0.803	0.537	0.44	0.318	0.105	0.832
CİNSİYET							
Erkek	Mean	2.07	2.43	1.93	2.5	1.57	1.79
	Std. Dev.	0.829	0.852	0.829	0.65	0.756	1.311
Kadın	Mean	1.67	2.25	2.08	2.58	1.17	1.67
	Std. Dev.	0.888	0.622	0.9	0.515	0.835	0.778
	p	0.265	0.352	0.529	0.836	0.149	0.786
LOKALİZASYON							
Sol parotis	Mean	2.43	2.29	2.14	2.57	1.71	2
	Std.Dev.	0.535	0.756	0.9	0.787	0.756	1.291
Sağ parotis	Mean	1.82	2.64	2.18	2.82	1.27	1.73
	Std.Dev.	0.874	0.505	0.751	0.405	0.905	1.191
Bilinmeyen lokalizasyon	Mean	1.5	2	1.63	2.13	1.25	1.5
	Std.Dev.	0.926	0.926	0.916	0.354	0.707	0.756
	p	0.112	0.248	0.380	0.017*	0.477	0.671

N: normal, T: tumor

GST izoenzimlerinin immünohistokimyasal protein ekspresyonu, pleomorfik adenom tümör dokusunda ve tümöre bitişik normal tükürük bezi dokularında incelendi. Tümör ve normal tükürük bezi dokularında GST izoenzimlerinin protein ekspresyonu ile cinsiyet grupları karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görüldü ($p > 0.05$). (Çizelge 3.9).

Normal tükürük bezi dokuları için; yaş ile sadece GSTO1 skoru arasında anlamlı ve negative ilişki vardır (Spearman's $\rho = -0.519$, $p\text{-value} = 0.007 < 0.05$). Tümörlü dokular için; yaş ile GSTS1 skoru arasında anlamlı ve pozitif ilişki vardır (Spearman's $\rho = 0.571$, $p\text{-value} = 0.002 < 0.05$). (Çizelge 3.9).

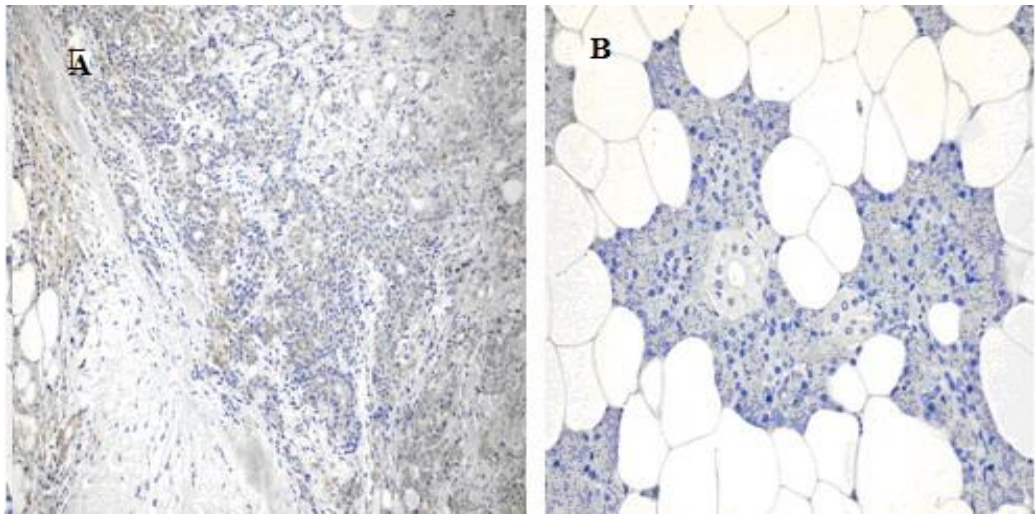
Ortalama tümör çapı ve GST protein ekspresyonları karşılaştırıldığında (Spearman's ρ) anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p > 0.05$). (Çizelge 3.9).

Tümörlü ve normal dokularda GST protein ekspresyonları karşılaştırıldığında, GSTA1 skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0.05$). Buna göre, GSTA1 skorunun normal dokularda (median=1), tümörlü dokulardan (median=0) daha yüksek olduğu söylenebilir (Çizelge 3.9). Normal ve tümörlü dokularda GSTA1 boyanması Şekil 3.9'de gösterilmiştir.

Normal ve tümör dokularına ilişkin GSTT1 skorları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0.05$). Buna göre, GSTT1 skoru bakımından normal dokular (median=2) ile tümörlü dokular (median=2) arasında fark yoktur. (Çizelge 3.9). Normal ve tümörlü dokulardaki ortalama GST skorları Şekil 3.8'de gösterilmiştir.

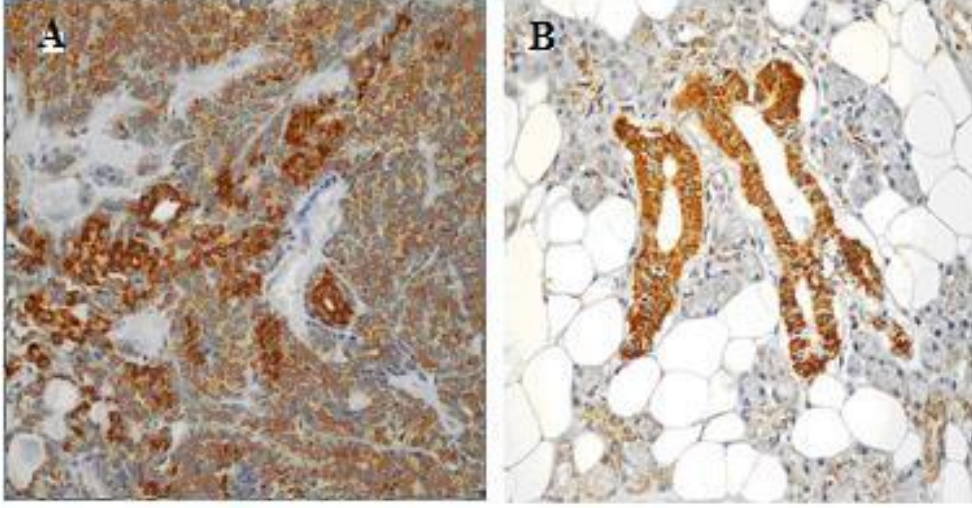


Şekil 3.8. Normal ve pleomorfik adenom tümör dokularında GST izoenzimlerinin ortalama ekspresyon skorları



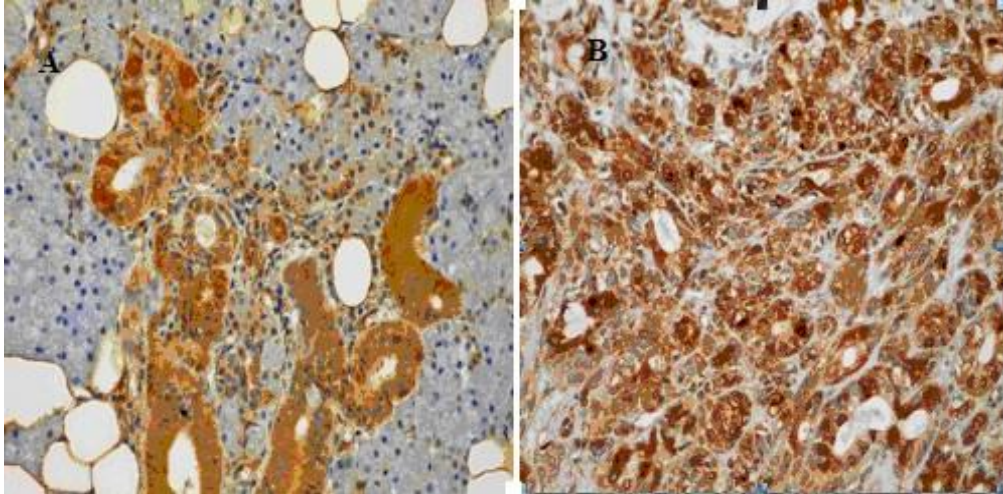
Şekil 3.9. A) Normal tükürük bezi dokusunda GSTA1 boyanması skor 1+ (x200).
B) Pleomorfik adenoma olgusunda GSTA1 boyanması skor 0 (x200)

GSTK1 skorları normal dokularda (median=2), tümörlü dokulardan (median=1) istatistiksel olarak anlamlı bir biçimde daha yüksektir ($p<0.05$) (Çizelge 3. 9) Normal ve tümörlü dokularda GSTK1 skorları Şekil 3.10'da gösterilmiştir.



Şekil 3.10 A) Normal tükürük bezi dokusunda GSTK1 boyanması skor 3+ (x 200).
B) Pleomorfik adenom olgusunda GSTK1 boyanması skor 3+ (x 200)

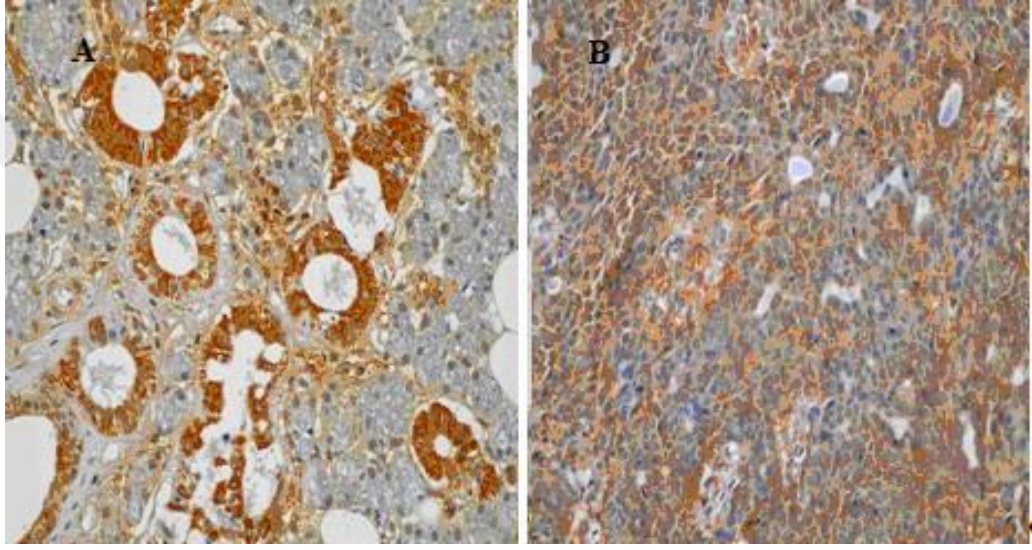
Normal ve tümör dokularına ilişkin GSTM1 skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.05$). Buna göre, GSTM1 skoru tümör dokularında (median=2.5), normal dokulardan (median=2) daha yüksektir (Çizelge 3.11). Normal ve tümörlü dokularda GSTM1 ile boyanma Şekil 3.10'da gösterilmiştir.



Şekil 3.11. A) Normal tükürük bezi dokusunda GSTM1 boyanması skor 3+ (x 200).
B) Pleomorfik adenom olgusunda GSTM1 boyanması skor 3+ (x 200)

GSTO1 skorları tümörlü dokularda (median=3), normal dokulardan (median=2) istatistiksel olarak anlamlı bir biçimde daha yüksektir ($p<0.05$) (Çizelge 3.9). Normal ve tümörlü dokuda GSTO1 ile boyanma Şekil 3.11’de gösterilmiştir.

Normal ve tümör dokularına ilişkin GSTS1 skorları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p> 0.05$). Buna göre, normal dokular (median=1) ve tümörlü dokular (median=1.5) arasında GSTS1 skoru bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur (Çizelge 3. 9). Normal ve tümörlü dokulardaki ortalama GST skorları Şekil 3.8’de gösterilmiştir.



Şekil 3.12. A) Normal tükürük bezi dokusunda GSTO1 ile boyanma skor 3+ (x 200)
B) Pleomorfik adenom olgusunda GSTO1 ile tümörün boyanması skor 3+ (x 200)

Normal dokularda, GSTT1 skorunun GSTK1(Spearman’s $\rho=0.466$, $p\text{-value}=0.017 <0.05$), GSTO1 (Spearman’s $\rho=0.529$, $p\text{-value}=0.005 <0.05$) ve GSTS1 (Spearman’s $\rho=0.421$, $p\text{-value}=0.032 <0.05$) skorları ile arasında pozitif yönlü ve istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur (Çizelge 3.10).

Benzer şekilde, GSTK1 skoru ile GSTM1 (Spearman’s $\rho=0.436$, $p\text{-value}=0.026 <0.05$) ve GSTS1 (Spearman’s $\rho=0.701$, $p\text{-value}=0.000 <0.05$) skorları arasında pozitif yönlü ve istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur (Çizelge 3.10).

Tümörlü dokularda, Correlation analizi bulgularına göre, GSTA1 skorunun GSTK1(Spearman’s $\rho=0.447$, $p\text{-value}=0.028 <0.05$) ve GSTO1 (Spearman’s

rho=0.453, p-value=0.026 <0.05) skorları ile arasında pozitif yönlü ve istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur (Çizelge 3.10).

Benzer şekilde, GSTT1 skoru ile GSTO1 (Spearman's rho=0.533, p-value=0.005 <0.05) skoru arasında, GSTK1 skoru ile GSTM1 skoru (Spearman's rho=0.726, p-value=0.000 <0.05) arasında ve GSTM1 ile GSTO1 (Spearman's rho=0.512, p-value=0.008 <0.05) skorları arasında pozitif yönlü ve istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmaktadı (Çizelge 3. 10).

Çizelge 3.10. Normal ve pleomorfik adenom tümör dokusunda GST skorları arasındaki ilişki (Spearman's rho)

		GSTT1	GSTK1	GSTM1	GSTO1	GSTS1
NORMAL	GSTA1	-0.090 (0.661)	0.075 (0.717)	0.062 (0.764)	0.228 (0.262)	0.091 (0.658)
	GSTT1		0.466* (0.017)	0.315 (0.117)	0.529* (0.005)	0.421* (0.032)
	GSTK1			0.436* (0.026)	0.241 (0.235)	0.701* (0.000)
	GSTM1				0.379 (0.056)	0.269 (0.184)
	GSTO1					0.195 (0.340)
TÜMÖR	GSTA1	0.293 (0.164)	0.447* (0.028)	0.285 (0.177)	0.453* (0.026)	0.385 (0.063)
	GSTT1		0.319 (0.112)	0.378 (0.057)	0.533* (0.005)	0.291 (0.149)
	GSTK1			0.726* (0.000)	0.240 (0.237)	0.365 (0.067)
	GSTM1				0.512* (0.008)	0.305 (0.130)
	GSTO1					0.333 (0.096)

4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Tükürük bezi tümörleri, yıllık insidansı 100.000 kişide 0,4-13,5 olan, baş ve boyunda nispeten nadir görülen tümöral oluşumlardır. Tümörler histolojik ve biyolojik açıdan fazla varyasyon gösterdikleri için aynı tümör tipinde dahi farklı oluşumlara rastlamak mümkündür. Çeşitli histotipe sahip olmalarından dolayı immünohistokimyasal çalışmalar, tükürük bezi malign tümörlerinin tanısında önemli bir yer tutmaktadır. Son yıllarda artan prevalansları ve teşhisinde yaşanan zorluklar nedeniyle tükürük bezi tümörlerinin prognozuna yönelik çalışmalar büyük önem arz etmektedir. Yapılan moleküler ve biyolojik çalışmalar, onkogenlerin, tümör baskılayıcı genlerin, büyüme faktörlerinin kanserogenez ve hücrelerin malign transformasyonunda önemini göstermiştir, ancak tükürük bezi karsinomları için kullanılabilir önemli bir prognostik belirteç hala yoktur [69]. Enzimatik ve moleküler belirteçler kullanılarak yapılan çalışmaları, tümör oluşum mekanizmalarının anlaşılması, tanımlanması, önlenmesi ve prognozuna yönelik spesifik hedefli tedavilerin geliştirilmesi için yeni yollar açmaktadır [1, 163].

Kanser oluşum sürecinde çevresel faktörler hücrelerde oksidatif stresi artırarak proteinler ve DNA da hasara neden olurlar. Oluşan küçük ölçekli hasarlar hücresel mekanizmalar tarafından onarılarak hücrenin normal işlevini sürdürmesi sağlanır, ancak hasar onarılamayacak kadar büyük olduğunda hücrenin onarım kapasitesini aşar ve sonuçta hücrenin kaderinin belirlenme süreci başlar [164]. Bu süreçlerden biri hem normal hem de patolojik koşullarda oluşan programlanmış hücre ölümü, apoptozdur. Normal ve patolojik koşullarda apoptoz, yaşlanmış, zarar görmüş ve mutant hücrelerin ortamdan uzaklaştırmasından sorumludur. Ancak tümör oluşum sürecinde apoptoz inhibe edildiği için hücrenin nihai kaderi belirlenememekte, hücreler kontrolsüz olarak bölünmekte ve çoğalmaktadır. Bu nedenle apoptozun kanser oluşumundan önceki süreçte önemli bir mekanizma olduğu düşünülmekte ve sayısız apoptoz düzenleyici protein üzerinde yapılan çalışmalar, moleküler kanser tedavisinde yeni gelişmeler kaydetmektedir.

Anti-apoptotik belirteçlerden biri olan bcl-2 proteinin, sitokrom c salınımını ve mitokondriyal permeabiliteyi kontrol ederek apoptozun iç yolağında düzenleyici bir

rol oynadığı düşünülmektedir. Tükürük bezi tümörlerinde güçlü bcl-2 ekspresyonunun tümör hücrelerinin apoptozdan kaçışına ve tümör gelişimine katkı sağladığı ileri sürülmektedir [165]. Bu amaçla bcl-2 protein ekspresyonu, pleomorfik adenoma myoepitelyoma, Warthin's tümör, onkositoma gibi benign ve malign tükürük bezi tümörlerinde yaygın olarak çalışılmaktadır [166].

Yin vd. (2000), mukoepidermoid kanserli tümör dokusunda immünohistokimyasal yöntemle bcl-2 protein ekspresyonunu tümörün histolojik dereceleri ile karşılaştırmışlar ve hastaların yaklaşık %58 (n=41)'inin bcl-2 proteini eksprese ettiğini bulmuşlardır [167]. Yin vd. (2000), çalışmalarında grade-I (düşük dereceli) tümörlerin grade-II (orta derece) ve grade-III (yüksek dereceli) tümörlere göre önemli ölçüde daha yüksek bcl-2 eksprese ettiğini rapor ettiler. Tez çalışmamızda ortalama tümör boyutu ile bcl-2 protein ekspresyonu arasında pozitif bir ilişki olduğu bulunmuştur. Tümörün derecesi ile tümör boyutunun birlikte arttığını düşünürsek Yin vd. (2000) ile benzer sonuçlar elde edilmiştir. [167].

Yanez vd. (1999), 20 pleomorfik adenom, 4 adenoid kistik karsinom ve 3 mukoepidermoid karsinom tümör dokularının tamamında yüksek bcl-2 protein ekspresyonu tespit etmişlerdir. Tez çalışmamızda pleomorfik adenom, adenoid kistik karsinom ve mukoepidermoid karsinom tümör dokularında Yanez ve arkadaşlarının çalışmalarına benzer şekilde yüksek bcl-2 ekspresyonu elde edilmiştir [168]. Malign ve benign tümörlerde görülen yüksek bcl-2 ekspresyonunun bu tümörlerin gelişiminde rol oynayabileceği düşüncesindeyiz.

Soini vd. (1998) pleomorfik adenom, mukoepidermoid karsinom ve adenoid kistik karsinomada bcl-2 protein ekspresyonunu çalışmışlar ve pleomorfik adenomada %100, mukoepidermoid karsinom ve adenoid kistik karsinoma tümör dokusunda %64 bcl-2 protein ekspresyonu tespit etmişlerdir [169].

Manjunatha vd. (2011) pleomorfik adenom, mukoepidermoid karsinom ve adenoid kistik karsinom tümör dokularında bcl-2 protein ekspresyon düzeylerini araştırmışlar ve pleomorfik adenomada %57, mukoepidermoid karsinom ve adenoid kistik karsinomda %78 bcl-2 ekspresyonu bulmuşlardır. Ayrıca, malign tümörlerde yüksek bcl-2 ekspresyonunun tümör hücrelerinin yüksek sağkalımı ile ilişkili olabileceğini ileri sürmüşlerdir [170]. Yapılan tez çalışmamız sonucunda adenoid kistik karsinom

ve mukoepidemoid karsinom tümör dokularının %100'ünde ve pleomorfik adenom tümör dokularının %93,5'inde pozitif bcl-2 protein ekspresyonu gözlenmiştir.

Aoki vd. (2004) pleomorfik adenomalı tümör dokusu ile yaptıkları çalışmada 35 pleomorfik adenomalı tümör dokusunun 33'ünde (%94,3) yüksek bcl-2 protein ekspresyonu tespit etmişleridir [171]. Tez çalışmamızda pleomorfik adenoma tümör dokularında yüksek bcl-2 ekspresyonu gözlemlenmiştir. Yüksek bcl-2 ekspresyonunun neoplastik hücrelerin apoptozdan kaçışını sağlayarak tümör gelişimi ve ilerlemesinde rol oynadığı düşünülebilir.

Apoptoz, tükürük bezleri de dahil olmak üzere glandüler yapıların organogenezinde rol oynar ve apoptotik mekanizmaların bozulması kanserin patogeneğinde ve biyolojik davranışında önemli mekanizmalardan biridir. İmmünohistokimyasal ve gen ekspresyon çalışmaları apoptotik yolun tükürük bezi tümörlerinin gelişiminde önemli rol oynadığını göstermektedir. Apoptozun regülatörleri olarak bilinen kaspazlar, apoptozun iç ve dış yolağında sinyallerin aktive edilmesinde ve yayılmasında rol oynarlar. Başlatıcı kaspazların (2, 8, 9, 10) çeşitli proapoptotik sinyallerle aktive edilmesinden sonra efektör kaspazlar (3, 6, 7) aktifleşir ve böylece kaspaz kaskadı başlatılmış olur.

DaSilva vd. (2019), 40 mukoepidermoid kanser dokusunda immünohistokimyasal yöntemle kaspaz-3 ve kaspaz-9 ekspresyonunu araştırmışlar, tümörlü dokuların %47,5 kaspaz -3 ekspresyonu ettiğini bulmuşlar ve normal tükürük bezi dokularında kaspaz-3 ekspresyonunun negatif olduğunu göstermişlerdir. Kaspaz-3 ekspresyonu ile hastaların sağkalım sürelerini karşılaştırdıklarında, kaspaz-3 ekspresyonu pozitif olan mukoepidermoid kanser hastalarının sağkalım oranlarının daha düşük olduğunu tespit etmişlerdir [172].

Gomes vd. (2012) toplam 27 tükürük bezi benign ve malign tümörlerinde kaspaz-3 ekspresyonunu çalışmışlar, normal ve tümörlü dokularda kaspaz-3 ekspresyonu bakımından fark bulmuşlardır. Tümörlü vakaların %44'ünde normal dokudan daha yüksek kaspaz-3 ekspresyonu tespit etmişlerdir [173].

Dozic vd. (2016), 50 adenoid kistik karsinom tümör dokusunda kaspaz-3 ekspresyonu ile hastaların klinik patolojik verilerini karşılaştırmışlar; kaspaz 3 ekspresyonunun tükürük bezi tümörlerinde orta ya da güçlü ekspresyon gösterdiğini gözlemlenmişlerdir. Kaspaz 3 ekspresyonu ile yaş, cinsiyet, tümör lokalizasyonu,

histolojik tip ve genel sağkalım arasındaki ilişkiyi incelediklerinde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulamamışlardır ($p= 0.206$) [100]. Tez çalışmamızda adenoid kistik karsinom tümör dokularında Dozic ve arkadaşlarının sonuçlarıyla benzer bulgular elde edilmiştir.

Hsia vd. (2003), 40 özefagus skuamoz hücreli kanser dokusunda kaspaz-3 ekspresyonunu ve prognostik rolünü değerlendirmişler. Tümör dokularında %60 kaspaz-3 ekspresyonu bulmuşlardır. Yüksek kaspaz-3 ekspresyonunun önemli bir prognostik faktörü olabileceğini ve azalan kaspaz-3 ekspresyonunun tümör gelişimini uyardığı ve hastanın hayatta kalma süresini kısalttığını ileri sürmüşlerdir. [69]. Tez çalışmamızda pleomorfik adenom, adenoid kistik karsinom ve mukoepidermoid karsinom tümör dokularında yüksek kaspaz-3 ekspresyonu tespit edilmiştir. En güçlü kaspaz-3 ekspresyonu adenoid kistik karsinom tümör dokularında bulunmuştur.

Yapılan çalışmalar çoğu GST izoenzimlerinin biyolojisinin karmaşık ve çok yönlü olduğunu ve bu proteinlerin hücre sağkalımı, çoğalması ve ilaç dirençliliği gibi çeşitli hücresel süreçlere aktif olarak katıldığını göstermiştir [135]. Glutasyon s-transferazlar başlıca glutasyonla konjugasyon oluşturmak için Faz-I (sitokrom p450) enzimlerinin metabolizması sonucu oluşan reaktif elektrofillek bileşiklerin indirgenmiş glutasyonla konjugasyonunu katalizleyerek sitoprotektif bir rol oynar. Detoksifikasyondaki rollerine ek olarak GST'ler, hücre sinyallemede, post-translasyonel modifikasyonda ve apoptozda da rol oynamaktadır. Glutasyon s-transferaz mü ve GST pi sınıflarının, c-jun N-terminal kinaz-1 ve apoptoz sinyal düzenleyici kinazlarla doğrudan etkileşerek, hücre sağkalımı ve ölüm sinyallerini yöneten mitojen aktive edici kinaz yolunu regüle ettiği bilinmektedir [135]. Glutasyon s-transferaz enzimlerinin tüm hücre tiplerinde ekspresyonu ve agresif kanser hücrelerindeki bollukları, tümörün ilerlemesinde, tümör hücrelerinin patojenitesinde ve ilaç direçliliğinde önemli bir rol oynadıklarını göstermektedir. Glutasyon s-transferaz pi, bir oksidatif stres sensörü gibi çalışarak reaktif oksijen türlerinin seviyesine bağlı olarak hücrenin hayatta kalmasında ya da c-Jun N-terminal kinaz sinyal yollarını modüle ederek hücre apoptozunda rol oynamaktadır [7, 135]. Glutasyon s-transferaz enzimlerinin çeşitli doku ve organlar tarafından eksprese edildiği ve ekspresyon farkının bilinmesinin kanser oluşum sürecindeki rollerinin belirlenmesinde önemli olduğu düşünülmektedir [7].

Campbell vd. (1991), tükürük bezi tümörlerinde GST pi ekspresyonunun asinik hücreli karsinomdaki seröz hücrelerin, müsinöz kistadenomdaki mükös hücrelerin ve mukoepidermoid karsinomlar gibi asini farklılaşması gösteren tümörlerde negatif, duktal hücreler, epidermoid hücreler ve miyoepitelyal hücrelerde pozitif olduğunu rapor etmişlerdir [174].

Zieper vd. (1994), majör ve minör tükürük bezi tümörlerinde immünohistokimyasal yöntemle GST pi protein ekspresyonunun normal dağılımını incelemişlerdir. Tükürük bezi tümörlerinde GST pi ekspresyonunun seröz hücreler, müköz hücreler ve mukoepidermoid karsinomların GST pi ile negatif; duktal hücreler, epidermoid hücreler ve miyoepitelyal hücrelerin GST-pi ile pozitif boyandığını ve en yüksek GST pi ekspresyonunun duktal farklılaşma gösteren hücrelerde, en zayıf GST pi ekspresyonunun ise miyoepitelyal tümör hücrelerinde olduğunu göstermişlerdir. ($p<0,001$)[175].

GST pi düşük ekspresyonun iyi prognozla ilişkili olduğu aşırı ekspresyonunun c-Jun N-terminal kinaz sinyalini inhibe ederek apoptozu engellediği ve tümörün ilerlemesinde rol oynadığı bildirilmiştir [135]. Glutasyon S-transferaz omega enzim aktivitesinin, protein kinaz B ve mitojen aktive edici kinazların aktivasyonunu engelledi ve dolaylı olarak nöroblastoma hücrelerinin sağkalım, büyüme ve metabolizmasını düzenlemeden sorumlu olduğu bildirilmiştir [176]. Gultasyon S-transferaz alfa (GSTA1) izoenzimlerinin yüksek ekspresyonunun hepatosellüler kanser hücrelerinde adenosin monofosfat protein kinazları artırdığı ve mTOR yolunu inhibe ettiği bildirilmiştir [177].

Malign ve pre-malign hücrelerde artan GST düzeyi, bu hücrelerde toksinlerin ve çeşitli kemoterapötik ilaçların detoksifikasyonunu sağlarken aynı zamanda GST pozitif hücrelerin, GST negatif hücrelere göre yüksek büyüme avantajı elde etmesine ve çoklu ilaç direnciliğinin oluşmasına yol açmaktadır. Bu amaç doğrultusunda GST'lerin normal dokulardaki dağılımının bilinmesinin karsinogenez sırasında görülen düzensizliğin belirlenmesinde önemli olduğu düşünülmektedir [174,178].

Glutasyon s-transferazların dokuya özgü ekspresyon gösterdiği ve mide, mesane, kolon, oral, farinks, gırtlak, deri, akciğer, meme ve serviks gibi çeşitli kanser dokularının yüksek düzeyde GST pi eksprese ettiği ve prostat adenokarsinom ve

özofagus skuamoz hücreli kanserlerin ise düşük düzeyde GST pi eksprese ettiği rapor edilmiştir [175].

Liu vd. (2020), hepatosellüler kanser dokusunda ve tümöre komşu normal karaciğer dokusunda mikroarrey doku bloğunda immünohistokimyasal yöntemle GSTA1 ekspresyonunun araştırmışlar; normal dokuların hepatosellüler kanser hücrelerine (HCC) göre daha yüksek GSTA1 eksprese ettiğini bulmuşlar, ayrıca tümörün farklılaşma derecesine göre karşılaştırdıklarında, kötü farklılaşma (kötü differansiye) gösteren HCC'lerde GSTA1 ekspresyonunun daha düşük ve iyi differansiye HCC'lerin daha yüksek GSTA1 eksprese ettiğini gözlemlemişlerdir. Tümör evresi ile GSTA1 protein ekspresyonunu karşılaştırdıklarında; erken evre tümörlerin daha yüksek GSTA1 eksprese ettiğini ve ileri evre tümörlerde GSTA1 ekspresyonunun negatif olduğunu bulmuşlardır [177]. Tez çalışmamızda buna paralel olarak GSTA1 ekspresyonunun normal dokuda tümörlü dokudan daha yüksek eksprese olduğu gösterilmiştir.

Gulatasyon s-tansferaz izoenzimlerinin bireyler arasında polimorfik özellik gösterdiği ve bireyler arasında çeşitli ekspresyon farklılıkları görüldüğü bilinir. GSTA1 normal dokularda yüksek ekspresyon gösterirken GSTM1 sınıfı izoenzimlerin genetik polimorfizme bağlı olarak bireylerin %45'inde hiç eksprese olmadığı görülmektedir [178, 179]. Bu nedenle GST izoenzimlerinin ekspresyonunda görülen varyasyonlar bireyleri, çevresel kanserojenlerin toksik etkilerine yatkın hale getirebilir.

Aydın vd. (2010), larinks kanser dokuları ile normal hasta dokularında immünohistokimyasal yöntemle GST mu, GST teta, GST pi ve GST alfa izoenzimlerinin protein ekspresyonunu, boyanma yoğunluklarına ve pozitif boyanma yüzdelerine göre karşılaştırmışlar; GST alfa, GST mu ve GST teta'nın normal dokularda, GST pi'nin ise tümörlü dokularda daha yüksek ekspresyon gösterdiğini bulmuşlardır [180]. Benzer şekilde tez çalışmamızda normal dokuların tümörlü dokuya göre daha yüksek GSTA1, tümörlü dokuların ise daha yüksek GSTM1 eksprese ettiği bulunmuştur. GSTA1 ekspresyonunun serbest oksijen türlerinin ve sitotoksik bileşenlerin uzaklaştırılmasında rol oynayabileceğini ve normal dokuları tümör oluşumuna karşı koruyabileceğini ve tümörlü dokuda yüksek GSTM1 ekspresyonunun bu tümörlerin gelişiminde rol oynayabileceğini düşünmekteyiz.

Yang vd. (2021), 247 özofagus skuamoz hücreli kanser hastasında (ESCC) GSTM3 ekspresyonunu immünohistokimyasal yöntemle araştırmışlar; ESCC'li hastaların %62,75'inde yüksek ve %32,25'inde düşük GSTM3 ekspresyonu gösterdiğini bulmuşlar. Düşük ve yüksek GSTM3 ekspresyon seviyelerine sahip hastaları karşılaştırdıklarında, düşük GSTM3 ekspresyonu gösteren hastalarda kötü prognoz ve daha sık nüks geliştiğini tespit etmişlerdir. Ayrıca azalan GSTM3 ekspresyonun tümör nüksü ve metastazı ile ilişkili olabileceğini ileri sürdüler. GSTM3 ekspresyonu ile hastaların yaş, cinsiyet, tümör lokalizasyonu, invazyonu, lenf nodu metastazı ve patolojik evre gibi klinik ve demografik verileri karşılaştırdıklarında; GSTM3 ekspresyonu ile hastaların klinik ve demografik verileri arasında anlamlı bir ilişki olmadığını gözlemlemişlerdir [181]. Benzer şekilde çalışmamızda GSTM1 ekspresyonu normal dokuya kıyasla tümörlü dokuda daha yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Tümörde yüksek GSTM1 ekspresyonu, tümör hücrelerinin toksik ajanlara karşı korunmasında rol oynayabilir ve tümör hücrelerinin sağkalımını artırabilir.

Kearns vd. (2003), çocukluk çağı akut lenfoblastik lösemilerde GSTM3 ekspresyonunu lenfoblastlarda iyi prognozla ilişkilendirmişlerdir [182]. Meding vd. (2012), metastazı olmayan ancak bölgesel lenf nodu metastazı olan 168 kolon kanserli hastada immünohistokimyasal yöntemle FXYD3, S100A11 ve GSTM3 ekspresyonunu araştırmışlar, lenf nodu metastazı olan kolon kanserlerinde normal dokulara kıyasla daha yüksek GSTM3 ekspresyonu bulmuşlar, yüksek GSTM3 ekspresyonunun lenf nodu metastazı gelişimini desteklediğini ileri sürmüşlerdir. [183].

Mitra vd. (2008), mesane kanserinde, düşük GSTM3 ekspresyonuna sahip hastaların daha iyi prognoza ve yüksek sağkalım oranına sahip olduğunu, yüksek GSTM3 ekspresyonu gösteren hastaların daha kötü prognoza ve düşük sağkalım oranına sahip olduğunu bildirdiler [184].

Lenfoma, melanoma ve kolorektal kanser türlerinde GSTO1'in daha yüksek eksprese olduğu rapor edilmiştir [164, 183, 186]. Piaggi vd. (2010), küçük hücreli dışı akciğer kanser hücrelerinde (NSCLC) yüksek GSTO1 ekspresyonu bulmuşlardır. Sisplatin tarafından indüklenen apoptotik hücrelerdeki yüksek GSTO1 ekspresyonunun NSCLC'lerde bir onkogen gibi davranarak apoptozu inhibe ettiğini ve tümör gelişiminde rol oynadığını ileri sürmüşlerdir [185].

Wang vd. (2020), küçük hücreli dışı akciğer kanserinde (NSCLC) GSTO1 aşırı ekspresyonun JAK/STAT3 sinyal yolunu aktive ettiğini JAK/STAT3 sinyal yolunun NSCLC hücre proliferasyonunu, metastazı ve invazyonu artırdığını ve hücrelerinin apoptozunu engellediğini bildirdiler. Ayrıca azalan GSTO1 ekspresyonunun hücrelerin büyümesini ve agresifliğini engellediği ve hücre döngüsünü inhibe ederek apoptozu artırabileceğini bildirmişlerdir [187]. Çalışmamız sonucunda tümör dokularının tümöre komşu normal dokulara kıyasla daha yüksek GSTO1 eksprese ettiği tespit edilmiştir. Wang ve arkadaşlarının çalışmalarına benzer şekilde yüksek GSTO1 ekspresyonunun pleomorfik adenom tümör hücrelerinin apoptozdan kaçışına katkı sağlayabileceği, tümör hücrelerinin gelişiminde ve büyümesinde rol oynayabileceği düşünülebilir.

Mitokondriyal enzim olarak bilinen GSTK1, mitokondri ve peroksizomlardaki yapısı ve lokalizasyonu bakımından diğer GST'lerden farklıdır. Bu enzimin enerji ve lipid metabolizmasında işlev gördüğü ve adiponektin biyosentezinin düzenleyicisi olduğu bilinir. Aynı zamanda proteinlerin doğru katlanması için bir şaperon olarak işlev gördüğü ileri sürülmüştür [188].

Buluş vd. (2019) kolon adenokarsinom tümör dokusu ile tümör çevresindeki normal dokularda GSTP1, GSTT1, GSTO1, GSTK1 ekspresyonunu immünohistokimyasal yöntemle araştırmışlar. GSTP1, GSTT1, GSTO1 ve GSTK1 ekspresyonunun tümör dokusu epitel hücrelerinde normal dokulara kıyasla daha yüksek eksprese olduğunu bulmuşlar; tümör dokusunda yüksek GSTK1, GSTT1, GSTP1 ve GSTO1 ekspresyonunun bu tümörlerin gelişimi ve ilerlemesine katkı sağladığını ileri sürmüşlerdir [164]. Çalışmamızda Buluş ve arkadaşlarının çalışmalarına benzer şekilde GSTO1 ekspresyonunun tümör dokusunda yüksek olduğunu ve GSTK1 ekspresyonunun normal dokuda yüksek olduğunu bulduk. Normal dokuda yüksek GSTK1 ekspresyonu normal hücrelerin tümöre dönüşmesini engelleyerek normal hücrelerin sağkalımına katkı sağlayabilir.

Sonuç olarak; yapılan tez çalışmasında 61 tükürük bezi adenoid kistik karsinom, mukoepidermoid karsinom ve pleomorfik adenom hasta dokularında GSTP1, bcl-2 ve kaspaz-3 protein ekspresyonları ve farklılıkları incelenmiş ve bu hastaların klinik ve demografik verileri ile karşılaştırılarak prognozundaki rolleri aydınlatılmıştır. Ayrıca 26 pleomorfik adenom tümör dokusu ve tümöre komşu normal tükürük bezi dokularında immünohistokimyasal yöntemle GST alfa, GST omega, GST teta, GST

sigma, GST mu ve GST kappa izoenzimlerinin protein ekspresyon ifadeleri ve farklılıkları incelenmiş, hastaların klinik ve demografik verileri ile karşılaştırılarak prognozundaki rolleri aydınlatılmıştır. Mukoepidermoid ve adenoid kistik karsinomda, bcl-2'nin malign tümörlü dokularda daha fazla ekspresyon gösterdiği, ayrıca bcl-2 ekspresyonu ile ortalama tümör boyutu arasında pozitif bir ilişki olduğu bulunmuştur. Bcl-2 ekspresyonu, malign tükürük bezi tümörleri için kötü prognostik bir belirteç olabilir ve bu tümörlerin patogenezinde rol oynayabilir. Pleomorfik adenomda, GSTA1 ve GSTK1 protein ekspresyonunun normal dokularda daha yüksek olduğu ve GSTM1 ve GSTO1 ekspresyonunun tümör dokularında daha yüksek olduğu bulunmuştur. Normal ve tümörlü dokularda GSTA1, GSTK1, GSTM1 ve GSTO1 ekspresyonundaki farklılıklar ile hastaların demografik ve klinik verileri arasında bir ilişki bulunamamıştır. Ancak bu çalışmada tüm tümör tiplerinde vaka sayısı sınırlıdır. Daha fazla vaka sayısı ve daha fazla tümör tipinde hastaların lenf nodu metastazı, uzak metastaz, nüks, tümör evresi gibi ileri tümör evresi verileri ile birlikte değerlendirilmesi gerekmektedir.

GST izoenzimlerinin ilaç dirençliliğindeki rolleri gözönünde bulundurulduğunda, kemoterapi ve radyoterapi gibi tedavi yöntemlerini hastaya uygulamadan önce GST izoenzim ekspresyonlarının tespit edilmesi önemlidir. GST izoenzimlerinin, kemoterapötik ilaca hastanın vereceği cevabı belirlemede rolü olduğu düşünüldüğünden, bu ön çalışmanın ileride tükürük bezi tümörünün tedavisinde hastaların prognozuna katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.



KAYNAKLAR

- [1] Tian, Z., Li, L., Wang, L., Hu, Y., & Li, J. (2010). Salivary gland neoplasms in oral and maxillofacial regions: a 23-year retrospective study of 6982 cases in an eastern Chinese population. *International journal of oral and maxillofacial surgery*, 39(3), 235-242.
- [2] Lin, C. C., Tsai, M. H., Huang, C. C., Hua, C. H., Tseng, H. C., & Huang, S. T. (2008). Parotid tumors: a 10-year experience. *American journal of otolaryngology*, 29(2), 94-100.
- [3] Omitola, O. G., Soyele, O. O., Butali, A., Akinshipo, A. O., Okoh, D., Sigbeku, O., & Adeola, H. A. (2019). Descriptive epidemiology of salivary gland neoplasms in Nigeria: An AOPRC multicenter tertiary hospital study. *Oral diseases*, 25(1), 142-149.
- [4] Goldblum, J. R., Lamps, L. W., McKenney, J., & Myers, J. L. (2017). *Rosai and Ackerman's Surgical Pathology E-Book*. Elsevier Health Sciences.
- [5] Hirvonen, A. (1999). Polymorphisms of xenobiotic-metabolizing enzymes and susceptibility to cancer. *Environmental health perspectives*, 107(suppl 1), 37-47.
- [6] Hayes, J. D., & Wolf, C. R. (1990). Molecular mechanisms of drug resistance. *Biochemical Journal*, 272(2), 281.
- [7] Hayes, J. D., & Pulford, D. J. (1995). The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance part I. *Critical reviews in biochemistry and molecular biology*, 30(6), 445-520.
- [8] Singh, B. B., Chandler Jr, F. W., Whitaker, S. B., & Forbes-Nelson, A. E. (1998). Immunohistochemical evaluation of bcl-2 oncoprotein in oral dysplasia and carcinoma. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 85(6), 692-698.
- [9] Pu, X., Storr, S. J., Zhang, Y., Rakha, E. A., Green, A. R., Ellis, I. O., & Martin, S. G. (2017). Caspase-3 and caspase-8 expression in breast cancer: caspase-3 is associated with survival. *Apoptosis*, 22(3), 357-368.
- [10] Aktaş, A., Giray, B., & Aktaş, G. (2009). Tükürük Salya; Özellikleri ve Görevleri Tanı Açısından Değeri. *ADO Klinik Bilimler Dergisi*, 3(2), 361-367.
- [11] BÜYÜKKÖPRÜ, D., & DURAL, S. (2008). Baş ve boyun radyoterapisinin tükürük akış hızı ve Ph sına olan etkisinin

- incelenmesi. *HacettepeDişhekimliği Fakültesi Derg.(. Clinical Dentistry and Research)*, 32(3), 71-78.
- [12] de Paula, F., Teshima, T. H. N., Hsieh, R., Souza, M. M., Nico, M. M. S., & Lourenco, S. V. (2017). Overview of human salivary glands: highlights of morphology and developing processes. *The Anatomical Record*, 300(7), 1180-1188.
- [13] Humphrey, S. P., & Williamson, R. T. (2001). A review of saliva: normal composition, flow, and function. *The Journal of prosthetic dentistry*, 85(2), 162-169.
- [14] Ross, M. H., Kaye, G. I., & Pawlina, W. (2003). Cartilage. *Histology: A text and atlas with cell and molecular biology*.
- [15] Levine, M. J. (1993). Salivary macromolecules. A structure/function synopsis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 694, 11-16.
- [16] Ship, J. A., Fox, P. C., & Baum, B. J. (1991). Normal salivary gland function: how much saliva is enough. *J Am Dent Assoc*, 122, 63-69.
- [17] Guyton, A.C., Hall, J.H. (2001). *Textbook of Medical Physiology*, Çavuşoğlu, H (Edt.), Tıbbi Fizyoloji (10.baskı, ss.740-742). İstanbul: Nobel Kitabevi.
- [18] Hasçıçek, S. Ö., Tunçel, D., Ünsal, Ö., & Kabukcuoğlu, F. (2020). Oncocytic lesions of salivary glands with morphological and immunohistochemical findings. *The Medical Bulletin of Sisli Etfal Hospital*, 54(1), 88.
- [19] Carlson, G. W. (2000). The salivary glands: embryology, anatomy, and surgical applications. *Surgical Clinics*, 80(1), 261-273.
- [20] Aktan, M. (2010). Baş Boyun Radyoterapisine Bağlı Tükürük Bezi Hasarının Önlenmesinde Çinko Sülfat ve Amifostin'in Karşılaştırılması: Randomize prospektif bir çalışma. *Tıpta Uzmanlık Tezi, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Erzurum*.
- [21] Faquin, W. C., & Powers, C. N. (2008). Salivary Gland FNA: Anatomic, Clinical, and Technical Considerations. In *Salivary Gland Cytopathology* (1th ed., pp. 17-28). Springer, Boston, MA.
- [22] Holmberg, K. V., & Hoffman, M. P. (2014). Anatomy, biogenesis and regeneration of salivary glands. *Saliva: secretion and functions*, 24, 1-13.
- [23] Bialek, E. J., Jakubowski, W., Zajkowski, P., Szopinski, K. T., & Osmolski, A. (2006). US of the major salivary glands: anatomy and spatial relationships, pathologic conditions, and pitfalls. *Radiographics*, 26(3), 745-763.
- [24] Martinez-Madrigal, F., & Micheau, C. (1989). Histology of the major salivary glands. *The American journal of surgical pathology*, 13(10), 879-899.

- [25] Barutçu, Ö. (2017). Tükürük α -amilaz aktivitesinin farklı yöntemlerle ölçülmesi ve stres fizyolojisinde kullanımı. Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı, Malatya.
- [26] Redman, R. S. (2008). On approaches to the functional restoration of salivary glands damaged by radiation therapy for head and neck cancer, with a review of related aspects of salivary gland morphology and development. *Biotechnic & Histochemistry*, 83(3-4), 103-130.
- [27] El-Naggar, A.K., Chan, J. K. C., Grandis, J. R., Takata, T., & Slootweg, P. J. (2017). WHO classification of head and neck tumors. (4th ed., pp.159-202) International Agency for Research on Cancer, Lyon. IARC
- [28] Mengi, E., Kara, C. O., Tumkaya, F., Ardic, F. N., Topuz, B., & Bir, F. (2020). Salivary gland tumors: A 15-year experience of a university hospital in Turkey. *Northern Clinics of İstanbul*, 7(4), 366.
- [29] Seethala, R. R. (2011). Histologic grading and prognostic biomarkers in salivary gland carcinomas. *Advances in anatomic pathology*, 18(1), 29-45.
- [30] Licitra, L., Grandi, C., Prott, F. J., Schornagel, J. H., Bruzzi, P., & Molinari, R. (2003). Major and minor salivary glands tumours. *Critical reviews in oncology/hematology*, 45(2), 215-225.
- [31] Hom-Ross, P. L., Morrow, M., & Ljung, B. M. (1997). Diet and the risk of salivary gland cancer. *American journal of epidemiology*, 146(2), 171-176..
- [32] To, V. S. H., Chan, J. Y. W., Tsang, R. K., & Wei, W. I. (2012). Review of salivary gland neoplasms. *International Scholarly Research Notices*, 2012.
- [33] Kumar, M., Nanavati, R., Modi, T. G., & Dobariya, C. (2016). Oral cancer: Etiology and risk factors: A review. *Journal of cancer research and therapeutics*, 12(2), 458.
- [34] Li, T. I., Chiang, M. T., Chiu, K. C., Lai, C. H., Liu, S. Y., & Shieh, Y. S. (2017). The association of betel quid, alcohol, and cigarettes with salivary gland tumor—A case-control study. *Journal of Dental Sciences*, 12(2), 151-155.
- [35] Schneider, A.B., Lubin, J., Ron, E., Abrahams, C., Stovall, M., Goel, A., et al. (1998). Salivary gland tumors after childhood radiation treatment for benign conditions of the head and neck: dose-response relationships. *Radiation research*, 149(6):625-30.
- [36] Saku, T., Hayashi, Y., Takahara, O., Matsuura, H., Tokunaga, M., Tokuoka, S., & Land, C. E. (1997). Salivary gland tumors among atomic bomb survivors, 1950 - 1987. *Cancer*, 79(8), 1465-1475.

- [37] Zheng, W., Shu, X. O., Ji, B. T., & Gao, Y. T. (1996). Diet and other risk factors for cancer of the salivary glands: A population - based case - control study. *International journal of cancer*, 67(2), 194-198.
- [38] Wilson, R. T., Moore, L. E., & Dosemeci, M. (2004). Occupational exposures and salivary gland cancer mortality among African American and white workers in the United States. *Journal of occupational and environmental medicine*, 287-297.
- [39] Serraino, D., Boschini, A., Carrieri, P., Pradier, C., Dorrucchi, M., Dal Maso, L., & Rezza, G. (2000). Cancer risk among men with, or at risk of, HIV infection in southern Europe. *Aids*, 14(5), 553-559.
- [40] Gatta, G., Guzzo, M., Locati, L. D., McGurk, M., & Prott, F. J. (2020). Major and minor salivary gland tumours. *Critical reviews in oncology/hematology*, 152, 102959.
- [41] Kordzińska-Cisek, I., & Grzybowska-Szatkowska, L. (2018). Salivary gland cancer-epidemiology. *Nowotwory. Journal of Oncology*, 68(1), 22-27.
- [42] Seethala, R. R. (2011). Histologic grading and prognostic biomarkers in salivary gland carcinomas. *Advances in anatomic pathology*, 18(1), 29-45.
- [43] Ünverdi, Ö. F., & Demir, A. (2019). Baş Boyun Kanseri Evrelemesine Güncel Bir Bakış: Geçmiş Kriterlerin Güncel Kriterlerle Karşılaştırmalı Analizi. A Perspective on Head and Neck Cancer Staging: Comparative Analysis of Past Criteria with Updated Criteria. *Kocaeli Tıp Dergisi*, 8(1), 67-73.
- [44] Brierley, J., Gospodarowicz, M. D and Wittekind C. (2016). TNM classification of malignant tumors. International union against cancer. (8th ed., pp. 47), *Oxford, England: Wiley-Blackwell*.
- [45] Mitelman, F., Johansson, B., & Mertens, F. (2007). The impact of translocations and gene fusions on cancer causation. *Nature Reviews Cancer*, 7(4), 233-245.
- [46] Mitelman, F., Johansson, B., Mertens, F., Schyman, T., & Mandahl, N. (2019). Cancer chromosome breakpoints cluster in gene - rich genomic regions. *Genes, Chromosomes and Cancer*, 58(3), 149-154.
- [47] Åman, P. (2005). Fusion oncogenes in tumor development. In *Seminars in cancer biology*, 15, 236-243.
- [48] Helman, L. J., & Meltzer, P. (2003). Mechanisms of sarcoma development. *Nature Reviews Cancer*, 3(9), 685-694.
- [49] Röijer, E., Kas, K., Van de Ven, W., & Stenman, G. (1997). Mapping of the 8q 12 translocation breakpoint to a 40-kb region in a pleomorphic adenoma with an ins (8; 3)(q12; p21. 3p14. 1). *Cytogenetic and Genome Research*, 76(1-2), 23-26.

- [50] Stenman, G., Andersson, M. K., & Andrén, Y. (2010). New tricks from an old oncogene: gene fusion and copy number alterations of MYB in human cancer. *Cell Cycle*, 9(15), 3058-3067.
- [51] Bahrami, A., Perez - Ordonez, B., Dalton, J. D., & Weinreb, I. (2013). An analysis of PLAG1 and HMGA2 rearrangements in salivary duct carcinoma and examination of the role of precursor lesions. *Histopathology*, 63(2), 250-262.
- [52] Seethala, R. R., Dacic, S., Ciepły, K., Kelly, L. M., & Nikiforova, M. N. (2010). A reappraisal of the MECT1/MAML2 translocation in salivary mucoepidermoid carcinomas. *The American journal of surgical pathology*, 34(8), 1106-1121.
- [53] Stenman, G. (2013). Fusion oncogenes in salivary gland tumors: molecular and clinical consequences. *Head and neck pathology*, 7(1), 12-19.
- [54] Bocaneti, F., Altamura, G., Corteggio, A., Velescu, E., & Borzacchiello, G. (2015). Expression of bcl-2 and p53 in bovine cutaneous fibropapillomas. *Infectious agents and cancer*, 10(1), 1-5.
- [55] Kiyoshima, T., Shima, K., Kobayashi, I., Matsuo, K., Okamura, K., Komatsu, S., & Sakai, H. (2001). Expression of p53 tumor suppressor gene in adenoid cystic and mucoepidermoid carcinomas of the salivary glands. *Oral oncology*, 37(3), 315-322.
- [56] Gülsar, M. G., Özdemir, H. N., Çeviker, K., Bağcı, Ö., Tatar, B., Yazkan, R., & Erdemoğlu, E. (2016). Tümörögenizde p53 geni ve genetik tedavi yaklaşımları. *Mühendislik Bilimleri ve Tasarım Dergisi*, 4(2), 133-135.
- [57] Vaseva, A. V., & Moll, U. M. (2009). The mitochondrial p53 pathway. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1787(5), 414-420.
- [58] Kandoth, C., McLellan, M. D., Vandin, F., Ye, K., Niu, B., Lu, C., & Ding, L. (2013). Mutational landscape and significance across 12 major cancer types. *Nature*, 502(7471), 333-339.
- [59] Korsmeyer, S. J. (1992). Bcl-2 initiates a new category of oncogenes: r regulators of cell death. *Blood*, 80(4), 879-886.
- [60] Cotter, T. G. (2009). Apoptosis and cancer: the genesis of a research field. *Nature Reviews Cancer*, 9(7), 501-507.
- [61] Lo Muzio, L., Staibano, S., Pannone, G., Bucci, P., Nocini, P. F., Bucci, E., & De Rosa, G. (1999). Expression of cell cycle and apoptosis-related proteins in sporadic odontogenic keratocysts and odontogenic keratocysts associated with the nevoid basal cell carcinoma syndrome. *Journal of dental research*, 78(7), 1345-1353.

- [62] Ramsay, J. A., From, L., & Kahn, H. J. (1995). Bcl-2 protein expression in melanocytic neoplasms of the skin. *Modern pathology: an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc.*, 8(2), 150-154.
- [63] Ahmed, S. T., Ahmed, A. M., Musa, D. H., Sulayvani, F. K., Al-Khyatt, M., & Pity, I. S. (2018). Proliferative index (Ki67) for prediction in breast duct carcinomas. *Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP*, 19(4), 955.
- [64] Li, L. T., Jiang, G., Chen, Q., & Zheng, J. N. (2015). Ki67 is a promising molecular target in the diagnosis of cancer. *Molecular medicine reports*, 11(3), 1566-1572.
- [65] Iatropoulos, M. J., & Williams, G. M. (1996). Proliferation markers. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 48(2-3), 175-181.
- [66] Liu, J., Fang, L., Cheng, Q., Li, L., Su, C., Zhang, B., ... & Zheng, J. (2012). Effects of G 250 promoter controlled conditionally replicative adenovirus expressing K i67 - si RNA on renal cancer cell. *Cancer science*, 103(10), 1880-1888.
- [67] BAŞ, A. B., YAVUZ, E., TUZLALI, S., İLHAN, R., ASOĞLU, O., & GÜNEY, N. (2006). Invasive breast carcinoma cases showing both estrogen and progesterone receptor positivity and c-erb B2 overexpression (a clinicopathologic study of 66 cases). *Turk Patoloji Derg*, 22, 5-10.
- [68] Lanitis, E., Dangaj, D., Hagemann, I. S., Song, D. G., Best, A., Sandaltzopoulos, R., & Powell Jr, D. J. (2012). Primary human ovarian epithelial cancer cells broadly express HER2 at immunologically-detectable levels. *Plos one*, 7(11), e49829.
- [69] Hsia, J. Y., Chen, C. Y., Chen, J. T., Hsu, C. P., Shai, S. E., Yang, S. S., & Miaw, J. (2003). Prognostic significance of caspase-3 expression in primary resected esophageal squamous cell carcinoma. *European Journal of Surgical Oncology (EJSO)*, 29(1), 44-48.
- [70] Kuwahara, D., Tsutsumi, K., Oyake, D., Ohta, T., Nishikawa, H., & Koizuka, I. (2003). Inhibition of caspase-9 activity and Apaf-1 expression in cisplatin-resistant head and neck squamous cell carcinoma cells. *Auris Nasus Larynx*, 30, 85-88.
- [71] Olsson, M., & Zhivotovsky, B. (2011). Caspases and cancer. *Cell Death & Differentiation*, 18(9), 1441-1449.
- [72] Ponta, H., Sherman, L., & Herrlich, P. A. (2003). CD44: from adhesion molecules to signalling regulators. *Nature reviews Molecular cell biology*, 4(1), 33-45.
- [73] Visvader, J. E., & Lindeman, G. J. (2008). Cancer stem cells in solid tumours: accumulating evidence and unresolved questions. *Nature reviews cancer*, 8(10), 755-768.

- [74] Senbanjo, L. T., & Chellaiah, M. A. (2017). CD44: a multifunctional cell surface adhesion receptor is a regulator of progression and metastasis of cancer cells. *Frontiers in cell and developmental biology*, 5, 18.
- [75] Ayoub, M. S. E. D., El-Shafei, M. M., Elias, W. Y., & El-kammar, H. A. (2018). Immunohistochemical evaluation of CD44 expression in mucoepidermoid carcinoma of human salivary glands. *Future Dental Journal*, 4(2), 197-204.
- [76] Screatton, G. R., Bell, M. V., Bell, J. I., & Jackson, D. G. (1993). The identification of a new alternative exon with highly restricted tissue expression in transcripts encoding the mouse Pgp-1 (CD44) homing receptor. Comparison of all 10 variable exons between mouse, human, and rat. *Journal of Biological Chemistry*, 268(17), 12235-12238.
- [77] Binmadi, N., Elsissi, A., & Elsissi, N. (2016). Expression of cell adhesion molecule CD44 in mucoepidermoid carcinoma and its association with the tumor behavior. *Head & Face Medicine*, 12(1), 1-5.
- [78] Arıcı, S., Kıvanç, F., & Ozer, H. (2006). Mide adenokarsinomlarında CD44 ve ki 67 ekspresyonu. *Turk Patoloji Dergisi*, 22, 26-31.
- [79] Naor, D., Sionov, R. V., & Ish-Shalom, D. (1997). CD44: structure, function and association with the malignant process. *Advances in cancer research*, 71, 241-319.
- [80] Williams, K., Motiani, K., Giridhar, P. V., & Kasper, S. (2013). CD44 integrates signaling in normal stem cell, cancer stem cell and (pre) metastatic niches. *Experimental biology and medicine*, 238(3), 324-338.
- [81] Su, W., Foster, S. C., Xing, R., Feistel, K., Olsen, R. H., Acevedo, S. F., ... & Sherman, L. S. (2017). CD44 transmembrane receptor and hyaluronan regulate adult hippocampal neural stem cell quiescence and differentiation. *Journal of Biological Chemistry*, 292(11), 4434-4445.]
- [82] Fitzpatrick, S. G., Montague, L. J., Cohen, D. M., & Bhattacharyya, I. (2013). CD44 expression in intraoral salivary ductal papillomas and oral papillary squamous cell carcinoma. *Head and neck pathology*, 7(2), 122-128.
- [83] Karimian, A., Ahmadi, Y., & Yousefi, B. (2016). Multiple functions of p21 in cell cycle, apoptosis and transcriptional regulation after DNA damage. *DNA repair*, 42, 63-71.
- [84] Teng, Y., Hu, L., Yu, B., Li, X., Chen, M., Fu, X., & Zhu, J. (2020). Cytoplasmic p27 is a novel prognostic biomarker and oncogenic protein for nasopharyngeal carcinoma. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 48(1), 336-344.

- [85] Abbastabar, M., Kheyrollah, M., Azizian, K., Bagherlou, N., Tehrani, S. S., Maniati, M., & Karimian, A. (2018). Multiple functions of p27 in cell cycle, apoptosis, epigenetic modification and transcriptional regulation for the control of cell growth: A double-edged sword protein. *DNA repair*, 69, 63-72.
- [86] Butler, R. T., Spector, M. E., Thomas, D., McDaniel, A. S., & McHugh, J. B. (2014). An immunohistochemical panel for reliable differentiation of salivary duct carcinoma and mucoepidermoid carcinoma. *Head and Neck Pathology*, 8(2), 133-140.
- [87] Goode, R. K., Auclair, P. L., & Ellis, G. L. (1998). Mucoepidermoid carcinoma of the major salivary glands: clinical and histopathologic analysis of 234 cases with evaluation of grading criteria. *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*, 82(7), 1217-1224.
- [88] Thompson, L. D. (2005). Mucoepidermoid carcinoma. *Ear, Nose & Throat Journal*, 84(12), 762-763.
- [89] Monoo, K., Sageshima, M., Ito, E., Nishihira, S., & Ishikawa, K. (2003). Histopathological grading and clinical features of patients with mucoepidermoid carcinoma of the salivary glands. *Nippon Jibiinkoka Gakkai Kaiho*, 106(3), 192-198.
- [90] Gnepp, D.R. (2009). Diagnostic Surgical Pathology of the Head and Neck. (2th ed., pp. 226-227), Elsever, Philadelphia.
- [91] Choudhary, K., Beena, V. T., Rajeev, R., Manju, S., Sivakumar, R., & Padmakumar, S. K. (2012). Adenoid cystic carcinoma of the hard palate: A case report with a review of the literature on therapeutic and prognostic aspects. *Ind J Oral Sci*, 3, 113.
- [92] Speight, P. M., & Barrett, A. W. (2009). Prognostic factors in malignant tumours of the salivary glands. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 47(8), 587-593.
- [93] Guntinas-Lichius, O. (2004). The facial nerve in the presence of a head and neck neoplasm: assessment and outcome after surgical management. *Current opinion in otolaryngology & head and neck surgery*, 12(2), 133-141.
- [94] Oplatek, A., Ozer, E., Agrawal, A., Bapna, S., & Schuller, D. E. (2010). Patterns of recurrence and survival of head and neck adenoid cystic carcinoma after definitive resection. *The Laryngoscope*, 120(1), 65-70.
- [95] Fukuda, M., Tanaka, S., Suzuki, S., Kusama, K., Kaneko, T., & Sakashita, H. (2007). Cimetidine induces apoptosis of human salivary gland tumor cells. *Oncology reports*, 17(3), 673-678.
- [96] Godge, P., Sharma, S., & Yadav, M. (2012). Adenoid cystic carcinoma of the parotid gland. *Contemporary clinical dentistry*, 3(2), 223.

- [97] Fordice, J., Kershaw, C., El-Naggar, A., & Goepfert, H. (1999). Adenoid cystic carcinoma of the head and neck. *Archives Otolaryngology-Head & Neck Surgery*, 125(2), 149-152.
- [98] Santucci, M., & Bondi, R. (1986). Histologic-prognostic correlations in adenoid cystic carcinoma of major and minor salivary glands of the oral cavity. *Tumori Journal*, 72(3), 293-300.
- [99] Huang, M., Ma, D., Sun, K., Yu, G., Guo, C., & Gao, F. (1997). Factors influencing survival rate in adenoid cystic carcinoma of the salivary glands. *International journal of oral and maxillofacial surgery*, 26(6), 435-439.
- [100] Dozic, B., Glumac, S., Boricic, N., Dozic, M., Anicic, B., & Boricic, I. (2016). Immunohistochemical expression of caspases 9 and 3 in adenoid cystic carcinoma of salivary glands and association with clinicopathological parameters. *Survival*, 21, 42-0.
- [101] Triantafillidou, K., Dimitrakopoulos, J., Iordanidis, F., & Koufogiannis, D. (2006). Management of adenoid cystic carcinoma of minor salivary glands. *Journal of oral and maxillofacial surgery*, 64(7), 1114-1120.
- [102] Rahimov, C., Gurbanov, V., & Musayev, J. (2016). Parotis yerleşimli pleomorfik adenomların yönetimi: Tek ekip deneyimi. *Gülhane Tıp Dergisi*, 58(4), 361.
- [103] Alaizari, N. A., Tarakji, B., Al-Maweri, S. A., Al-Shamiri, H. M., Darwish, S., & Baba, F. (2015). p53 expression in pleomorphic adenoma of salivary glands: A systematic review and meta-analysis. *Archives of Oral Biology*, 60(9), 1437-1441.
- [104] Gordón-Núñez, M. A., Godoy, G. P., Soares, R. C., De Souza, L. B., de Almeida Freitas, R., Queiroz, L., & QUEIROZ, L. (2008). Immunohistochemical expression of PCNA, p53 and bcl-2 in pleomorphic adenomas. *Int J Morphol*, 26(3), 567-572.
- [105] Matturri, L., Lavezzi, A. M., Biondo, B., & Mantovani, M. (1996). Cell kinetics of pleomorphic adenomas of the parotid gland. *European Journal of Cancer Part B: Oral Oncology*, 32(3), 154-157.
- [106] Witt, R. L. (2002). The significance of the margin in parotid surgery for pleomorphic adenoma. *The Laryngoscope*, 112(12), 2141-2154.
- [107] Ohki, K., Kumamoto, H., Ichinohasama, R., Suzuki, M., Yamaguchi, T., Echigo, S., & Ooya, K. (2001). Genetic analysis of DNA microsatellite loci in salivary gland tumours: comparison with immunohistochemical detection of hMSH2 and p53 proteins. *International journal of oral and maxillofacial surgery*, 30(6), 538-544.

- [108] Shamloo, N., Taghavi, N., Yazdani, F., Shalpoush, S., & Ahmadi, S. (2018). CD44 expression in pleomorphic adenoma, carcinoma ex pleomorphic adenoma and their adjacent normal salivary glands. *Dental Research Journal*, 15(5), 361.
- [109] Chooback, N., Shen, Y., Jones, M., Kasaian, K., Martin, M., Ng, T., & Ho, C. (2017). Carcinoma ex pleomorphic adenoma: case report and options for systemic therapy. *Current Oncology*, 24(3), 251-254.
- [110] Axelrod, M. J., Mendez, R. E., Khalil, A., Leimgruber, S. S., Sharlow, E. R., Capaldo, B., & Jameson, M. J. (2015). Synergistic apoptosis in head and neck squamous cell carcinoma cells by co - inhibition of insulin - like growth factor - 1 receptor signaling and compensatory signaling pathways. *Head & neck*, 37(12), 1722-1732.
- [111] Nelson, D. R., Koymans, L., Kamataki, T., Stegeman, J. J., Feyereisen, R., Waxman, D. J., & Nebert, D. W. (1996). P450 superfamily: update on new sequences, gene mapping, accession numbers and nomenclature. *Pharmacogenetics*, 6(1), 1-42.
- [112] Nelson, D. R., Kamataki, T., Waxman, D. J., Guengerich, F. P., Estabrook, R. W., Feyereisen, R., & Nebert, D. W. (1993). The P450 superfamily: update on new sequences, gene mapping, accession numbers, early trivial names of enzymes, and nomenclature. *DNA and cell biology*, 12(1), 1-51.
- [113] Russell, D. W. (2003). The enzymes, regulation, and genetics of bile acid synthesis. *Annual review of biochemistry*, 72(1), 137-174.
- [114] Seliskar, M., & Rozman, D. (2007). Mammalian cytochromes P450—importance of tissue specificity. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1770(3), 458-466.
- [115] Zhang, H., Gay, S. C., Shah, M., Foroozesh, M., Liu, J., Osawa, Y., ... & Hollenberg, P. F. (2013). Potent mechanism-based inactivation of cytochrome P450 2B4 by 9-ethynylphenanthrene: implications for allosteric modulation of cytochrome P450 catalysis. *Biochemistry*, 52(2), 355-364.
- [116] Pettersson, H. (2009). *Steroid-Metabolizing Cytochrome P450 (CYP) Enzymes in the maintenance of cholesterol and sex hormone levels*. Doctoral dissertation, Acta Universitatis Upsaliensis.
- [117] Omura, T. (2006). Mitochondrial P450s. *Chemico-biological interactions*, 163(1-2), 86-93.
- [118] Lamprecht, G. A. (2009). The screening for single nucleotide polymorphisms of CYP3A4 in chronic myelogenous leukemia patients receiving imatinib. Doctoral dissertation, University of the Free State.

- [119] Estabrook, R. W. (2003). A passion for P450s (remembrances of the early history of research on cytochrome P450). *Drug metabolism and disposition*, 31(12), 1461-1473.
- [120] Kılıç, M. (2013). Küçük Hücreli Dışı Akciğer Karsinomunda Sitokrom P450 ve Glutasyon S-Transferaz İzozimlerinin Gen ve Protein Ekspresyon Düzeylerinin Belirlenmesi. Doktora Tezi. Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kırıkkale.
- [121] Sies, H. (1993). Strategies of antioxidant defense. *European journal of biochemistry*, 215(2), 213-219.
- [122] Landriscina, M., Maddalena, F., Laudiero, G., & Esposito, F. (2009). Adaptation to oxidative stress, chemoresistance, and cell survival. *Antioxidants & redox signaling*, 11(11), 2701-2716.
- [123] Sies, H. (1999). Glutathione and its role in cellular functions. *Free Radical Biology and Medicine*, 27(9-10), 916-921.
- [124] Lu, C. S. (2009). Regulation of glutathione synthesis. *Molecular Aspects of Medicine*, 30(1-2), 42-59.
- [125] Ripalda, M. J., Rudolph, N., & Wong, S. L. (1989). Developmental patterns of antioxidant defense mechanisms in human erythrocytes. *Pediatric research*, 26(4), 366-369.
- [126] Sturgis, E. M., & Wei, Q. (2002). Genetic susceptibility–molecular epidemiology of head and neck cancer. *Current opinion in oncology*, 14(3), 310-317.
- [127] Özel, M. A., Bayramiçli, U.O. (2010) İlaçlar ve kimyasal ajanların neden olduğu karaciğer hastalıkları. *Maltepe Tıp Dergisi*, 2(2), 59-71.
- [128] Thier, R., Brüning, T., Roos, P. H., Rihs, H. P., Golka, K., Ko, Y., & Bolt, H. M. (2003). Markers of genetic susceptibility in human environmental hygiene and toxicology: the role of selected CYP, NAT and GST genes. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 206(3), 149-171.
- [129] Koçdoğan, K. A. (2016). Meme kanserli hastalarda glutasyon s-transferaz izozimlerinin çoklu ilaç direnç mekanizmasındaki proteinlerle olan ilişkilerinin incelenmesi. Doktora Tezi. Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Kırıkkale.
- [130] Vural, N. (2005). Toksikoloji. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları*, 73(381), 504-520.
- [131] Akgün, H., Balkan, A., Bilgin, A. A, Çalış, Ü., Gökhan, N., Dalkara, S., Erdoğan, H., Erol, D.D., Ertan, M., Özkanlı, F., Palaska, E., Saraç, S., Şafak, C., Tozkoparan, B. (2004). *Farmasötik Kimya* (2 th et., pp. 109-148). Ankara. Hacettepe Yayınları.

- [132] Li, J., Xia, Z., & Ding, J. (2005). Thioredoxin - like domain of human κ class glutathione transferase reveals sequence homology and structure similarity to the θ class enzyme. *Protein science*, 14(9), 2361-2369.
- [133] Oakley, A. (2011). Glutathione transferases: a structural perspective. *Drug metabolism reviews*, 43(2), 138-151.
- [134] Reinemer, P., Dirr, H. W., Ladenstein, R., Schäffer, J., Gallay, O., & Huber, R. (1991). The three - dimensional structure of class pi glutathione S - transferase in complex with glutathione sulfonate at 2.3 Å resolution. *The EMBO Journal*, 10(8), 1997-2005.
- [135]. Singh, R. R., and Reindi, K. M. (2021). Glutathione S-Transferases in Cancer. *Antioxidants*. 10(5),701.
- [136] Louie, S. M., Grossman, E. A., Crawford, L. A., Ding, L., Camarda, R., Huffman, T. R., & Nomura, D. K. (2016). GSTP1 is a driver of triple-negative breast cancer cell metabolism and pathogenicity. *Cell chemical biology*, 23(5), 567-578.
- [137] Hayes, J. D., & McLellan, L. I. (1999). Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a co-ordinately regulated defence against oxidative stress. *Free radical research*, 31(4), 273-300.
- [138] Luo, W., Kinsey, M., Schiffman J. D., & Lessnick, I. S. (2011). Glutathione S-Transferases in pediatric cancer, *Frontiers in Oncology*, 1(39), 1-11.
- [139] Hayes, J. D., Flanagan, J. U., & Jowsey, I. R. (2005). Glutathione transferases. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 45, 51-88.
- [140] Board, P. G., Coggan, M., Chelvanayagam, G., Easteal, S., Jermiin, L. S., Schulte, G. K., & Pandit, J. (2000). Identification, characterization, and crystal structure of the Omega class glutathione transferases. *Journal of Biological Chemistry*, 275(32), 24798-24806.
- [141] Whitbread, A. K., Tetlow, N., Eyre, H. J., Sutherland, G. R., & Board, P. G. (2003). Characterization of the human Omega class glutathione transferase genes and associated polymorphisms. *Pharmacogenetics and Genomics*, 13(3), 131-144.
- [142] Yim, J. J., Yoo, C. G., Lee, C. T., Kim, Y. W., Han, S. K., & Shim, Y. S. (2002). Lack of association between glutathione S-transferase P1 polymorphism and COPD in Koreans. *Lung*, 180(2), 119-125.
- [143] Sobti, R. C., Kaur, S., Kaur, P., Singh, J., Gupta, I., Jain, V., & Nakahara, A. (2006). Interaction of passive smoking with GST (GSTM1, GSTT1, and GSTP1) genotypes in the risk of cervical cancer in India. *Cancer genetics and cytogenetics*, 166(2), 117-123.

- [144] Allen, T. C., Granville, L. A., Cagle, P. T., Haque, A., Zander, D. S., & Barrios, R. (2007). Expression of glutathione S-transferase π and glutathione synthase correlates with survival in early stage non-small cell carcinomas of the lung. *Human pathology*, 38(2), 220-227.
- [145] Morel, F., Rauch, C., Coles, B., Le Ferrec, E., & Guillouzo, A. (2002). The human glutathione transferase alpha locus: genomic organization of the gene cluster and functional characterization of the genetic polymorphism in the hGSTA1 promoter. *Pharmacogenetics and Genomics*, 12(4), 277-286.
- [146] Mulder, T. P., Court, D. A., & Peters, W. H. (1999). Variability of glutathione S-transferase α in human liver and plasma. *Clinical chemistry*, 45(3), 355-359.
- [147] Whalen, R., and Boyer, T. D. (1998). Human glutathione S-transferases. *SEMINARS IN LIVER DISEASE*, 18 (4), 345-358.
- [148] Lao, X., Peng, Q., Lu, Y., Li, S., Qin, X., Chen, Z., & Chen, J. (2014). Glutathione S-transferase gene GSTM1, gene-gene interaction, and gastric cancer susceptibility: evidence from an updated meta-analysis. *Cancer cell international*, 14(1), 1-15.
- [149] Hayes, J. D., & Strange, R. C. (2000). Glutathione S-transferase polymorphisms and their biological consequences. *Pharmacology*, 61(3), 154-166.
- [150] Takahashi, Y., Campbell, E. A., Hirata, Y., Takayama, T., & Listowsky, I. (1993). A basis for differentiating among the multiple human Mu-glutathione S-transferases and molecular cloning of brain GSTM5. *Journal of Biological Chemistry*, 268(12), 8893-8898.
- [151] Landi, S. (2000). Mammalian class theta GST and differential susceptibility to carcinogens: a review. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 463(3), 247-283.
- [152] Meyer, D. J., Coles, B., Pemble, S. E., Gilmore, K. S., Fraser, G. M., & Ketterer, B. (1991). Theta, a new class of glutathione transferases purified from rat and man. *Biochemical Journal*, 274(2), 409-414.
- [153] Abdel-Rahman, S. Z., El-Zein, R. A., Anwar, W. A., & Au, W. W. (1996). A multiplex PCR procedure for polymorphic analysis of GSTM1 and GSTT1 genes in population studies. *Cancer letters*, 107(2), 229-233.
- [154] Fernández-Cañón, J. M., Baetscher, M. W., Finegold, M., Burlingame, T., Gibson, K. M., & Grompe, M. (2002). Maleylacetoacetate isomerase (MAAI/GSTZ)-deficient mice reveal a glutathione-dependent nonenzymatic bypass in tyrosine catabolism. *Molecular and cellular biology*, 22(13), 4943-4951.

- [155] Blackburn, A. C., Matthaei, K. I., Lim, C., Taylor, M. C., Cappello, J. Y., Hayes, J. D., & Board, P. G. (2006). Deficiency of glutathione transferase zeta causes oxidative stress and activation of antioxidant response pathways. *Molecular pharmacology*, 69(2), 650-657.
- [156] Özeydin, A. (2000). Glutatyon S-Transferaz GSTM-1 ve GSTT-1 Polimorfizimlerinin Glutatyonla İlişkili Detoksifikasyon Sistemlerine Etkisi. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [157] Flanagan, J. U., & Smythe, M. L. (2011). Sigma-class glutathione transferases. *Drug Metabolism Reviews*, 43(2), 194-214.
- [158] Kural, C., Oguztuzun, S., Şimşek, G. G., Guresci, S., Kaygın, P., Yasar, S., & Izci, Y. (2019). Expression of Sigma-Class Glutathione-S-Transferase in Fetal and Pediatric Filum Terminale Samples: A Comparative Study. *Medicina*, 55(5), 133.
- [159] Harris, J. M., Meyer, D. J., Coles, B., & Ketterer, B. (1991). A novel glutathione transferase (13-13) isolated from the matrix of rat liver mitochondria having structural similarity to class theta enzymes. *Biochemical Journal*, 278(1), 137-141.
- [160] Morel, F., & Aninat, C. (2011). The glutathione transferase kappa family. *Drug metabolism reviews*, 43(2), 281-291.
- [161] Tiis, R. P., Osipova, L. P., Lichman, D. V., Tabikhanova, L. E., Churkina, T. V., Voronina, E. N., & Krivoschekov, S. G. (2016). Distribution of polymorphic variants of the GSTP1 gene involved in biotransformation of xenobiotics in Tundra Nenets and Nganasans in comparison to Russians. *Human Physiology*, 42(2), 214-222.
- [162] Boyer, T. D. (1989). The glutathione S-transferases: an update. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 9(3), 486-496.
- [163] Meyer, M. T., Watermann, C., Dreyer, T., Ergün, S., & Karnati, S. (2021). 2021 Update on Diagnostic Markers and Translocation in Salivary Gland Tumors. *International journal of molecular sciences*, 22(13), 6771.
- [164] Bulus, H., Oguztuzun, S., Güler Simsek, G., Kilic, M., Ada, A. O., Göl, S., & Iscan, M. (2019). Expression of CYP and GST in human normal and colon tumor tissues. *Biotechnic & Histochemistry*, 94(1), 1-9.
- [165] Jia, L., Esguerra, R. L., Tang, X., Yin, H., Sakamoto, K., Okada, N., & Takagi, M. (2004). Prognostic value of apoptosis and apoptosis - associated proteins in salivary gland adenoid cystic carcinoma. *Pathology international*, 54(4), 217-223.
- [166] Pammer, J., Horvat, R. I., Weninger, W., & Ulrich, W. (1995). Expression of bcl-2 in salivary glands and salivary gland adenomas: A contribution to the reserve cell theory. *Pathology-Research and Practice*, 191(1), 35-41.

- [167] Yin, H. F., Okada, N., & Takagi, M. (2000). Apoptosis and apoptotic - related factors in mucoepidermoid carcinoma of the oral minor salivary glands. *Pathology international*, 50(8), 603-609.
- [168] Yanez, M., Roa, I., García, M., Ibacache, G., & Villaseca, M. (1999). Bcl-2 gene protein expression in salivary gland tumors. *Revista Medica de Chile*, 127(2), 139-142.
- [169] Soini, Y., Törmänen, U., & Pääkkö, P. (1998). Apoptosis is inversely related to bcl-2 but not to bax expression in salivary gland tumours. *Histopathology*, 32(1), 28-34.
- [170] Manjunatha, B.S., Kumar, G.S, Raghunath, V. (2011). Immunohistochemical expression of Bcl-2 in benign and malignant salivary gland tumours. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 1;16(4), e503-7.
- [171] Aoki, T., Tsukinoki, K., Karakida, K., Ota, Y., Otsuru, M., & Kaneko, A. (2004). Expression of cyclooxygenase-2, Bcl-2 and Ki-67 in pleomorphic adenoma with special reference to tumor proliferation and apoptosis. *Oral Oncology*, 40(9), 954-959.
- [172] da Silva, G. M., Saavedra, V., Ianez, R. C., de Sousa, E. A., Gomes, Á. N., Kelner, N., & Coutinho - Camillo, C. M. (2019). Apoptotic signaling in salivary mucoepidermoid carcinoma. *Head & Neck*, 41(9), 2904-2913.
- [173] Gomes, C. C., Bernardes, V. F., Diniz, M. G., De Marco, L., & Gomez, R. S. (2012). Anti-apoptotic gene transcription signature of salivary gland neoplasms. *BMC cancer*, 12(1), 1-6.
- [174] Campbell, J. A. H., Corrigall, A. V., Guy, A., & Kirsch, R. E. (1991). Immunohistologic localization of alpha, mu, and pi class glutathione S - transferases in human tissues. *Cancer*, 67(6), 1608-1613.
- [175] Zieper, M., Zhang, L., Priddy, R., & Xiao, Y. (1994). The expression of placental glutathione-s-transferase (gst-pi) in human normal salivary-glands and tumors. *International Journal of Oncology*, 5(4), 961-966.
- [176] Saisawang, C., Wongsantichon, J., Robinson, R. C., & Ketterman, A. J. (2019). Glutathione transferase Omega 1 - 1 (GSTO1 - 1) modulates Akt and MEK1/2 signaling in human neuroblastoma cell SH - SY5Y. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 87(7), 588-595.
- [177] Liu, X., Sui, X., Zhang, C., Wei, K., Bao, Y., Xiong, J., & Tang, F. (2020). Glutathione S-transferase A1 suppresses tumor progression and indicates better prognosis of human primary hepatocellular carcinoma. *Journal of Cancer*, 11(1), 83.
- [178] Sheweita, S. A., & Tilmisany, A. K. (2003). Cancer and phase II drug-metabolizing enzymes. *Current drug metabolism*, 4(1), 45-58.

- [179] Deng, Q., He, B., Pan, Y., Sun, H., Liu, X., Chen, J., & Wang, S. (2015). Polymorphisms of GSTA1 contribute to elevated cancer risk: evidence from 15 studies. *J BUON*, 20(1), 287-295.
- [180] Aydın, S., Oguztuzun, S., Gurbuz, N., Gul, A., Sanlı, A., Ozhavalı, M., & Karadayı, N. (2010). Immunohistochemical Localization of Glutathione S-Transferase Isoenzymes (GSTA, GSTP, GSTM4, and GSTT1) and Tumour Marker p53 in Matched Tissue from Normal Larynx and Laryngeal Carcinoma: Correlations with Prognostic Factors. *Journal of Otolaryngology-Head & Neck Surgery*, 39(5), 542-550.
- [181] Yang, F., Wen, J., Luo, K., & Fu, J. (2021). Low GSTM3 expression is associated with poor disease - free survival in resected esophageal squamous cell carcinoma. *Diagnostic Pathology*, 16(1), 1-12.
- [182] Kearns, P. R., Chrzanowska - Lightowers, Z. M., Pieters, R., Veerman, A., & Hall, A. G. (2003). Mu class glutathione S - transferase mRNA isoform expression in acute lymphoblastic leukaemia. *British journal of haematology*, 120(1), 80-88.
- [183] Meding, S., Balluff, B., Elsner, M., Schöne, C., Rauser, S., Nitsche, U., & Walch, A. (2012). Tissue - based proteomics reveals FXVD3, S100A11 and GSTM3 as novel markers for regional lymph node metastasis in colon cancer. *The Journal of pathology*, 228(4), 459-470.
- [184] Mitra, A. P., Pagliarulo, V., Yang, D., Waldman, F. M., Datar, R. H., Skinner, D. G., & Cote, R. J. (2009). Generation of a concise gene panel for outcome prediction in urinary bladder cancer. *Journal of clinical oncology*, 27(24), 3929.
- [185] Piaggi, S., Raggi, C., Corti, A., Pitzalis, E., Mascherpa, M. C., Saviozzi, M., & Casini, A. F. (2010). Glutathione transferase omega 1-1 (GSTO1-1) plays an anti-apoptotic role in cell resistance to cisplatin toxicity. *Carcinogenesis*, 31(5), 804-811.
- [186] Wang, L. K., Yue, H. L., Peng, X. J., & Zhang, S. J. (2019). GSTO1 regards as a meritorious regulator in cutaneous malignant melanoma cells. *Molecular and Cellular Probes*, 48, 101449.
- [187] Wang, K., Zhang, F. L., & Jia, W. (2021). Glutathione S-transferase ω 1 promotes the proliferation, migration and invasion, and inhibits the apoptosis of non-small cell lung cancer cells, via the JAK/STAT3 signaling pathway. *Molecular Medicine Reports*, 23(1), 1-1.
- [188] Morel, F., & Aninat, C. (2011). The glutathione transferase kappa family. *Drug metabolism reviews*, 43(2), 281-291.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Muharrem ATLI

Doğum Tarihi :

Yabancı Dil : İngilizce

Eğitim Durumu

Lisans :

Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü (2000-2004)

Yüksek Lisans :

Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı (2005-2007)

Doktora :

Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı (2018-2022)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl/Yıllar:

Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarı (2005-2009)

Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Laboratuvarı (2011-2022)

Yayımları (SCI) :

Yildiz, D., Atli, M., Yildiz, H & Oztas, H. (2009). The effect of azaserine on cysteine transport in Erythrocytes. Trakia J. Sci. 8, 1-10

Atlı, M., Çetin, S., Oğuztüzün, S., Başak, K., Aydın ,S., Yılmaz, C., Kat Anıl, G., Demir, G.M., Kardiyen, F., Ateş, V. The role of Glutathione S-Transferases in Pleomorphic Adenomas of the Salivary Glands. 2022; 6(1), 12-24

Basak, K., Gunhan, O., Caputcu, M., Saglam, S., Atli, M., Demir, D., Oguztuzun, S. Subepithelial fibrinous accumulation and associated epithelial downward proliferation in laryngeal nodules. South. Clin. Ist. Euras 2022; 33(2):109-115

Yayınları (Diğer):

Kaygin, P., Oğuztüzün, S., Şimşek, G.G., Özkan, Ş., Sarıaltın, Y.S., Koçdoğan, K. A., Dirican, O., Çetin, S., Atlı, M. Hbd-1 Ve Hbd-3 Antimikrobiyal Peptitlerinin Ürotelyal Kansere Dokularındaki Ekspresyonları. 1. international-multidisciplinary-cancer-research-congress-mokad,18-22 Eylül 2019. sözlü bildiri . Diyarbakır, Turkey

Atlı, M., Mortaş, T., Sezen, C.Ş. Nigella sativa'nın streptozotosine bağlı diyabetik sıçanlarda alt ekstremitelerde iskemi reperfüzyon hasarında karaciğer dokusuna koruyucu histopatolojik etkileri. 4.Uluslararası Hipokrat Tıp ve Sağlık Bilimleri Kongresi (Online) 25-26 Eylül 2020. Antalya, Turkey

Kilic, M., Kaygin, P., Kocdogan, K. A., Simsek, G. G., Atli, M., Oguztuzun, S. Immunohistochemical Determination of Protein Expressions of CYP1A1, CYP1B1 and GSTP1 Enzymes in Patients with Urothelial Carcinoma. 8th Multidisciplinary Cancer Research (Online) Congress, PP18, 16 – 17 January 2021.

Araştırma Alanları

:

Moleküler Biyoloji ve Genetik, Kanser Biyolojisi, İnsan Biyokimyası