

T.C.
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

BEYİN TÜMÖRLÜ HASTALARDA GLUTATYON S-TRANSFERAZ
İZOENZİMLERİNİN EKSPRESYONLARININ İNCELENMESİ

TUĞBAĞ BAYRAM

HAZİRAN, 2018

Biyoloji Anabilim Dalında Tuğbağ BAYRAM tarafından hazırlanan BEYİN TUMÖRLÜ HASTALARDA GLUTATYON S-TRANSFERAZ İZOENZİMLERİNİN EKSPRESYONLARININ İNCELENMESİ adlı Yüksek Lisans Tezinin Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. İlhami TÜZÜN

Anabilim Dalı Başkanı

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

Prof. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN

Danışman

Jüri Üyeleri

Başkan : Prof. Dr. Nursel GÜL _____

Üye : Prof. Dr. Nazife YİĞİT KAYHAN _____

Üye (Danışman) : Prof. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN _____

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

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

Prof. Dr. Mustafa YİĞİTOĞLU

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

BEYİN TÜMÖRLÜ HASTALARDA GLUTATYON S-TRANSFERAZ İZOENZİMLERİNİN EKSPRESYONLARININ İNCELENMESİ

BAYRAM, Tuğbağ

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN

Haziran 2018,79 sayfa

Çalışmada, beyin tümörünün farklı tiplerindeki GSTP1 ve GSTM1 izoenzimlerinin ekspresyonları üzerinde inceleme yapıp günümüzdeki literatürlerle kıyaslaması yapıldı. 2016-2017 yılları arasındaki beyin tümörlü 55 hastada immunohistokimyasal metod kullanılarak, GSTP1 ve GSTM1 izozimlerin ekspresyonları çalışıldı. Demografik parametreler de dikkate alınarak izoenzimlerin ekspresyon sonuçlarıyla karşılaştırıldı. Beyin tümörlü hastaların yaş ortalaması 46.72 olup 29 hasta bayanlardan, 26 hasta erkeklerden oluşturuldu.55 beyin tümörlü hastada 57 beyin tümör çeşidine ulaşıldı. Bunlar arasında 12 olguda meningioma,12 olguda metastaz,9 hastada glioblastioma, 5 örnekte hipofiz adenomu tanısı bulundu. Hipofiz bezi adenom dokularında GSTP1 ve GSTM1 ekspresyon miktarının yüksek olduğu gözlemlendi. Buna karşılık glioblastoma dokularında GSTP1 ekspresyon miktarı az olduğu belirlendi.Hipofiz bezindeki tümörlü dokuların, diğer tümörlü dokulara oranla ilaç metabolizma kapasitesinin (direncinin) yüksek olduğu bulundu.. Bu bulguların ilaç tedavisini güçleştirdiği düşünüldü.

Anahtar kelimeler: BeyinTümör, Glutatyon-S-Transferaz, immünohistokimya

ABSTRACT

GLUTATHIONE- S-TRANSFERASES ENZYME EXPRESSION IN PATIENTS WITH INTRACRANIAL TUMORS

BAYRAM, Tuğbağ

Kırıkkale University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology, M.Sc. Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN

June 2018, 79 pages

The aim of the present study is to show the expression of GSTP1 and GSTM1 in different types of brain tumors and to compare the results with current literature. The expression of GSTP1 and GSTM1 was analyzed using immunostaining in 55 patient with intracranial tumors between 2016 and 2017. The demographic features of the patients were documented and the results of expressions were compared. The mean age of the patients was 46.72 years and 29 patients were female, 26 were male. Fifty-seven specimens were obtained from 55 patients. Among them, meningioma was diagnosed in 12, metastases in 12, glioblastoma in 9 and pituitary adenoma in 5 samples. The highest GSTP1 and GSTM1 expressions were observed in pituitary adenomas, while the least GSTP1 expression was detected in glioblastoma. Pituitary adenomas may have higher drug metabolizing capacities than other brain tumors. This can make their medical treatment difficult.

Key words: Brain tumor, Glutathione-S-Transferase, immunohistochemistry

TEŞEKKÜR

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

Çalışmalarımın deneysel aşamalarında doku kazanımı ve immunohistokimyasal sonuçlarımın değerlendirilmesinde bana yardımcı olan Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Beyin Cerrahisi Prof.Dr. Yusuf İZCİ'ye ve Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Uzmanı Doç. Dr. Gülçin GÜLER ŞİMŞEK'e teşekkür ederim. Tez çalışmam boyunca sağladıkları imkânlardan dolayı Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Laboratuvarları Müdürlüğü'ne teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek Lisans hayatım boyunca her zaman yanımda olan ve her zaman da yanımda olacağına inandığım, benden bilgisini, desteğini, yardımlarını eksik etmeyen Sayın Kırıkkale Çelebi Kaymakamı Nur Sevinç ÖZBEK ve Çelebi Sosyal Yardımlaşma ve Dayanışma Vakıf Müdürü Durmuş SARIKAYA'ya çok teşekkür ederim.

Bu zamana kadar maddi ve manevi her konuda her zaman arkamda olan ve destekleriyle bana güç veren annem Ayşe BAYRAM, babam Muzaffer BAYRAM, kardeşim Müjdat BAYRAM'a borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

| | |
|---|-------------|
| ÖZET | i |
| ABSTRACT | ii |
| TEŞEKKÜR | iii |
| İÇİNDEKİLER | iv |
| ÇİZELGELER DİZİNİ | vi |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | vii |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ | viii |
| 1.GİRİŞ | 1 |
| 1.1 Beyin Tümörü | 3 |
| 1.1.1. Beyin Tümörünün Epidemiyolojisi ve Etyolojisi | 3 |
| 1.1.3. Beyin Tümör Çeşitleri..... | 11 |
| 1.2.1.1. Glutasyonun Biosentezi..... | 19 |
| 1.2.1.2. γ -Glutamil Transpeptidaz..... | 20 |
| 1.2.1.3. Glutasyon Peroksidaz | 21 |
| 1.2.1.4. Glutasyon Redüktaz | 21 |
| 1.2.2. Glutasyon – S – Transferaz Enzimi ve Ksenobiyotik İlişkisi | 22 |
| 1.2.3. Glutasyon-S-Transferazların Sınıflandırılması | 24 |
| 1.2.3.1. Mü Sınıfı Glutasyon S-Transferazlar | 24 |
| 1.2.3.2. Teta Sınıfı Glutasyon S-Transferazlar | 25 |
| 1.2.3.3. Pi Sınıfı Glutasyon S-Transferazlar | 25 |
| 1.2.4. Glutasyon-S-Transferazların Substratları | 25 |
| 1.2.5. Kemoterapide İlaç Direnci ve Glutasyon-S-Transferaz İlişkisi | 26 |
| 2. ÇALIŞMANIN AMACI | 33 |
| 3. MATERYAL ve YÖNTEM | 34 |
| 3.1. Materyal | 34 |

| | |
|--|-----------|
| 3.1.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler..... | 34 |
| 3.1.2. Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler | 35 |
| 3.2. Kullanılan Metot..... | 36 |
| 3.2.1. Materyal Kazanımı ve Hazırlanışı | 36 |
| 3.2.2. İmmunohistokimya Prosedürü..... | 39 |
| 4.2. GST İzozimlerinin İstatiksel Olarak Kendi Aralarında Karşılaştırılması..... | 42 |
| 4.3 GST İzozimlerinin Hasta Verileriyle Karşılaştırılması | 51 |
| 4.3.1. Yaşa Göre Karşılaştırma; | 51 |
| 4.3.2. Cinsiyete Göre Karşılaştırma;..... | 51 |
| 5. TARTIŞMA..... | 52 |
| 6. KAYNAKLAR | 56 |

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

ÇİZELGE

| | |
|--|----|
| Çizelge 1.1: Glutasyon-S-transferazın doku dağılım tablosu (68)..... | 27 |
| Çizelge 2.1: Hasta Bilgileri Tablosu..... | 39 |
| Çizelge 4.1: GBM, Metastaz, meningioma, anaplastik astrosima ve hipofiz bezi adenomlarında ve normal dokuda GSTP1 ve GSTM1 izozimlerinin ortalama değerlerinin karşılaştırılması. | 43 |
| Çizelge 4.2: Histolojik teşhislere göre tümör dağılımları. | 44 |
| Çizelge 4.3: Normal ve Tümörlü dokularda GSTP1 ve GSTM1 Dağılımları. | 45 |
| Çizelge 4.4: Hipofiz Bezi adenomu..... | 47 |
| Çizelge 4.5: Meningioma..... | 48 |
| Çizelge 4.6: Metastaz..... | 49 |
| Çizelge 4.7: Glioblastoma..... | 50 |

ŞEKİLLER DİZİNİ

SEKİL

| | |
|--|----|
| Şekil 1.1: Beyin Tümörünün Tomografi Gösterimi (14)..... | 14 |
| Şekil 1.2: GST enzimlerinin katalizlediği ksenobiyotik metabolizması (28). | 18 |
| Şekil 1.3: Glutasyon sentez ve siklusu (33)..... | 20 |
| Şekil 1.4: Merkaptürik Asit Biyosentezi (41) | 23 |
| Şekil 4.1:Ependimoma tümör hücrelerinde GSTP1 kuvvetli (+3) immünohistokimyasal boyanma (X200)..... | 45 |
| Şekil 4.2: Menengioma tümör hücrelerinde (OK) GSTM1 orta şiddette (+2) immünohistokimyasal boyanma (X200)..... | 46 |
| Şekil 4.3: Menengioma tümör hücrelerinde (OK) GSTM1 orta şiddette (+2) immünohistokimyasal boyanma (X200)..... | 46 |
| Şekil 4.4: Gliosis alanında (OK) (beyin normal çevre dokusunda) GSTM1 pozitif (+1) immünohistokimyasal boyanma (x200)..... | 47 |

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

| | |
|--------------|--|
| WHO | : Dünya Sağlık Örgütü |
| GST | : Glutasyon-S-Transferaz |
| GSH | : γ - Glutamil Sisteinil Glisin = Glutasyon |
| GSSG | : Oksitenmiş Glutasyon |
| γ -GT | : γ -Glutamil Transpeptidaz |
| GSH-Px | : Glutasyon Peroksidaz |
| GR | : Glutasyon Redüktaz |
| MDR | : MultiDrug Resistance |
| MRPs | : MultiDrug Resistance Proteins |
| ABC | : ATP Binding Casette |
| NADPH | : Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat |
| GBM | : Glioblastoma |

1.GİRİŞ

Kanser, dünya çapında çok sık görülen, mortalitesi yüksek bir hastalıktır. Günümüzde kanser, kardiyovasküler sistem hastalıklarından sonra ikinci sırada yer almaktadır. Gelişmiş ülkelerde yaşam süresinin uzaması bireylerin kendi sağlık sorumluluklarını alma konusunda bilinçlenmesi, tanı yöntemlerinin gelişmesi ile kanser erken dönemde tanınabilmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde ise erken tanı yöntemlerinin yetersizliği, radyasyon gibi fiziksel, polisiklik hidrokarbon gibi kimyasal yada virüs gibi biyolojik ajanlarla çevresel karsinojen maddelere maruz kalarak risklerinin artması nedeniyle kanser oluşturan görevli genlerin (onkogenlerin)aktivasyonunun yanı sıra ,bu genlerin inhibisyonunu sağlayan tümör supressör genlerin inaktivasyonu gibi başlıca sebepler kanser mekanizmasında aydınlatılmaya çalışılmaktadır.

Kanserin pek çok çeşidinde hücrelerde durmak bilmeyen bir bölünme şekli görülür ve bu etrafındaki pek çok dokuya, hücreye sızarak devam eder. Trilyonlarca hücreden oluşan insan vücudunda kanser her hücre tipi için bir tehlike oluşturmaktadır. Normalde hücreler zamanı geldiğinde (bölünme evreleri tamamlanarak) bölünerek yeni özellikteki hücrelere dönüşürler. Bu hücrelerde programlanmış zaman dilimi içerisinde yaşlanırlar veya zarar görerek ölümleri gerçekleşir. Bu olaya apoptosiz denir. Ölmüş hücrelerin yerine yenileri geçerek bu döngü devam eder. Bazı hücreler kontrolsüz büyüme gösterir ve bunu durduracak bir genetik özellik olmayarak tümör oluşabilir. Bir diğer defans sistemi ise kişinin immün sistemi anormal hücreler oluşunca immün sistem onu bulup yok edebilir. Bazen tümör bu tanınmayı engelleyici bir madde salgılayarak bu tümörün bulunmasını engelleyebilir.

Hızlı büyüme daha fazla oksijen ve glikoz gerektirir ve buda etraftaki normal dokuları beslemek için planlanan damarlar tarafından karşılanabilir. Tümör anjiogenetik faktör denilen bir madde salgılayarak kan damarlarının bu bölgede artmasını sağlar. Bu yeni damarlarla tümör daha iyi beslenir ve bağımsız bir hal alır.

Tümör kelimesi Latince'den köken almış olup şişkinlik veya ur demektir. Tümör sert ve dayanıklı(solid),belli bir yerde büyüyen, olgunlaşmış doku olarakta kullanılmaktadır. Pekçok kanser solid kaynaklı olabildiği gibi, solid tümörlerde kendi içinde iki kategoride incelenirler. Bunlardan ilki benign(iyi huylu),ikincisi malign (kötü huylu) solid tümörlerdir. İyi huylu solid tümörler kanser olmayıp kötü huylu tümörlerin habercisi olabilirler. İyi huylu tümörler(benign) yavaş büyüdüklerinden yayılım alanları sınırlıdır ve bir kapsülle çevrili olduklarından komşu dokularla bağlantılı değildirler. Metastaz oluşturmazlar. İyi huylu tümörler bazen kendiliğinden küçülüp kaybolabilirler veya büyümeleri sınırlıdır. Kötü huylu(malign)tümörler kanser sayılıp bulunduğu dokuda primer tümör olarak adlandırılır. Malign tümörler(diğer dokulara yayılma) metastaz yapma özelliği gösterirler.

Kanser, hücrelerde büyüme ve gelişme fonksiyonlarını yürüten genlerin kontrolünü değiştirerek fonksiyonların düzensiz bir şekilde ilerlemesine neden olan genetik bir hastalıktır. Ailemizden gelen genetik miras, kanser tarafından değişikliğe uğratılmaktadır. Çevresel etkenler DNA yapısının hasar görmesine neden olarak doğrudan hücre bölünmesini etkiler. Kansere neden olan çevresel etkenler kimyasal maddeler, sigara, radyasyon vb. pek çok etken tarafından oluşturulmaktadır.

Kansere neden olan genetik değişiklikler, başlıca üç tip gen üzerinde de etki oluşturmaktadır: proto-onkogenler, tümör-supresör genler, DNAYı tamir eden genler. Proto-onkogenler normal hücre gelişiminde ve bölünmesinde görev almaktadır. Ancak proto- onkogenlerin normal aktiviteleri çeşitli şekillerde değişime uğrayarak onkogenlere dönüşürler.

Tümör supresör genler de hücre bölünmesi ve gelişimini kontrol etmektedir. Bu hücrelerde çeşitli şekillerde değişime uğrayarak kanser hücresi haline dönüşürler.

DNA yı tamir eden genler ise, DNAda hasara uğrayan kısımları tamir etme özelliğine sahiptir. Bu genlere sahip olan mutasyonlu hücreler,diğer genlerde de mutasyonu teşvik etmektedir.Mutasyonlu hücreler hep birlikte kansere neden olmaktadır.

1.1 Beyin Tümörü

1.1.1. Beyin Tümörünün Epidemiyolojisi ve Etyolojisi

Beyin tümörü; beyinde kontrolsüz çoğalan ve büyüyen hücrelerin oluşturduğu kitledir. Primer beyin tümörü (PBT); beyindeki hücre ve yapılardan köken alan tümörlerdir. Sekonder beyin tümörü ya da metastatik beyin tümörleri; vücudun herhangi bir yerinde başlayıp daha sonra beyine yayılım gösterir. Özellikle akciğer, göğüs, kolon, pankreas, böbrek ve cilt kanserleri arteriyel dolaşım aracılığıyla yayılarak sekonder beyin tümörüne neden olur. Çoğu beyin tümörlerinin(merkezi sinir sisteminin tümörünün) meydana geliş sebebi halen belirsizdir. Çok sayıda geniş epidemiyolojik çalışmalar yürütülmesine rağmen özel bir risk faktörü açıklanamamıştır. Risk yaşla birlikte kesinlikle artar fakat diğer taraftan özel bir çevresel veya genetik faktörlerin bu tümörlere spesifik bağlantısı bulunamamıştır. Tedavi edici radyasyonla glioma ve meningioma gelişme riskinin artışı ise isbatlanmıştır. . Immunosüpresyon ve immunolojik yetmezlikler yanında öncesinde gerçekleşmiş radyoterapi uygulamaları tümör riskini artırır.(1)

Son elli yılda Santral Sinir Sistemi (SSS) tümörleri ile daha sık karşılaşılır olmuştur. Bunun en önemli nedenlerinden biri görüntüleme tekniklerindeki gelişmelerin yaygın olarak kullanımındır. Bu nedenle risk faktörlerini belirlemek, önlemler alabilmenin yollarını aramak, uygun tanı ve tedavi için strateji oluşturabilmek amacıyla epidemiyolojik çalışmalar zorunluluk haline gelmiştir. SSS tümörleri ile ilgili birçok risk faktörü incelenmiştir. Merkezi sinir sistemini etkileyen tüm tümörlerin yüzde onu spinal kord tümörleridir. Merkezi sinir sistemi tümörleri tüm tümörlerin yüzde 3-4'ünün oluşturur. Görülme sıklığının yoğun olduğu yaşlar erken çocukluk ve orta yaş sonrasıdır(2).

Bütün metastatik tümörler kötü huylu olarak düşünülür ve tümörün meydana geliş türüne göre geniş olarak sınıflandırılır. En çok görülen metastatik tümörler sıklık

sırasına göre şunlardır: 1) Akciğer kanseri, 2) Meme kanseri, 3) Renal hücreli kanser, 4) Melanoma, 5) Kolon kanseri. (3)

Kanser değişik organlarda hücrelerin kontrolsüz çoğalmasından oluşan, klinik görünümü, tedavisi ve yaklaşımı birbirinden farklı olan hastalıklar grubudur. Kanser kontrol altına alınması hususunda önceliklerin belirlenebilmesi için kanser yükünün insidans (ortaya çıkan yeni vakalar) ve ölüm sayısı cinsinden tahmin edilmesi gerekmektedir. Kanser kontrolünde en önemli yapıtaş elinizde doğru, tam ve güvenilir veri olmasıdır.

Dünya'da toplam 14,1 milyon yeni kanser vakası gelişmiş ve 8,2 milyon kansere bağlı ölüm olmuştur. Kanserde benzer seyir devam ettiği takdirde 2030 yılına gelindiğinde yıllık 22 milyon yeni vaka ortaya çıkması, yani 2008 verilerine göre yeni vakalarda %75 artış olması beklenmektedir. Önümüzdeki yıllarda gelişecek kanser olgusunun daha az gelişmiş ülkelerde ortaya çıkması beklenmektedir. Ülkemizde sebebi bilinen ölümler sıralamasında kardiyovasküler hastalıklardan sonra ikinci ölüm sebebi olması açısından önemlidir(4).

2014 yılı en sık görülen 10 kanserin yaşa göre standardize edilmiş hızlarına (Türkiye Birleşik Veri Tabanı,2014)(Dünya Standart Nüfusu,100000 Kişide) bakıldığında beyin, sinir sistemi kanserlerinde bu oranın erkeklerde 0-60 yaş aralığında 5.2; kadınlarda 0-50 yaş aralığında bu oranın 4.1 olduğu tespiti yapılmıştır. Erkeklerde ve kadınlarda tüm yaş gruplarındaki en sık görülen kanserlerin, kanser grupları, içindeki yüzdelerinin erkeklerde %2.2; kadınlarda %2.2'dir. Çocukluk Çağı kanserlerinde ise 0-14 yaş gruplarında MSS Tümörlerinin diğer kanser grupları içindeki değerleri erkek çocuklarında %18.2;kız çocuklarında ise%18.9 olarak tespit edilmiştir.15-24 yaş grupları arasında erkeklerde beyin ve sinir sistemi tümörlerin diğer kanser grupları içindeki yüzdelerinin dağılımı %8.3 iken kadınlarda bu oranın%7.6 tespit edilmiştir.25-49 yaş grupları arasında erkeklerde beyin ve sinir sistemi tümörlerinin diğer kanser gruplarına göre %4.8 iken kadınlarda%2.3 olduğu belirlenmiştir.50-69 yaş aralığında erkeklerde %1.8 iken bu oran aynı yaş grubundaki kadınlarda %0 yakın bir değerdedir.70 yaş ve üzeri her iki grupta %0 civarı

dolayındadır. Bir başka veri grafiğinde ise beyin kanserlerinin yaşa standardize insidans hızlarının cinsiyete göre 2010-2014 yılları arasındaki dağılımı ise YSH/100000 erkeklerde 2010 yılında 5.7;2011 5.7;2012 6.1;2013 6.1;2014 5.2; kadınlarda 2010-4.4;2011 4.5;2012 4.7;2013 4.7;2014 4.1 olarak belirlemiştir.

Türkiye kanser insidansı, erkeklerde dünya insidansının üzerinde seyrederken kadınlarda bu oran biraz daha düşüktür(5).

1.1.2. Beyin Tümörleri Sınıflandırılması (6)

Santral sinir sistemi tümörlerinin belirgin çeşitlilik göstermesi nedeni ile herkes tarafından kabul görmüş bir sınıflama gerçekleştirmek zordur. Günümüzde hemen hemen tamamen sınıflama patolojiye dayanmaktadır. Beyin tümörleri ilk olarak 1829'da Cruveilhier tarafından makroskopik olarak tanımlanmış 1836'da ise Bressler tarafından makroskopik olarak sınıflandırılmışlardır. Ancak beyin tümörlerinin bugünkü sınıflamanın temelini Virchow atmıştır. 1860'da beyin hücrelerarası matriksi olarak nöroglia'yı tariflemiştir. Yine Virchow tarafından tümörlerin makroskopik ve mikroskopik özellikleri arasında bağlantı kurulmasını sağlamış ve "glioma" tarifini de ilk kez yapmıştır. Bailey ve Cushing 1926 yılında gliomaların bir sınıflamasını yaptılar (7). Yapmış oldukları şema tam 14 tümör tipini içermekte idi. Ancak sınıflama karmaşıklığı dolayısı ile geniş bir kabul görmedi. Yirminci yüzyılın ortasında Kernohan yeni ve basit bir sınıflama geliştirdi (8). Daha önce tanımlanmış olan karmaşık histogenetik sınıflama basit 5 glial tümör kategorisine indirildi. Astrocitoma, Ependimoma, Nöroastrositoma, medulloblastoma ve oligodendroglioma. Ancak daha önemlisi, glial tümörleri 4 grade şeklinde kendi içinde gruplandırma sistemini geliştirdi. Bu sistem artan anaplazi ve azalan farklılaşmayı göstermekte idi. Ancak Grade I ve II arasında, Grade II ve IV arasında bir benzerlik olmasına karşılık, bu iki grup arasında belirgin bir biyolojik davranış farkı mevcut değildi. Bu nedenler ile Ringertz 1950'de 3 grade'li bir sistem ortaya koydu (9). Yine 1980'lerde Doumas ve Duport şimdi St Anne-Mayo diye anılan hücre morfolojik özelliklerine dayanan bir 4 basamaklı grade sistemini ileri sürdü

(10). Bindokuzyüzdoksanüç’de WHO (World Health Organisation) tümörlerin sınıflandırmasını yayınlamış ve Grade I-IV arasında tümörler benign’den malign’e doğru sınıflanmıştır (11). Bu sınıflama histopatolojik özellikler kadar yaşam süresi verilerine de dayanmakta idi. 3 Bugün için en sık kullanılan sistem ise 2000 yılında yeniden gözden geçirilerek düzenlemeler yapılan 1993’deki WHO sınıflandırmasıdır (tablo 1) (12).

WHO santral sinir sistemi tümörleri histolojik sınıflandırması (12)

NÖROEPİTELYAL DOKU TÜMÖRLERİ

1. Astrositik tümörler

- a. Diffüz astrositoma
 1. Fibriler astrositoma
 2. Protoplazmik astrositoma
 3. Gemiositik astrositoma
- b. Anaplastik astrositoma
- c. Glioblastoma multiforme
 1. Dev hücreli glioblastoma
 2. gliosarkom
- d. Pilositik astrositoma
- e. Pleomorfik ksantroastrositom
- f. Subependimal dev hücreli astrositom

2. Oligodendroglial tümörler

- a. Oligodendrogliom
- b. Anaplastik oligodendrogliom

3. Mixed gliomalar

- a. Oligoastrositom
- b. Anaplastik oligoastrositom

4. Ependimal tümörler

- a. Ependimoma
 - 1. Sellüler
 - 2. Papiller
 - 3. Clear cell
 - 4. tanisitik
- b. Anaplastik ependimoma
- c. Miksopapiller ependimoma
- d. subependimoma

5. Koroid plexus tümörleri

- a. Koroid plexus papillomu
- b. Koroid plexus karsinomu

6. Nöronal ve mixt nörogliyal tümörler

- a. Gangliositom
- b. Serebellumun displastik gangliositomu
- c. Desmoplastik infantil astrositomu
- d. Disembriyoplastik nöroepitelyal tümör
- e. Gangliogliom
- f. Anaplastik gangliogliom
- g. Santral nörositom
- h. Serebellar liponörositom
- i. Filum terminalenin paragangliomu

7. Nöroblastik tümörler

- a. Olfaktor nöroblastom (esthesionöroblastom)
- b. Olfaktor nöroepitelyom
- c. Adrenal gland ve sempatik sinir sistemi nöroblastomu

8. Pineal parenkimal tümörler

- a. Pineasitom

- b. Pineablastom
- c. Orta derecede diferansiasyon gösteren pneal parenkimal tümör

9. Embriyonal tümörler

- a. Medullaepitelyom
- b. Ependimoblastom
- c. Medullablastom
 - 1. Desmoblastik medullablastom
 - 2. Large cell medulloblastom
 - 3. Medullomyoblastom
 - 4. Melanositik medulloblastom
- d. Supratentoryel primitif nöroektodermal tümörler
 - 1. Nöroblastom
 - 2. ganglionöroblastom
- e. Atipik teratoid/rabdoid tümör

10. Orijini belirsiz glial tümörler

- a. Astroblastom
- b. Gliamatosis serebri
- c. 3. ventrikül koroid gliomu

MENİNGEAL TÜMÖRLER

1. Meningotelyal hücre tümörleri

- a. Meningioma
- b. Meningotelyal
- c. Fibröz
- d. Transisyonal
- e. Psammatöz
- f. Anjiyomatöz
- g. Mikrokistik
- h. Sekretuar

- i. Metaplastik
- j. Lenfoplazmasit zengin
- k. Clear cell
- l. Kordoid
- m. Atipik
- n. Papiller
- o. Rabdoid
- p. Anaplastik meningiom

2. Mezenkimal meningotelyal hücre kökenli olmayan tümörler

- a. Lipom
- b. Anjiolipom
- c. Hibernom
- d. Liposarkom
- e. Soliter fibröz tümör
- f. Fibrosarkom
- g. Malign fibröz histiositom
- h. Leiomyom
- i. Leiomyosarkom
- j. Rabdomyom
- k. Rabdomyosarkom
- l. Kondrom
- m. Kondrosarkom
- n. Osteom
- o. Osteosarkom
- p. Osteokondrom
- q. Hemanjiyom
- r. Epiteloid hemanjiyoendotelyom
- s. Hemanjiyoperisitom
- t. Anjiyosarkom
- u. Kaposi sarkomu

3. Primer melanositik doku

- a. Diffüz melanositosis
- b. Melanositom
- c. Malign melanom
- d. Meningeal melanomatosis

4. Belirsiz histogenez tümörleri

- a. Hemanjiblastom

PERİFERİK SİNİR TÜMÖRLERİ

1. Schwannoma
 - a. Sellüler
 - b. Pleksiform
 - c. melanositik
2. Nörofibrom
 - a. pleksiform
3. Perinörom
 - a. İntranöral perinörom
 - b. Yumuşak doku perinöromu
4. Malign periferik sinir kılıfı tümörleri (MPSNT)
 - a. Eiteloid
 - b. Diverjant mezenkimal ve / veya eiteloid farklılaşma gösteren MPSNT
 - c. Melanotik
 - d. Melanotik psammomatöz

LENFOMALAR VE HEMOPOETİK TÜMÖRLER

1. Malign lenfoma
2. Plazmositom
3. Granülositik sarkom

GERM HÜCRELİ TÜMÖRLER

1. Germinom
2. Embriyonal karsinom
3. Yolk sac tümör
4. Koriyokarsinom
5. Teratom
 - a. Matür
 - b. İmmatür
 - c. Malign transformasyon gösteren teratom
6. Mixt germ hücreli tümör

SELLAR BÖLGE TÜMÖRLERİ

1. Kraniofaringeom
 - a. Adamantinomatöz
 - b. Papiller
2. Granüler hücreli tümörler

1.1.3. Beyin Tümör Çeşitleri

Nöroşirurji bilim dalında önemli bir hastalık grubunu beyin tümörleri oluşturmaktadır. Genel olarak beyin tümörlerini malign (kötü huylu) ve benign (iyi huylu) olarak sınıflandırabiliriz. (13)

I- Malign Tümörler

Kanseri hücrelerle oluşan kötü huylu beyin tümörleri iyi huylu tümörlere göre daha hızlı büyüme gerçekleştirir ve yakınında bulunan beyin dokusuna zarar oluşturabilir. Kötü huylu beyin tümörün de bulunan kanserli hücreler tümörden ayrılarak beynin diğer kısımlarına ve omuriliğe ulaşabilir.(13)

A-Glial Tümörler: Beynin en sık görülen tümörleridir. Beyin kanserlerinin çoğunu bunlar yapar. Kontrolsüz çoğalma özelliği olan hücreleri içerir. Hızla büyüyüp çevrelerindeki sağlıklı dokunun içine uzanır, çok nadir de olsa omuriliğe, hatta vücudun diğer organlarına da yayılabilirler. Evrelendirmesi dört grupta yapılır. Evre I ve Evre II "*düşük evreli*" olarak adlandırılırken, Evre III (anaplastik astrositom) ve Evre IV (glioblastoma multiforme) ise "*yüksek evreli*" kabul edilir. Bu gruptaki bazı diğer tümörler; ependimom, medulloblastom, oligodendrogliomdur. Sağkalım süreleri, patolojik evreleme, radyoterapi, kemoterapi alıp almama durumu, yaş ile ilişkilidir. Düşük evreli glial tümörlerde sağkalım süresi uzundur. Düşük evreli tümörler yüksek evreli tümörlere dönüşebilir. Yüksek evreli gliomlar için ortalama hayatta kalma şansı çok daha kısadır (13).

B-Metastatik beyin tümörleri: Vücudun başka yerindeki bir tümörün beyne yayılması sonucu gelen tümörlerdir. En fazla akciğer, meme, kalın bağırsak, mide, cilt ya da prostattan kaynaklanırlar. Ancak bazen köken aldığı organ saptanamayabilir. Onkoloji kliniklerinde tanı konup, tedavi amacıyla yatırılmış hastaların %20-40'ında beyin metastazları görülmektedir. Bu oran tüm beyin tümörlerinin %10'unu oluşturur. Olanak varsa önce lokal anestezi ile yapılabilen stereotaksik cerrahi ile biyopsi alınarak kesin tanı konması tedavi seçimini kolaylaştırır. (13)

Kötü huylu beyin tümörlerinde tedavi seçenekleri; cerrahi girişim, biyopsi, ışın tedavisi, ilaç tedavisi ve radyo-cerrahidir. Tedaviye yanıt, tümörün köken aldığı odak, yayıldığı organ sayısı, metastatik lezyon sayısı, hastanın yaşı, ek hastalık bulunup bulunmaması gibi faktörlerle ilişkilidir. Bu nedenle sağ kalım süreleri farklıdır(13).

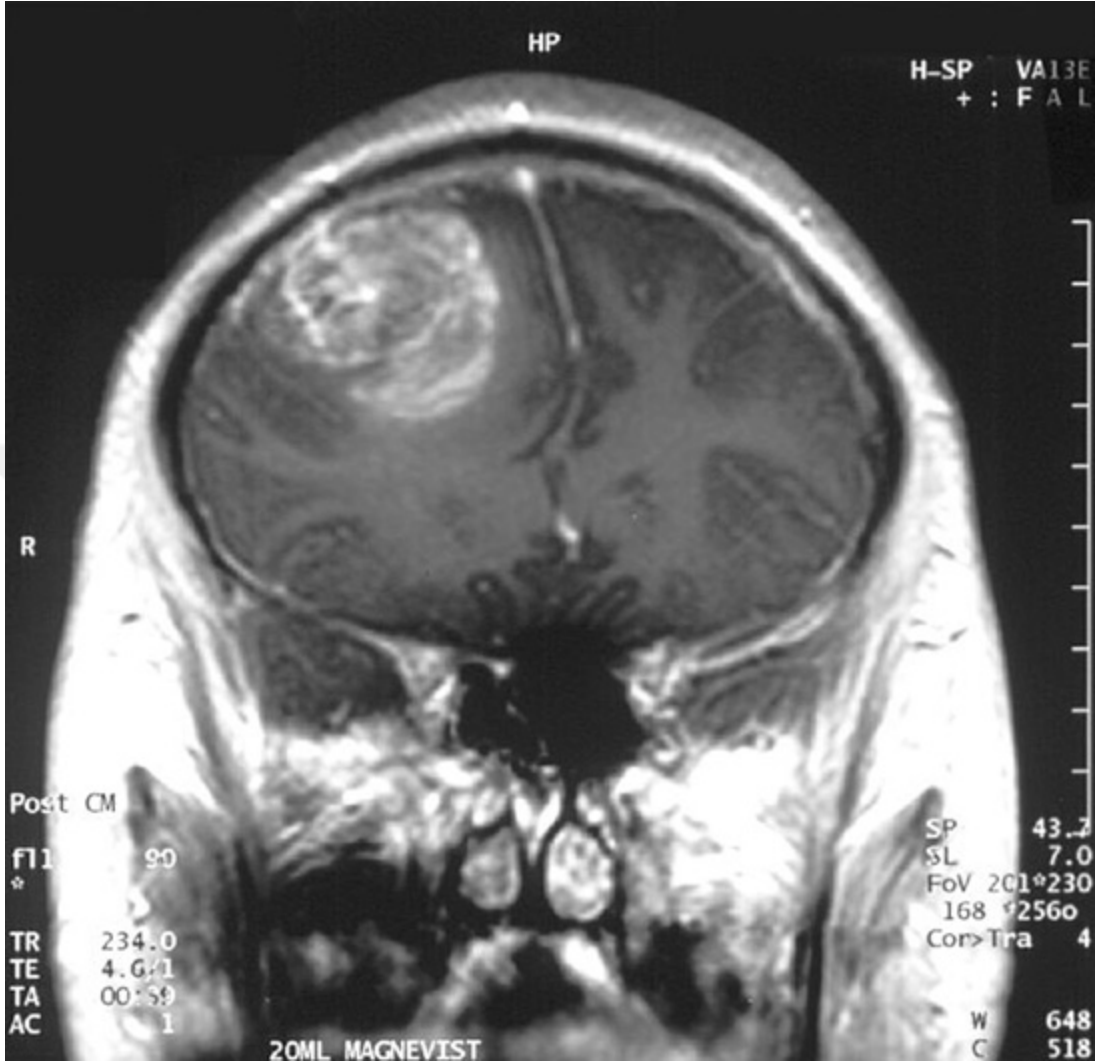
II- Benign Tümörler

Kanserli olmayan beyin tümörlerinin net bir şekilde görülebilen belirgin bir sınırı olmaktadır ve genel olarak çevrelerinde bulunan dokulara dağılmaz. Cerrahi

müdahale sayesinde alınan iyi huylu beyin tümörü nadiren tekrar oluşmaktadır. Vücudun diğer bölgelerine yayılma ihtimalleri olmamaktadır.

Bunlar genellikle kafatası içinde ama beyin dokusu dışında gelişen tümörlerdir. Meningiomalar, hipofiz adenomları, kraniofaringiomalar, dermoid ve epidermoid tümörler, hemanjioblastom, kolloid kist, subependimal dev hücreli astrositom, nörinomlar bu grubun en sık karşılaşılan lezyonlarıdır. Menengiomalar bu grubun önemli bir kısmını oluşturur. Diğer organlardaki iyi huylu tümörlerin aksine, iyi huylu beyin tümörleri bazen hayatı tehdit edecek durumlara neden olabilirler. Bazıları (örneğin menengiomalar) nadir de olsa kötü huylu tümöre dönüşebilirler. Genellikle çevrelerindeki beyin dokusuna yayılım göstermedikleri için ameliyatla tam çıkarılabilme şansları yüksektir. Ancak az oranda da olsa yeniden ortaya çıkabilirler. Meningiomaların tümüyle çıkarılma durumunda bile 10 yılda %20'sinin tekrarlayabildiği, özellikle önemli bölgelere yapışık olanlarda cerrahi sonrası komplikasyonların olabileceği bilinmektedir (13).

Şekil 1.1: Beyin Tümörünün Tomografi Gösterimi (14)



Beyin Tümörü Çeşitleri

Beyin tümörleri tümöre sebep olan hücrelerin şekillerine göre derecelendirilir.

1. Derece Beyin Tümörü: Tümör iyi huyludur ve bu tümörlerin hücre yapısı normal beyin hücresi yapısıyla aynıdır. Bu tümörler oldukça yavaş seyredir.(14)

2. Derece Beyin Tümörü: Kötü huylu beyin hücreleridir. Bu hücreler normal beyin hücrelerine benzerlik gösterir.(14)

3. Derece Beyin Tümörü: Kötü huylu tümörü oluşturan hücreler normal olan beyin hücrelerinden oldukça farklı bir şekle sahiptir. Bu tümör hızlı bir şekilde büyüme gerçekleştirir.(14)

4. Derece Beyin Tümörü: Kötü huylu tümör hücrelerinin yapısı normal beyin hücrelerinden farklı olmaktadır. Bu tip hücrelerin oluşturduğu tümörler hızlı büyüme sağlar. Düşük dereceli bir tümör zaman içerisinde yüksek dereceli hücreleri oluşturan bir tümöre dönüşmektedir. Bu değişim beyin tümörün bulunan yetişkin kişilerde çocuklara oranla daha fazla görülür.(14)

1.1.4. Beyin Tümörü Evrelendirilmesi

Beyin tümörü 1. evre: İlk evre demektir ve hastalığın henüz başıdır. Kişide görülen baş ağrısı ve diğer belirtilerle ilk evrede anlaşılan beyin tümörü ameliyat gerektirmektedir. Ameliyat sonrasında kişi bir müddet kemoterapi ve radyoterapi almalıdır. Beyin tümörleri oldukça çeşitlidir. Fakat 1 evre beyin tümörü olan hasta yaşam süresi olarak 12 yılın üzerinde yaşamaktadır.(15)

Beyin tümörü 2. evre: Ameliyatla tedavi edilebilecek durumda iken teşhis edilmiş bir evredir. Beyin tümörü 2. evre henüz geç kalınmamış ve tedavisi yapılabilir durumda olan evredir. 2. evrede hasta baş ağrıları, kusma, halsizlik gözlemlenir. 2. evre yaşam süreci günümüzde 12 yıla kadar uzayabilmektedir.(15)

Beyin tümörü 3. evre: Hastalık ilerlemiş durumdadır. Beyindeki tümörün büyüklüğü ve nerede olduğu beyin tümörü evresini belirlemektedir. Beyin tümörü 3. evrede hastada bilinç kayıplarına, unutkanlıklara, baş ağrılarına ve vücudun belli bölümlerinde kısa süreli hafif felç yaşanmasına neden olabilmektedir. Hasta bazen ayağına veya koluna hükmedemez veya bazen dili anlaşılabilirliğini yitirir. Fakat bu belirtiler geçicidir. 3.evre beyin tümörü kişide kusma ve baş ağrılarına da neden olmaktadır. Yaşam süreci çoğu zaman tümörün çeşidine bağlıdır, fakat hastaların geneli 16 ay üzerinde yaşayabilmektedir.(15)

Beyin tümörü 4. evre: En tehlikeli olan evredir. Hastanın sonlara yaklaştığı ve zorlu bir süreçtir. 4. evre beyin tümöründe tümörün çeşidi de oldukça önemlidir. Hasta, baş ağrısı kusma ve görme bozuklukları yanı sıra hastalık ve tümör ilerlediği için bilinç bozulması, unutkanlık, konuşmada yetersizlik, anlamada yetersizlik, dengede durma kaybı, el ve ayaklarda büyüme, işitmede azalma görülebilmektedir. Beyin tümörü 4. evrede kemoterapi ve radyo terapi uygulamalarıyla tedavi yöntemlerine başvurulur. Beyin tümörleri 4.evrede günümüzde yaşam süreci 14 ayın üzerindedir. (15)

1.2. Toksik Maddelerin Metabolizması

Hızlı endüstrileşme ve kentleşme ile insan ve diğer canlılar her geçen gün artan sayıda ve genel olarak ksenobiyotik adı verilen birçok kimyasal maddeye maruz kalmaktadır. Ksenobiyotiklerin çoğu lipofiliktir ve kolayca absorbe edilirler. Faz I ve Faz II reaksiyonları olarak iki ana grupta toplanan ve enzimler aracılığıyla gerçekleşen biyotransformasyon mekanizmaları her zaman geçerli kural olmamakla birlikte çoğunlukla daha polar metabolitlerin oluşmasını sağladığından ksenobiyotiklerin organizmadan uzaklaştırılmasında önemlidir.(16)

Çeşitli yollarla organizmaya giren lipofilik kimyasal maddeler enzimlerin katalitik etkisi ile kimyasal reaksiyonlara girer ve daha polar ve hidrofilik metabolitlere dönüştürülürler. Bir ksenobiyotiğin canlı organizmada uğradığı bu kimyasal değişimlerin tümüne biyotransformasyon denir. Biyotransformasyon sonucu oluşan ürünler safra ve böbreklerden daha kolay atılır. Ksenobiyotikler, biyotransformasyon ile değişik etki gösteren metabolitlere dönüşür ve sonra da konjugasyon reaksiyonları ile inaktif hale gelerek vücuttan atılır. Genel olarak ksenobiyotik veya metabolitlerinin bu son mekanizma ile transformasyonları sonucu toksisitesi azalıyor veya ortadan kalkıyorsa bu olaya “detoksifikasyon” denir; bazı durumlarda ise kimyasal maddenin biyotransformasyonu ile çok aktif ara metabolitler oluşabilir. Bu reaktif ara ürünlerin oluşmasına “toksikasyon” veya “biyoaktivasyon” denir (17).

Ksenobiyotiklerin metabolizması iki fazlı bir işlemdir: Faz I reaksiyonları daha çok karaciğerde gerçekleştirilir ve oksidasyon, redüksiyon, hidroliz reaksiyonlarından oluşur. Bu reaksiyonlar CYP enzimlerinin de dahil olduğu mikrozomal enzimler tarafından katalizlenir. Sınırlı olmakla birlikte akciğer, böbrek, barsak, testis, deri, plasenta, adrenal bezde de Faz I reaksiyonu gerçekleşebilir. Faz I reaksiyonu ile lipitte çözünen ksenobiyotikler daha polar hale geçerler (18,19). Faz II reaksiyonları ise birçok sitozolik enzim tarafından yürütülen konjugasyon reaksiyonlarıdır. Faz II reaksiyonları ile ilişkili en az 5 tip reaksiyon vardır. Bunlar; glukuronik asitle konjugasyon, sülfat konjugasyonu, glutatyon ile konjugasyon, asetilasyon ve metilasyondur. Birinci fazda oluşan polar metabolitler, ikinci faz reaksiyonları ile glukronik asit, glutatyon, sülfat gibi endojen maddelerle konjugasyona uğrayıp vücuttan atılırlar. Birinci fazda oluşan polar metabolitler, endojen maddelerle birleşerek inaktif şekilde eliminasyona uğrarlar (17).

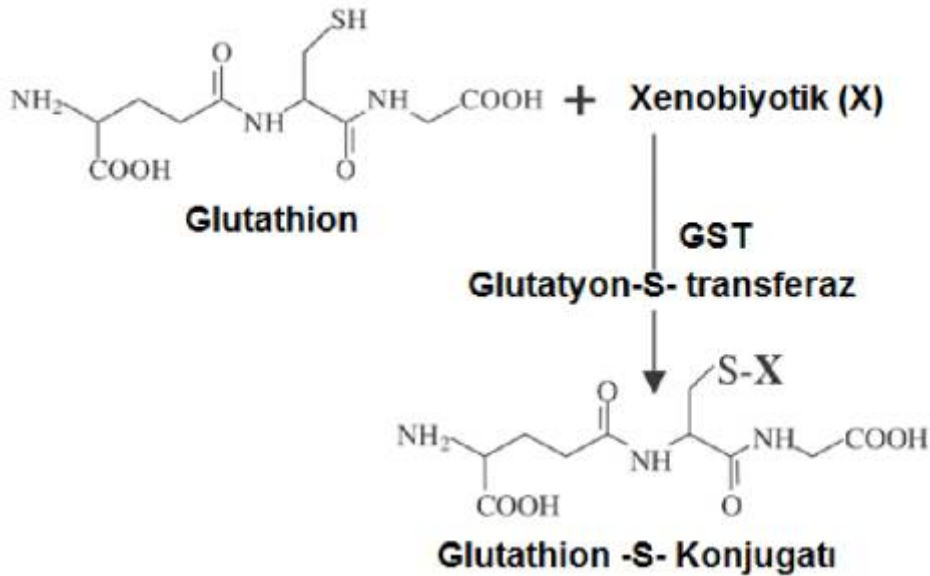
1.2.1. Glutatyon-S-Transferazlar

Ksenobiyotik metabolizmasında glutatyonun rolü; Faz I enzimlerince oluşturulan reaktif türlerin glutatyon ile konjugasyona girmesi ve sonuçta hücre makromolekülleri (DNA, RNA, protein) ile bağlanmasını engelleyerek hücre hasarını önlemesi şeklinde gerçekleşmektedir (20). Glutatyon (GSH); hücrenin radyasyon oksijen radikalleri endojen toksinler ve ksenobiyotiklerin zararlı etkilerinden korunmasında önemli rol oynar. Tüm memeli hücrelerinde bulunan GSH serbest bir disülfid grubuna sahiptir ve bu serbest disülfid grubu aracılığı ile oksidan molekülleri indirgeyerek, protein, lipid ve DNA'yı oksidasyondan korur (21). GSH Peroksidaz tarafından katalizlenen bu reaksiyonla UV ve çeşitli kimyasallar aracılığı ile oluşan hidroperoksitler indirgenirken, glutatyon oksitlenir (GSSG). GSH'ın fonksiyonunun sürekliliği okside glutatyonun rejenerasyonuna bağlıdır. GSSG, GSH-Redüktaz tarafından katalizlenen ve kofakör olarak nikotinamid adenin dinükleotid fosfatın (NADPH) kullanıldığı reaksiyonla indirgenerek yeniden aktif hale geçer (22). Glutatyon genelde GSH olarak kısaltılır; SH, sisteinin sülfidril grubuna işaret eder ve molekülün alışveriş yapan kısmıdır. Glutatyon ile ksenobiyotiklerin

reaksiyonlarını katalizleyen enzimlere “Glutasyon-S-Transferazlar”, kısaca “GST” denir (23).

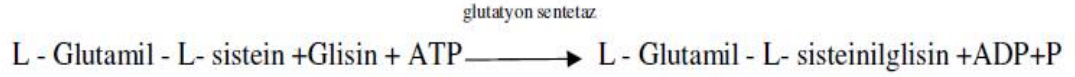
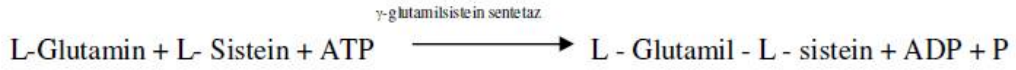
GST; kemoterapik ajanların, reaktif oksijen moleküllerinin ve çevresel karsinojenleri içeren ksenobiyotiklerin metabolizmasından sorumlu Faz II detoksifikasyon enzim ailesidir. GST, çeşitli elektrofilik bileşikler ile glutasyon arasındaki reaksiyonları katalizler. GST aktif metabolitlerin glutasyon ile konjugasyonunu gerçekleştirerek DNA’yı alkilasyondan korur (24). Glutasyon-s-transferazlar elektrofilik ksenobiyotikleri inaktive ederek vücuttan atılmak üzere konjugasyonunu sağlayan dimerik enzimlerdir (25). Glutasyon nükleofilik sülfidril grubu ile bileşiklere bağlanarak organizmayı reaktif kimyasal bileşiklere karşı korur (26). Çoğu dokularda mevcut olan tripeptid yapısındaki glutasyon ksenobiyotiklere bağlandıktan sonra daha ileri bir biyotransformasyonla karaciğer ve böbreklerde bulunan mikrozomal γ -glutamiltranspeptidaz ve sisteinilglisinaz enzimleri yardımı ile peptid bağları açılır. Peptid (amid) bağlarının hidrolizi sonucu sadece sistein kalır, sisteinin mikrozomal asetilasyonu ile merkaptürik asit konjugatı oluşur (27).

Şekil 1.2: GST enzimlerinin katalizlediği ksenobiyotik metabolizması (28).



1.2.1.1. Glutasyonun Biyosentezi

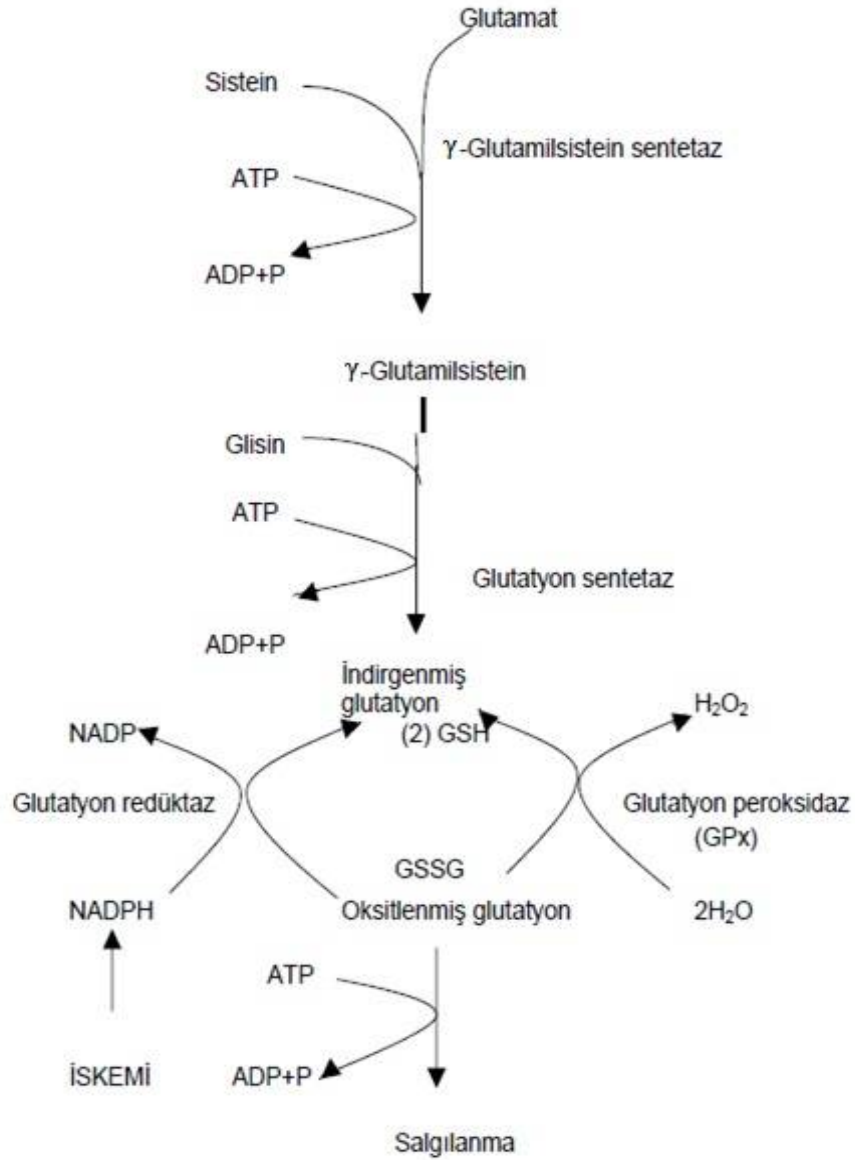
GSH (γ - glutamil sisteinil glisin), glutamik asit (L-Glutamat), sistein ve glisinden oluşan bir tripeptid'dir. GSH, organizmada L-glutamik asid, L-sistein ve glisinden, γ -glutamilsistein sentetaz ve glutasyon sentetaz enzimlerinin etkisiyle iki aşamada meydana gelmektedir (29).



İlk reaksiyon γ -Glutamil sisteinil sentetaz tarafından, L-glutamat ile L-sistein birleşmesidir. Reaksiyonu katalize eden γ -glutamil sistein sentetaz, glutasyon sentezini sınırlandırabilen bir enzimdir (30). İkinci reaksiyon ise γ -glutamil sistein ile glisin birleşmesidir (31).

Hücre içi GSH sentezinin gerçekleştirilebilmesi için, membrana bağlı bir enzim olan γ -glutamil transpeptidaz (γ -GT) enzimi yardımıyla, GSH'ın hücre dışında degradasyona uğratılması ve oluşan ürünlerin hücre içerisine alınması gerekmektedir (32)

Şekil 1.3: Glutatyon sentez ve siklusu (33)



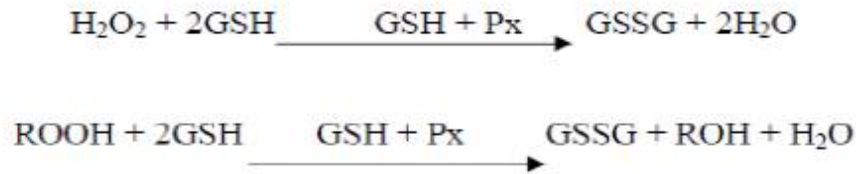
1.2.1.2. γ -Glutamil Transpeptidaz

Glutatyon hücre içine direkt olarak alınamaz. GSH'ın yapıtaşı olan amino asitlere hidrolize edilmesi ile oluşan aminoasitler hücre membranındaki amino asit taşıyıcı proteinler tarafından hücrelere taşınmaktadır. Enzim, sisteinil-glisin dipeptidi açığa çıkarmak üzere γ -glutamil grubunun ayrılmasını sağlamaktadır. GSH'tan ayrılan γ -glutamil grubu "transpeptidasyon" adı verilen tepkime sonunda bir akseptör

aminoaside transfer edilmektedir. Bunun sonucunda membrandaki dipeptidazlar tarafından sisteinil-glisin dipeptidi sistein ve glisine dönüştürülmektedir. GSH sentezini sağlamak üzere yapıtaşları hücre dışından bu şekilde sağlanmaktadır. γ -GT, organizmada oluşan zararlı bileşiklerin ya etkili bir nükleofil olan glutatyonla konjuge olması ya da GST tarafından katalizlenen bir dizi reaksiyon ile suda çözünen merkaptürik asit türevlerine dönüşümünü başlatarak safra veya idrar yolu ile organizmadan uzaklaştırılır (34,35).

1.2.1.3. Glutatyon Peroksidaz

Tetradimerik bir enzimdir. Sitozode bulunur, yapısında dört selenyum (Se) atomu yer alır. Hidrojen peroksit ile hidroperoksitlerin indirgenmesini sağlar [33]. GSH-Px, lipitleri peroksidasyondan koruyan önemli bir enzimdir. GSH-Px, redükte glutatyonu yükseltirken H_2O_2 'i de suya çevirir ve böylece membran lipitlerini ve hemoglobini oksidatif strese karşı korur (36).

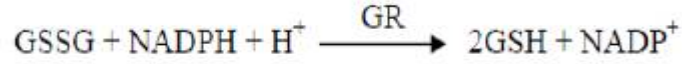


GSH-Px'in aktivitesinin devam etmesi için glutatyon'un belirli bir seviyede bulunması gerekir. NADPH'e bağımlı glutatyon redüktazın katalizlediği bir reaksiyonla, Glutatyon disülfid (GSSG), tekrar iki molekül GSH'a dönüşür. H_2O_2 molekülüne etki eden katalazdan farklı olarak GSH-Px, türlü reaksiyonlarda hızlı oluşan tek molekül H_2O_2 'in ortadan kaybolmasını sağlar (37,38).

1.2.1.4. Glutatyon Redüktaz

Glutatyon redüktaz, NADPH yardımıyla okside glutatyonun (GSSG), glutatyonla indirgenmesini katalize eder. Glutatyonun indirgenmiş halde kalması birçok

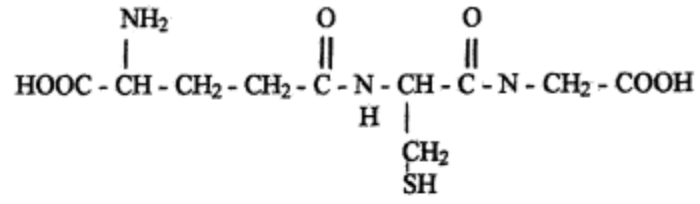
antioksidan enzim aktivitesi için önemlidir. GSH-PX (Glutasyon peroksidaz) ve Katalaz için büyük önem taşır, katalaz azaldığı zaman GSH bağımlı enzimler aktive olur. Ayrıca Se düzeyindeki azalma GSH-PX ve Glutasyon redüktaz seviyelerinde azalmaya neden olur. Glutasyon redüktaz eksikliği eritrositlerin H₂O₂ ye daha duyarlı hale gelmesine ve ozmotik frajilitede artışa yol açar (35).



Hücrelerdeki fizyolojik GSH-GSSG oranı büyük önem taşır. GSSG olmadığı durumlarda NADPH'ın hücre içi seviyesinin düşmesi glutasyon redüktazı inaktive etmektedir ve daha sonra oksidatif bir stres sonucu GSSG'nin hücre içi seviyesi artınca glutasyon redüktaz tekrar aktive olmaktadır(39).

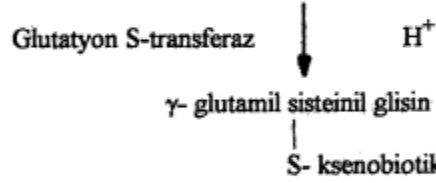
1.2.2. Glutasyon – S – Transferaz Enzimi ve Ksenobiyotik İlişkisi

Glutasyon-S-Transferazlar merkaptürik asit biyosentezinin başlangıç reaksiyonlarında önemlidir. GST'nin GSH-konjugasyonu aracılığıyla katalizlediği merkaptürik asit oluşum süreci “detoksifikasyon tepkimeleri” adını alır. Merkaptürik asit biyosentezi başlangıcında GSH konjugatı ile başlayan ve daha sonra γ -GT tarafından glutamik asitin uzaklaştırılması ile sonuçlanan, sisteinilglisin konjugatının oluşumuyla devam eden birkaç basamaktan oluşmaktadır. Bu reaksiyon glisinin uzaklaştırılması ile sisteinil S-konjugatının yani pre-merkaptürik asitin oluşmasıyla devam eder. N-asetil transferazlar tarafından sisteinil S-konjugatını N Asetilasyonu N-asetil türevi olan merkaptürik asit oluşumu ile reaksiyon sonuçlanır (40).

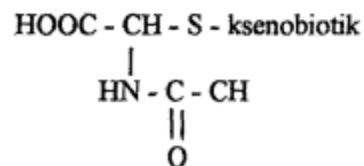
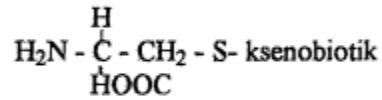
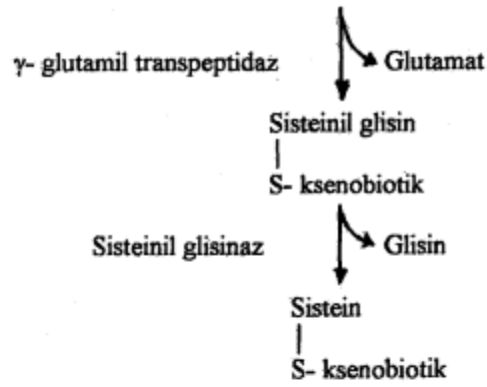


+

Ksenobiotik



(Glutatyon S- ksenobiotik kompleksi)



Şekil 1.4: Merkaptürik Asit Biyosentezi (41)

1.2.3. Glutasyon-S-Transferazların Sınıflandırılması

Glutasyon S Transferaz (GST)'ler karsinojenik substratlar, endojenik ve ekzojenik toksinlerin detoksifikasyonunun da rol alan önemli enzim grupları olarak bilinirler. GST enzimleri birçok alt sınıflara ayrılmıştır. Her bir sınıf birçok gen ve enzimden oluşur (42). GST enzimlerinin büyük bir kısmı hücrenin sitoplazmasında çözünmüş olarak bulunur (43). Bir kısmı ise endoplazmik retikulum (mikrozomazomal) lokalize olmuştur. Sitozolik GST aktivitesinin mikrozomal aktiviteye göre 5 ile 40 kat daha fazla olduğu saptanmıştır (17).

İnsan sitozolik GST enzimleri substrat spesifikliklerine, immünolojik özelliklerine, izoelektrik noktalarına ve aminoasit dizilerinin benzerliklerine göre sınıflandırılmışlardır (44). Yapılan sınıflandırmaya göre GST'ler alfa (GST α , GSTA), mü (GST μ , GSTM), pi (GST π , GSTP), teta (GST θ , GSTT), kappa (GST κ , GSTK), zeta (GSTZ), sigma (GST σ , GSTS), omega (GST ω , GSTO) olmak üzere sekiz sınıfa ayrılmıştır (45,46).

1.2.3.1. Mü Sınıfı Glutasyon S-Transferazlar

GSTM gen ailesi, 1981'de Board tarafından karaciğerde tanımlanmıştır. GSTM sınıfı gen ailesi, 1. kromozom (1p13.3) üzerinde 20 kb uzunluğunda ve 5 tane gen bölgesinden meydana gelmektedir. GSTM gen ailesi, 5'-GSTM4-GSTM2-GSTM1-GSTM5-GSTM3-3' şeklinde düzenlenmiştir (47). GSTM1 izoenzimleri baskın olarak karaciğerde, az miktarda ise akciğerde eksprese edilir; GSTM3 akciğer dokusundaki önemli bir izoenzimdir (48). Ekspresyonları dokular arasında varyasyon gösterir. En yaygın eksprese edilen GSTM1'dir ve kemik, beyin, akciğer, paratiroid, kalp, böbrek, over, uterus gibi organlarda bulunur. GSTM2 daha çok iskelet kasında, GSTM3 ise kaslara ilave olarak beyin, akciğer ve testiste bulunur. GSTM4 insan lenfoblastoid hücre soylarında, GSTM5 ise beyinde eksprese edilir (49,50).

1.2.3.2. Teta Sınıfı Glutasyon S-Transferazlar

GSTT sınıf genleri 22. (22q11) kromozomdadır. İnsanlarda GSTT1 ve GSTT2 olmak üzere iki sınıfı bulunmuştur. GSTT1 239 aminoasitten oluşan bir homodimerdir. GSTT1 başta karaciğer ve böbrek olmak üzere incebağırsak, beyin, prostat dokularının önemli izoenzimleridir. GSTT2'nin GSH peroksidasyonu ve elektrofil detoksifikasyon reaksiyonlarına dahil olduğu düşünülmektedir. GSH'nin elektrofillerle konjugasyonunu katalizlemeye ek olarak, GSTT1 fosfolipid hidroperoksitler gibi bir dizi organik peroksite karşı peroksidaz aktivitesi gösterir. Diğer bir izoenzim olan GSTT2 dizi bakımından GSTT1'e benzer ve organik hidroperoksitlere afinitesi vardır ancak bu konu çok derin araştırılmamıştır (51,47, 52). GSTT; beyin, kolon, kalp böbrek, overler, paratiroid, prostat, tonsil, testis, uterus gibi organlarda ekspresyonu tespit edilmiştir (53).

1.2.3.3. Pi Sınıfı Glutasyon S-Transferazlar

GST'ler arasında en yaygın olan pi sınıfıdır. GSTP alt sınıfı GST'nin en önemli izoformudur ve enzimin geni 11 (11q13) kromozomdadır. Doğumdan sonra diğer GST seviyeleri artarken, karaciğerde GSTP seviyesi düşer. GSTP1 doğumdan sonraki önemine ek olarak böbrek, akciğer ve diğer dokularda da kantitatif olarak önemlidir (51,47). Ayrıca GSTP enzimlerinin farklı kanserlerde uygulanan kemoterapi ve radyoterapiye dirençlilik gösterdiği belirtilmiştir. Akciğer, özafagus, böbrek, adrenal bez, kalp, beyin ve plesanta gibi birçok organda eksprese edilir (45,54,55).

1.2.4. Glutasyon-S-Transferazların Substratları

GST enzimleri kemoterapatik ilaçlar (sisplatin, fosfomisin, klorambust vb), endojen moleküller (adenin propenal, dopominokren, aminokrom vb) ve çevresel

karsinojenler (bütodien, akrolein, etilenoksit vb) olmak üzere ksenobiyotiklerin geniş bir spektrumunu detoksifiye ederler (56).

GSTA için organik hidroperoksitler, GSTP için etakrinik asit, GSTT için 1,2-epoksi-3-(p-nitro feroksi) propen, GSTM için 1,2-dikloro-4-nitrobenzen, GSTZ için z-bütül hidro peroksit, GSTS için ise 1-kloro-2,4-dinitrobenzen GST izozimlerinin spesifik substratlarıdır (57).

Glutasyon -S-Transferazlarda her bir alt ünite, iki farklı fonksiyonel bölgeden oluşan bir aktif konuma sahiptir. Bu fonksiyonel bölgeler, fizyolojik substratı (GSH) bağlayan hidrofilik G bölgesi ile yapısal olarak farklı elektrofilik substratları bağlayan hidrofobik H-bölgesidir. GST izozimlerinin, hidrofobik H-bölgesindeki aminoasit kompozisyonunun farklılık göstermesi, enzim ailesinin substrat çeşitliliğinin nedenidir (58).

1.2.5. Kemoterapide İlaç Direnci ve Glutasyon-S-Transferaz İlişkisi

Tümör hücrelerine anti-kanserajanın girmesiyle birlikte hücre içinde GSH düzeyinde ve GST enziminin ifadesinde artış olmaktadır (59). GSH hücre içinde en bol bulunan protein yapısında olmayan ve tiyol grubu içeren bir tripeptiddir (60,61). Bu bileşik GST enziminin fizyolojik substratı olarak görev yapmaktadır. Enzim, GSH yardımıyla ksenobiyotiklerin (örneğin; antikanser ilaçlar) protein yapısındaki çeşitli pompalar yardımıyla dışarı atılmasına neden olmaktadır. Artan GST aktivitesi ile birlikte ilacın hücre içinde uzun süre kalması bu nedenle zorlaşmaktadır. Kaldı ki, enzime paralel olarak bu dışarı pompalama proteinlerinin [MultiDrug Resistance Proteins (MRPs)] ifadesinde de artış gözlenmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, tümör hücrelerin de GSH'nin yüksek düzeylere ulaşmasının ve GST'nin aşırı ekspresyonunun MDR gelişimi ile paralel geliştiği yönündedir (62,63). Çoklu ilaç direnci proteini ailesi olan ve ksenobiyotiklerin taşınmasında görevli ATP-bağımlı taşıyıcı protein, ABC proteinleri (ATP Binding Cassette Super family Transporters), P-glikoprotein (Pgp), çoklu-ilaç direnci ilişkili-protein 1 (MRP1 ve ya ABCC1), gibi proteinlerdir ve büyük bir kısmının MDR fenotipine sahip oldukları saptanmıştır

(64). MRPs GSH ve GSH konjugantlarının transportuyla onkolitik ajanların hücreden atılımlarına aracılık etmektedir (65). MRPs ve insan GSTs arasındaki sinerjizmi gösteren literatürde birçok örnek mevcuttur (59).

| Superfamily | Sınıf | Protein | Organ |
|-------------|--------------|---------------|--|
| Soluble | Alpha | GSTA1 | Testis ~ Karaciğer > Böbrek ~ Adrenal > Pankreas |
| | | GSTA2 | Karaciğer ~ Testis ~ Pankreas > Böbrek > Adrenal > Beyin |
| | | GSTA3 | Plasenta |
| | | GSTA4 | İnce bağırsak~Dalak, Karaciğer ~ Böbrek > Beyin |
| Soluble | Mu | GSTM1 | Karaciğer > Testis > Beyin > Adrenal ~ Böbrek > Akciğer |
| | | GSTM2 | Beyin ~ iskelet kası ~ Testis > Kalp > Böbrek |
| | | GSTM3 | Testis > Beyin ~ İnce Bağırsak> İskelet Kası |
| | | GSTM4 | Testis |
| | | GSTM5 | Beyin, Kalp, Akciğer, Testis |
| | | GSTP1 | Beyin > Kalp ~ Akciğer, ~ Testis > Böbrek~ Pankreas |
| Soluble | Sigma | GSTS1 | Fetal Karaciğer, Kemik iliği |
| Soluble | Teta | GSTT1 | Böbrek ~ Karaciğer > ince bağırsak> Beyin ~ Prostat |
| | | GSTT2 | Karaciğer |
| | | GSTZ1 | Fetal karaciğer , iskelet kası |
| Soluble | Omega | GSTO1 | Karaciğer ~ Kalp ~ iskelet kası > Pankreas > Böbrek |
| Soluble | Kapa | GSTK1 | Karaciğer(mitokondri) |
| MAPEG | (Microzomal) | MGST-I | Karaciğer~ Pankreas >Prostat > kolon ~ Böbrek >Beyin |
| | | MGST-I-like I | Testis > Prostat > İnce bağırsak,~ kolon |
| | | MGST-II | Karaciğer~ iskelet kası~ ince bağırsak> Testis |
| | | MGST-III | kalp> iskelet kası~ Adrenal bez, Tiroid |
| | | LTC4S | Trombositler ~ Akciğer> Karaciğer |
| | | FLAP | Akciğer ~ Dalak~ Timus ~ PBL > İnce Bağırsak |

Çizelge 1.1: Glutatyon-S-transferazın doku dağılım tablosu (68)

1.2.6. Glutatyon-S-Transferaz ve Beyin Tümörü ile İlişkisi

Beyin tümörü beyin ve diğer ilişkili yapılarında özellikle beyin zarları, hipofiz bezi, epifiz bezi ve beyin sinirlerinin yapısında oluşmaktadır(69).Bu tümörler erken yaşlarda görüldüğü gibi orta yaş grubunda da görülebilmektedir.Fakat yaşlı hastalarda çok yaygın olarak oluşabilir(69).Beyin tümörlerinin %2 lik bir kısmı rutin otopsi çalışmaları sırasında bulunabilmektedir(70).Bazı tümörler benign olabilirken, fakat malign tümörler kafatası içinde genişlemeye neden olarak benign tümörlerin nörolojik artışına sebep olabilir(71).

Tümörlerin histopatolojik özellikleri klinik göstergeleri ve hastalıkların teşhisini ortaya koymaktadır(72). Beyin tümörlerinin 2 tipi bulunmaktadır: Primer tümör, kökenini beyin parankimasından (örneğin glioma, medullablastumadan)veya ekstra nöral yapılardan(meningioma, schwann hücrelerinden)alır. Sekonder tümör ise kökenini beyin dışındaki dokulardan (örneğin akciğer, meme, böbrek gibi organlardan) olarak beyin yüzeyine yayılım gösterir.Günümüzde beyin tümör metaztazi primer beyin tümöründen daha yaygındır ve glial tümörlerle birlikte malign tümör yayılımı göstermektedir(73).

Kemorezistans (ilaç dirençliliği)beyin tümörü tedavisinde karşılaşılan en önemli problemlerden biridir. İlaç direçliliğinde birkaç mekanizma önerilmektedir(74).

Glutatyon-S-Transferaz detoksifikasyon enziminin konsantrasyonunun artmasının sonucu olarak hücrelerarasındaki ilaç inaktivasyonu veya metabolizması etkilenir.Bu enzimler kemoterapinin inaktivasyonunda rol olarak malign tümörlerle mücadele etmektedir(75)

Glioblastomalar (GBM) astrositik tümörlerdir ve bütün gliomaların yaklaşık%50 lik kısmını oluşturmaktadır(76).Glioblastomalar yüksek oranda lokal yayılım gösterir. Alkali özelliği gösteren ajanlar örneğin temozolomide, Glioblastomaların sistemik kemoterapisinde kullanılır(76,77).GBM in kemoterapisinde başlıca problemlerden biri kemorezistans özellikte olmasıdır(78). Alkali ajanlara karşı astrositlerin

duyarlılığı DNAYı tamir eden metilguanin metil transferaz enzimini ve glutatyon sentezini bloke ederek göstermektedir(78).

GST genleri oksidatif stres cevabını düzenlemektedir ve insan vücudunda pek çok tümör (açıklanamayacak şekilde) aşırı düzeyde eksprese olmaktadır, bu da kanser kemoterapisinde karşılaşılan başlıca problemlerin başında gelmektedir. Günümüzde pek çok çalışma ile GST genotipleri ve meme, akciğer, kolon, beyin, safra, prostat ve diğer kanser tipleri arasındaki ilişkiler gösterilmektedir(79). Çevresel karsinojenlerin (iyonize radyasyon dışında) beyin tümörlerinin etiolojisi ile bir ilişkisi bulunmamaktadır. Sıçanlar üzerinde yapılan çalışmalar beyin tümörlerinin çeşitli karsinojenik maddeler (ajanlar) tarafından indüklendiğini göstermektedir, fakat insanlar üzerinde yapılan gözlemsel çalışmalar mesleki ve çevresel hiçbir etkenin beyin tümörü vakaları ile bağlantılı olmadığını göstermektedir.

GSTler bir grup kompleks protein grubunu oluşturmaktadır. İki farklı enzim ailesi bulunmaktadır(80).

1. Sitozolik(Çözünebilen)GSTler. İnsan vücudunda bu enzim ailesinin 16 üyesi bulunmaktadır.
2. Mikrozomal GSTler.

İnsanlarda bulunan sitozolik GST lerin pek çok ailesinin homolojisi ve immunolojik çapraz reaksiyonları gruplandırılmıştır. Son zamanlarda GST-Mu(GSTM1),GST-Teta(GSTT1) ve GST-Pi(GSTP1) sıkça araştırmalara konu olmaktadır (79,81).GSTM1 geni 1p13.3 ve GSTP1 geni ise 11q13-qter lokalize olmuşlardır. Beyinde GSTler öncelikle astrositlerde lokalize olup, sinirsel koruma da rol almaktadır. Bir başka taraftan GSTlerin yüksek orandaki ekspresyonu kemoterapi üzerinde etki yapabilmektedir. Bir diğer etki ise doğrudan ilaç metabolizmasında veya DNA ile diğer hücreli moleküllerle etkileşime girerek ilaçların etkisini azaltmaktadır(82).

Kemoterapide başarısız olma riskine ve yan etkilerdeki olumsuz durumlara karşın beyin tümörlü belirli hastalarda potansiyel markerları keşfetmek amacıyla ,55 hastada 57 tümör çeşidi üzerinde çalışma yapılmıştır. Beyin tümörlerinde belirleyici biyobelirteçler, spesifik adjuvan tedavilerin tümör nüks veya sağkalım gibi hasta sonuçları üzerindeki olası etkisini gösterebilir. Bu nedenle ,GSTP1,GSTM1 lerin farklı beyin tümörlerinde ekspresyonu analiz edilmiş olup ekspresyonların seviyeleri arasındaki mümkün olabilecek korelasyon gösterilmiştir ve beyin tümörlerin tipleri keşfedilmiştir.

GST vücudumuzda detoksifikasyon reaksiyonlarda çok önemli bir rol oynar ve bir çok elektrofilik maddelerin konjugasyonunda görev alan süperfamilya enzimleri içerir. GSTs, reaktif kimyasal maddeleri (Polyaromatic hydrocarbon, epoxide, arylamine, sigarada bulunan diğer kimyasallar) etkisiz hale getirerek kişileri kanserden korur.

Memeli GSTs enzimleri sekiz sınıfa, GSTalfa (GSTA), GSTmü (GSTM), GSTpi (GSTP), GSTteta (GSTT),GSTzeta (GSTZ), GSTsigma (GSTS), GST Omega (GSTO) ve GST kappa (GSTK) ayrılırlar (83). GST izozimleri vücudun bütün dokularında bulunmuştur (84). GSTM, GSTP ve GSTT sınıfı izozimleri insanda polimorfizm gösterirler (85, 86). Her iki durumda da GSTM ve GSTT genleri popülasyonun belli bir yüzdesinde bulunmayacak ve dolayısıyla GSTM ve GSTT izozimlerinin aktiviteleri de olmayacaktır. Bu enzimlerin yokluğu kansere sebep veren kimyasalların etkili metabolizmasına izin verecek böylece mutasyonlar artacak ve tümör oluşumunun riski artacaktır. Sonuçta, GSTM ve GSTT genleri olmayan kişilerin kansere yakalanma riski yüksek olacaktır. Epidemiyolojik çalışmalar homozigot null olan bireylerde baş ve boyun (7, 8), akciğer (9), meme (10) ve beyin (11) dahil birçok organda kanser riskini arttırdığını göstermiştir.

Sonuç olarak Mussarat Wahit ve ark. Beyin tümörü üzerinde sitokrom p450 P1A1 ve GSTP1 izozimlerinin polimorfizmini çalışmışlar. GSTP1 Genlerinin ekspresyonu Western Blot ve GST lerin spesifik aktivitesi ELİSA yöntemi ile belirlenmiştir. Hastalar üzerinde yaş, cinsiyet ve tümör yeri ve yoğunluğu üzerinde çalışmalar

yapılmıştır. Erkek ve bayan hastaların örnekleri karşılaştırılmıştır. Yaş aralıkları 1-75 aralığında tutulmuştur. 25 yaş altındaki hastalarda 25 yaş üstüne göre belirgin ölçüde yüksek bulundu. Erkeklerdeki oranın bayanlardaki orana göre daha yüksek çıktığı bulunmuştur. Bütün veriler göz önüne alındığında (beyinin bütün kısımları dikkate alındığında) meninjioma yüksek oranda belirlenmiştir. 1. ve 2. Sınıf tümörlerin 3. ve 4. sınıf tümörlere göre hastalarda belirgin ölçüde yüksek olduğu saptanmıştır. Beyin tumor dokularinde normal dokuya göre GSTpi miktarı azaldığını göstermişler. (87)

Hatice Pınarbaşı ve ark. GSTlerin Genetik polimorfizmi ve primer beyin tümörü vakaları ile arasındaki ilişki üzerindeki yaptıkları çalışmada, GST ailesinin 3 üyesi üzerinde (GSTM1, GSTT1 ve GSTP1) genotip çalışılmıştır. Hasta ve kontrol gruplarında yaşa bağlı olarak hasta oranı $51.5_{+10.1}$; kontrol grupları için $57.7_{+9.3}$ belirlendi. Kanser vakaları erkeklerde %51 ve bayanlarda %49 olduğu saptanmıştır. Yaş aralığı olarak erkeklerde $52.4_{+9.7}$ ve kadınlarda $50.7_{+10.3}$ aralığında yüzdeyle aynı oranda saptanmıştır. Kanser geçmişi olan ailelerde (%18) kontrol gruplara (%9) oranla kanser vakası görülme oranı daha yüksektir. Buna karşılık istatistiksel anlamda vaka ve kontrol grupları arasında belirgin bir bağlantı görülemedi. (Göreceli olasılıklar oranı = 2.11, güven aralığı = %95; 0.90-4.97, p = 0.059) Sigara içen gruplar arasında hasta gruplarında (%46) kontrol gruplara (%30) oranla daha yüksek saptanmıştır. Bu araştırılan grupların her ikisi de büyük oranda erkektir. (88)

GSTM1, GSTT1, GSTP1 lerin kontrol ve vakalardaki genotip dağılımları; GSTM1 null genotipi ile beyin tümör vakaları arasında belirgin bir ilişki vardır. Vakalarda GSTM1 null genotipinin dağılımı %43 ve kontrol gruplarında %24 olarak saptanmıştır. Göreceli olasılıklar oranı 2.33 tür. Buna rağmen GSTT1 null genotip sıklığı hasta insanlarda %32 kontrol grubuna %20 göre daha yüksektir. istatistiksel olarak bir ilişki görülemedi. (göreceli olasılıklar oranı = 1.85, %95, CL = 0.97-1.61, P = 0.051) GSTP1 Ile/Ile genotipi kontrol gruplarında %86; vakalarda %89 sıklık oranı saptanmıştır. Ile/Val ve Val/Val genotip sıklığı kontrol gruplarında %14 ve vakalarda %11 olarak saptanmıştır. GSTP1 gen varyasyonları ve primer beyin tümör vakaları arasında bir ilişki gözlenmedi. (Göreceli olasılıklar oranı = 0.79; %95)

Genlerin polimorfizmi ve beyin tümörlerinin spesifik tipleri arasındaki ilişkiler değerlendirildiğinde, beyin tümörlerini histopatolojik olarak hastaları gruplandırarak çalışmalar yapılmıştır. En yaygın tümör tipinin glioma(%41) ve meninjioma(%31) olarak saptanmıştır. Diğer geri kalan yüzdelik kısmı ise diğer kanser vakaları oluşturur. Hiç bir gen varyasyonu ve tümör tipleri arasında istatistiksel olarak bağlantı kurulamamıştır. Beyin Tümörlü hastalarda GSTM1,GSTT1,GSTP1 genotipleri ve sigara içen bireyler arasındaki ilişki saptanmaya çalışılmıştır.GSTM1 ve GSTT1 Null polimorfizmlerinde sigara içme durumları ile ilgili bir ilişki saptanamamıştır.GSTM1 null genotipi için göreceli olasılıklar oranı=0,41;GSTT1 null genotipinde 0,92 olarak saptanmıştır. Sigara içen bireylerde GSTP1 gen varyasyonları(Ile/Val,Val/Val) sigara içmeyenlere oranla daha yüksektir fakat bu artış istatistiksel bir artış değildir.(göreceli olasılıklar oranı=2.06,%95 CL=0,70-2,88) Bu çalışmada ise GST izozimlerinin beyin kanser (benign, kanser) hücrelerinde dağılımları immünohistokimya metoduyla belirlenecek ve GST izozimlerinin kanser biyolojisindeki önemini tespit edeceğiz. GST izozimleri diğer risk faktörleriyle de istatistiksel olarak karşılaştırılacak ve ilişkilendirilecektir.

2. ÇALIŞMANIN AMACI

Bu çalışmanın amacı beyin tümörü tanısı almış hastalarda beyin tümörünün tipi ile GSTP1, GSTM1 ekspresyonları arasındaki ilişkiyi ortaya koymak amaçlanmaktadır. Ayrıca beyin tümörlü hastalardan kemoterapi ve radyoterapi görenlerin bu tedavilere yanıtları ile bu enzimlerin ekspresyonları arasındaki ilişkinin ortaya konması amaçlanmıştır.



3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Primer Antikor (GSTP1, GSTM1)
- Sekonder Antikor (Biotinylated secondary antikor),
- TBS buffer
- %30' luk H₂O₂ Solusyonu
- Ksilol
- Etanol
- Metanol
- Sodyum Sitrat
- Sitrik Asit
- Protein Blokajı (Normal Swine Serum, Normal Goat Serum) Hematoksilen
- DAB (Diamino benzidin)

3.1.1.1. Solüsyonların Hazırlanışı

- I. H₂O₂ Blokajı Solusyonu Hazırlanışı: 30 ml %30'luk H₂O₂ üzerine 470 ml metanol ilave edilerek hazırlandı.
- II. Antijen Retrieval Solusyonunun Hazırlanışı (0.01 M, pH: 6.0): 2.101 gr sitrik asit (A) 100 ml distile suda; 0.1 M 14.7 gr sodyum sitrat (B) 500 ml distile suda çözüldü. 27 ml A solusyonundan, 123 ml B solusyonundan alınarak 1500 ml'ye distile su ile tamamlandı.

III. 0.005 M Tris Tamponunun Hazırlanışı: 60.55 gr tris base, 85.20 gr NaCl 500 ml distile suda çözülür. 370 ml 1 M HCl eklenerek pH: 7.6'ya getirilip 1 lt'ye tamamlanır. (1 ml TBS 100 ml distile suyla dilüe edilerek kullanılır.)

3.1.2. Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler

- -20'lik derin dondurucu ve buzdolabı(Beko-9621)
- Hassas terazi
- Floresan Ataçmanlı Araştırma Mikroskobu (Leica 5000B)
- Işık Mikroskobu (Zeiss- Primostar)
- Otomatik mikropipet seti (CAPP)
- Vortex (Heidolph)
- Etüv (Binder-ED53)
- Ultra distile Su sistemi (Elga Purelab Optia)
- Isıtıcılı manyetik karıştırıcı (IKA C-Mag H58)
- Ocak (Arçelik021)
- Düdüklü Tencere (Hisar)
- Boyama tablası (Biogen)
- Lamel (Isolab)
- Poly-L-lysin kaplı lamlar (Thermo)
- Mezür, beher, erlenmayer (isolab)

3.2. Kullanılan Metot

3.2.1. Materyal Kazanımı ve Hazırlanışı

a) Deney Materyali

Tez çalışmasında normal ve tümörlü hastadan oluşan deney grupları oluşturuldu. Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nöroşirürji Bölümü nde 2016 -2017 Haziran aylarında beyin tümörü cerrahisi hasta bilgilerinden yararlanılmış olup bütün hastaların 2016 haziran ve 2017 şubat ayları içerisinde veri girişleri tamamlandı. Haziran ayı 2017 yılının sonunda hasta verileri değerlendirildi.

Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi etik kurul onayı ile hastaların demografik özellikleri, cerrahi bilgileri, tamamlayıcı terapi özellikleri, patolojik verileri, enzim ekspresyonları ve hasta takipleri gibi hasta verilerinden faydalanıldı. Tüm hastaların rızası alınarak hastaların patolojik verilerinin korunacağı ve sadece araştırma amaçlı olarak kullanılacağı garanti altına alındı. Nörocerrahi uzmanları tarafından hastalardan dokuların standart bir prosedür çerçevesinde alınması ve verilerin yine uzmanlar tarafından oluşturulması sağlandı. beyin tümörlü kesitler de 2016-2017 yılları arasında rapora dahil edilmiştir.

Toplamda 55 hastanın cerrahi müdahale ile 6 aylık zaman diliminde beyin tümörleri alınmıştır ve 57 beyin tümörü tespit edilmiştir. İki hastada konumlanmış farklı 2 tümör olduğu tespit edilmiştir. GSTPi ve GSTMü hastaların tümörlü dokularında tespit edilmiştir. Bununla birlikte bu markerlar tümörle çevrelenmiş normal beyin dokularında da tespit edilmiştir. Enzimlerin ekspresyonları immünboyamadan sonra mikroskopik görüntülenmesine göre 0,1,2 ve 3 olarak sınıflandırılmıştır.

Hastalara ait yaş, cinsiyet, tanı, tümör evre, survival, ilaç kullanımı ve sigara kullanım durumu ile ilgili hasta bilgileri Çizelge 2.1’de verilmiştir.

| No | Hasta adı ve soyadı | YAŞ | CİNSİYET | SİGARA | ALKOL | LEZYON LOKALİZASYON | TARAF | GSTPİ | | | GSTMÜ | |
|----|-------------------------------|-----|----------|--------|-------|---------------------|-------|-------|---|---|-----------|--|
| | | | | | | | | | | | | |
| 1 | Nilüfer Beyhan ÇALIŞKAN (NŞ1) | 56 | K | YOK | YOK | TEMPORAL | SAĞ | 0 | 0 | 0 | 1 | |
| 2 | Gussı GAZİ(NŞ2) | 54 | K | YOK | YOK | FRONTOBAZAL | ORTA | 0 | 2 | 0 | 0 | |
| 3 | Şefika YILMAZ(NŞ3) | 45 | K | YOK | YOK | PARİYETAL | SOL | 0 | 1 | 0 | 1 | |
| 4 | Sedat YILDIZ(NŞ4) | 25 | E | VAR | YOK | SEREBELLAR | ORTA | 0 | 0 | 1 | 1 | |
| 5 | Yakup Selim TOPAÇ(NŞ5) | 59 | E | VAR | YOK | TEMPORAL | SAĞ | 0 | 2 | 0 | 0 | |
| 6 | Sibel ATILMI(NŞ6) | 26 | K | YOK | YOK | SELLAR | ORTA | 0 | 2 | 0 | 1 | |
| 7 | Arda AKYOL(NŞ7) | 11 | E | YOK | YOK | TEMPORAL | SOL | 0 | 2 | 0 | 1 | |
| 8 | Zülfikar HÜSEYİNOV(NŞ8) | 60 | E | YOK | YOK | TEMPORAL | SOL | 0 | 1 | 0 | 0 | |
| 9 | Ümit ÇOŞKUN(NŞ9) | 25 | E | YOK | YOK | FRONTAL | SOL | 1 | 1 | 0 | 0 | |
| 10 | Mehmet ÇEVİK(NŞ10) | 62 | E | VAR | YOK | PARİYETAL | SOL | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 11 | Nafiye GÜLPINAR(NŞ11) | 68 | K | YOK | YOK | FRONTAL | SOL | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 12 | Aydın AKSOY(NŞ12) | 44 | E | YOK | YOK | FRONTOTEMPORAL | SOL | 1 | 1 | 1 | 1 | |
| 13 | Aydın AKSOY(NŞ13) | 44 | E | YOK | YOK | OKSİPİTAL | SOL | 1 | 2 | 0 | 1 | |
| 14 | Murset GÜNEŞ(NŞ14) | 70 | K | YOK | YOK | PARİYETOOKSİPİTAL | SOL | 1 | 0 | 0 | 0 | |
| 15 | Doğukan AYAN(NŞ15) | 21 | E | YOK | YOK | LATERAL VENTRİKÜL | SAĞ | 0 | 1 | 0 | 0 | |
| 16 | Fehmi DEMİR(NŞ16) | 44 | E | ?? | ?? | TEMPORAL | SOL | 0 | 2 | 1 | 2 (FOTOĞ) | |
| 17 | Alena İRUSKULOVA(NŞ17) | 30 | K | YOK | VAR | FRONTAL | SAĞ | 0 | 1 | 0 | 0 | |
| 18 | Esmâ ÖZTÜRK(NŞ18) | 6 | K | YOK | YOK | SEREBELLAR | SAĞ | 1 | 0 | 1 | 1 | |
| 19 | Cem AKAOĞLU(NŞ19) | 49 | E | YOK | YOK | OKSİPİTAL | SOL | 0 | 2 | 0 | 0 | |
| 20 | Rukiye CANKAYA(NŞ20) | 48 | K | YOK | YOK | SEREBELLAR | SAĞ | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 21 | Adnan KAYA(NŞ21) | 24 | E | YOK | YOK | SEREBELLAR | ORTA | | | | | |
| 22 | Torun ATBAŞ(NŞ22) | 77 | E | YOK | YOK | TEMPORAL | SOL | | | | | |
| 23 | Funda KARADENİZ(NŞ23) | 32 | K | VAR | YOK | FRONTAL | SOL | 0 | 1 | 1 | 1 | |
| 24 | Mustafa KALIÇ(NŞ24) | 51 | E | YOK | YOK | PERİYETAL | SAĞ | 1 | 1 | 1 | 1 | |
| 25 | Ayşe İKİZ(NŞ25) | ? | K | ?? | ?? | ?? | ?? | 0 | 2 | 0 | 0 | |
| 26 | Muzaffer NAZLI(NŞ26) | 69 | E | YOK | YOK | TEMPORALPERİYETAL | SOL | 1 | 3 | 0 | 0 | |

| | | | | | | | | | | | |
|----|--------------------------------------|----|---|-----|-----|----------------------|---------|---|---|---|---|
| 27 | Refiye GÜL KÖSE(NŞ27) | 34 | K | YOK | YOK | LATERAL VENTRİKÜL | SAĞ | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 28 | Mahmut DİKER(NŞ28) | 40 | E | YOK | YOK | TEMPORAL | SAĞ | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 29 | Hasan DOĞAN(NŞ29) | 67 | E | YOK | YOK | SELLAR | ORTA | 0 | 2 | 0 | 1 |
| 30 | Adnan KAYA(NŞ30) | 24 | E | YOK | YOK | FRONTAL | SAĞ | 0 | 1 | 1 | 1 |
| 31 | Nuray EROL(NŞ31) | 39 | K | YOK | YOK | SELLAR | ORTA | 0 | 2 | 0 | 1 |
| 32 | Emel TIĞLI(NŞ32) | 54 | K | VAR | YOK | PERİYETAL | SOL | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 33 | Kamuran USLU(NŞ33) | 37 | K | YOK | YOK | SELLAR | ORTA | 0 | 2 | 0 | 1 |
| 34 | Hasan Hüsnü KORKMAZ(NŞ34) | 48 | E | YOK | YOK | TEMPOROPERİY ETAL | SOL | 1 | 0 | 1 | 0 |
| 35 | Ümmü TOKSOY(NŞ35) | 47 | K | YOK | YOK | FRONTAL | SOL | 0 | 2 | 0 | 0 |
| 36 | Aysun ERKEK(NŞ36) | 29 | K | YOK | YOK | LATERAL VENTRİKÜL | SAĞ | 0 | 2 | 0 | 0 |
| 37 | Hüseyin DEMİR(NŞ37) | 35 | E | VAR | YOK | FRONTAL | SAĞ | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 38 | Peruze BİLGEMEN(NŞ38) | 63 | K | YOK | YOK | PARAFALKSİYON | BİLATER | 0 | 2 | 0 | 0 |
| 39 | Hesna HAN(NŞ39) | 40 | K | VAR | YOK | FRONTAL | SAĞ | | | | |
| 40 | Ayşe BURAN(NŞ40) | 66 | K | YOK | YOK | TEMPORAL | SOL | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 41 | Nezaket GÖK(NŞ41) | 68 | K | YOK | YOK | PARİYETAL | SOL | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 42 | Satı DAĞCI (NŞ42) | 47 | K | ?? | ?? | FRONTOBAZAL | ORTA | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 43 | Asya KALKAN(NŞ43) | 6 | K | YOK | YOK | 4.VENTRİKÜL | ORTA | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 44 | Yılmaz DEMİRTAŞ(NŞ44) | 39 | E | YOK | YOK | SELLAR | ORTA | 0 | 2 | 0 | 1 |
| 45 | Filiz KARABULUT (NŞ45) | 39 | K | YOK | YOK | FRONTOPARİYETAL | SOL | 0 | 1 | | 1 |
| 46 | Zuhal ZAMANI(NŞ46) | 50 | K | VAR | YOK | PARİYETAL | SAĞ | | | | |
| 47 | Mustafa Mert KIZILIRMAK (NŞ47) | 16 | E | YOK | YOK | TEMPORAL | SOL | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 48 | Muammer KURT(NŞ48) | 64 | E | YOK | VAR | SEREBELLAR | SOL | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 49 | Adnan YAVUZ(NŞ49) | ?? | E | ?? | ?? | ?? | ?? | | | | |
| 50 | Ceylan ERTUĞRUL(NŞ50) | 43 | K | YOK | VAR | PERİYETAL | SAĞ | | | | |
| 51 | Nilgün YILMAZ(NŞ51) | 39 | K | YOK | YOK | FRONTAL | SOL | | | | |
| 52 | Ahmet ÖZDEMİR(NŞ52) | 61 | E | ?? | ?? | FRONTAL | SAĞ | | | | |
| 53 | Satla AYDIN(NŞ53) | 76 | K | YOK | YOK | FRONTAL | SAĞ | | | | |

| | | | | | | | | | | | | | |
|----|-----------------------------|----|---|-----|-----|----------------|------|--|--|--|--|--|--|
| 54 | Nurettin DEMİRER(NŞ54) | 61 | E | VAR | YOK | FRONTAL | SAĞ | | | | | | |
| 55 | Ayşe KARAASLAN (NŞ55) | 62 | K | YOK | YOK | SELLAR | ORTA | | | | | | |
| 56 | Bayram YILMAZKAYA(NŞ56) | 63 | E | VAR | YOK | TEMPORAL | SOL | | | | | | |
| 57 | Abdurrahman YEŞİLYURT(NŞ57) | 77 | E | YOK | YOK | FRONTOTEMPORAL | SAĞ | | | | | | |

Çizelge 2.1: Hasta Bilgileri Tablosu

3.2.2. İmmunohistokimya Prosedürü

I. Dokuların Deparafinizasyonu

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

II. Basamak

- 1) H₂O₂ blokajı ile endojen peroksidaz aktivasyonunun inhibisyonu için solusyonda 10dakika bekletildi.
- 2) Çeşme suyunda 5 dakika bekletildi.
- 3) Antijen Retrieval Solusyonu içinde düdüklü tencerede 3 dakika kaynatıldı.
- 4) Non spesifik boyanma inhibisyonu için “Protein Block Solution” 10 dakika uygulandı.
- 5) Primer antikor uygulandı (60 dakika)
- 6) PBS ile 3 defa yıkama yapıldı ve her yıkama 5 dakika bekletildi.

- 7) Sekonder antikor uygulandı (15 dakika)
- 8) PBS ile yıkandı (3x5 dakika)
- 9) Streptavidin-peroksidaz kompleksi uygulandı (20 dakika)
- 10) PBS ile yıkandı (3x5 dakika)
- 11) 10 dakika DAB uygulandı.
- 12) 1 dakika distile suda bekletildi.

III. Basamak: Hematoksilen Boyaması

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

3.2.3.Histopatolojik Araştırma

Kesiti alınmış örneklerin patolojik araştırması daha önceden belirlenmiş standart bir protokole göre yürütüldü. Her bir vakadaki cerrahi örnekler patologlar tarafından makroskopik olarak incelendi ve her bir örnekten iki doku örneği hazırlandı. Tümörlü dokudan bir örnek, tümörlü dokunun çevresindeki normal dokudan da bir örnek makroskopik olarak hazırlandı. Sadece beyin tümörleri (gliomalar, metastazlar, meningiomalar, hipofiz adenomları dahil olarak) bu veri tablosuna dahil edildi. Çoklu tümörlerin bulunduğu yerde, iki tümör bu kısımdan çıkarılıp araştırmalara dahil edildi. Tümör boyutu en büyük yüzey boyutu olarak ölçümlendi. Beyin tümörünün direkt nüfuz ettiği yerleri göstermek için parafin bloklara alındı. Tümör ve herhangi bir yapışık yapı veya doku ile rezeksiyon hatları ve normal beyin dokusu arasındaki ilişkiyi göstermek için özel bloklar alındı.

Tümör derecesi, diferansiyasyon ve anaplazi derecesi, tümör sınırının doğası (itme veya infiltrasyon) ve beyin invazyonunun varlığı ve önemi dikkate alınarak

değerlendirildi. Analiz edilen tüm patolojik özellikler her örnekte araştırıldı ve bunların varlığı veya yokluğu açıkça kaydedildi.

Normal beyin dokusundaki GST ve CYP ifadeleri için, çevredeki normal beyin dokusunun bir kısmının yanı sıra, eşleştirilmiş tümör dokusu komşuluğu örnekleri kullanıldı.

İki uzman patolog tarafından GSTP1'in immunoreaktivliği, hastaların klinik özellikleri, diğer histopatolojik veri ve hayatta kalma mücadeleleri ile birlikte değerlendirildi. Doku içinde tümörün merkezinde ve baş tarafına yayılım gösteren her bir örnekte özellikle hücre çekirdeğinde ve sitoplazmada boyanan tümör epitel hücrelerinde değerlendirme yapıldı. Boyama yoğunluğuna göre 0 (boyama yok), 1 (zayıf boyama,+), 2 (orta şiddette boyama,++), 3 (kuvvetli boyama,+++) olarak derecelendirildi. Gözlemler arasında bir çelişkiye düşüldüğünde, preparatlar yeniden incelendi ve fikir birliğine ulaşıldı. Hayatta kalma ile ilişkili olarak boyanan hücrelerin yüzdeleri, optimum dikotomiyi bulmak için, boyanan hücrelerin yüzdelerinin dağılımı ilk olarak % 0 ila % 1 - 100 arasında dikotomize edildi ve ilgili p değeri ile sağkalım eğrileri elde edildi.

Kesme noktası daha sonra % 10'luk (% 0-9'a karşılık % 10-100, % 0-20'ye karşılık % 30-100... % 0-90'a % 100), eğrilerin ayrılması ve p değeri her adımda kaydedildi.

Bu süreç hayatta kalma eğrilerinin en büyük ayrılmasını sağlayan optimum kesme noktasını vermiştir.

3.2.4. İstatiksel Analizler

Ki-Kare Testi ve Fisher Testi istatistiksel araştırmalarda kullanıldı. Kaplan-Meier Metodu ikili değerler arasındaki karşılaştırmada kullanılmıştır. Analizler SPSS 15.0 for Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) ile yapıldı.

4. BULGULAR

4.1. Beyin Tümörü Dokularında GST İzozimlerinin Protein İfadelerinin Sonuçları

4.2. GST İzozimlerinin İstatiksel Olarak Kendi Aralarında Karşılaştırılması

Çalışmalarda 55 hastada 57 lezyon tipi teşhis edildi. İki hastada 2 lezyon mevcuttur. Lezyonlu 57 hastadan üçü radyasyon nekrozlu ve 54 tümör dokusu üzerinde çalışma yapıldı. Çalışmalarda lezyon tiplerinin enzim seviyelerine histokimyasal ifade yönünden incelendi, 29(%52.7) hasta bayan, 26 hasta erkek deneylerde incelendi. Tüm hastaların ortalama yaş aralığı 46.72(6-77 yaş aralığı) dir. Bayan hastalarda yaş ortalaması 45.8; erkek hastalarda yaş ortalaması ise 47.7 dir. 26 erkek hastadan 6 sı (%23.1) i sigara kullanmaktaydı. Fakat 29 bayan hastadan 4 ü(%13.8) i sigara kullanmaktaydı. Hastalardaki en yaygın histopatolojik teşhis 12 meningioma (%21), 12 metazıtaz(%21) ve 9 glioblastoma (%15,8) örneği tespit edildi. 3 vakada radyasyon nekrozu teşhis edildi.

Hastalardan alınan beyin örneklerinden elde edilen sonuçlara göre, GSTP1 ekspresyonu en yüksek oranı hipofiz bezi adenomlarında tespit edildi. Bunları sırasıyla meningioma ve metazıtazın izlediği tespit edildi. GSTM1 ekspresyonu ise hipofiz bezi adenomlarında düşük oranda belirlendi(Çizelge 4.1).

| | GST (Ortalama değer) | | p* |
|--------------------|----------------------|-------|-------|
| | GSTP1 | GSTM1 | |
| Normal doku | 0.15 | 0.17 | 0.080 |
| GBM (n=9) | 1.0 | 0.5 | 0.274 |
| Hipofiz bezi (n=5) | 2.2 | 0.8 | |
| Meningioma (n=12) | 1.3 | 0.5 | |
| Metastaz (n=12) | 1.3 | 0 | 0.308 |

Çizelge 4.1: GBM, Metastaz, meningioma, anaplastik astrosima ve hipofiz bezi adenomlarında ve normal dokuda GSTP1 ve GSTM1 izozimlerinin ortalama değerlerinin karşılaştırılması.

*Friedman test (hipofiz adenomu ve menengioma larının ölçüm değerlerinde eksiklikler olduğu için hesaplanamıyor fakat genel olarak >0.05 olarak alınabilmektedir.)

Çalışmada beyin tümörlü hastaların histolojik teşhislere göre 57 çeşit tümör tipinin dağılımları verilmiştir(Çizelge 4.2).

| Tümör tipleri | Boyanma şiddeti | Sayı | (%) |
|------------------------------|-----------------|-----------|------------|
| Meningioma | 1 yoğunluk | 9 | 15.8 |
| | 2 yoğunluk | 3 | 5.2 |
| Metastaz | | 12 | 21.1 |
| GBM | | 9 | 15.8 |
| Hipofiz bezi | | 5 | 8.8 |
| Anaplastik astrositoma | | 3 | 5.2 |
| Anaplastik oligodendroglioma | | 2 | 3.5 |
| Oligodendroglioma | | 2 | 3.5 |
| Pilositik astrositoma | | 2 | 3.5 |
| Sentral neurositoma | | 2 | 3.5 |
| Gliosarkoma | | 2 | 3.5 |
| Schwannoma | | 1 | 1.8 |
| Medulloblastoma | | 1 | 1.8 |
| L'Hermitte Duclos Hastalığı | | 1 | 1.8 |
| Radyasyon nekrozu | | 3 | 5.2 |
| Total | | 57 | 100 |

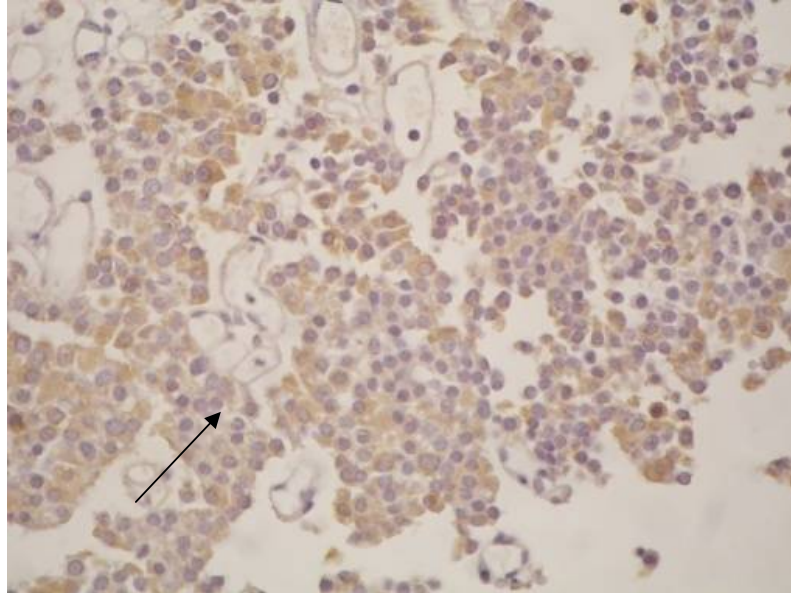
Çizelge 4.2: Histolojik teşhislere göre tümör dağılımları.

Çizelge 4.3'ya göre GSTP1 ekspresyonu 26 normal dokuda bulunamamıştır, 12 tümörlü dokuda gözlenmiştir. Fakat 1 derece GSTP1 ekspresyonu 22 tümör örneğinde gözlenmiştir, 2 derece ekspresyonu 16, 3 derece ekspresyonu ise 2 tümörlü örnekte gözlenmiştir. Bunlardan biri hipofiz bezi adenomu diğeri ise böbrek karsinomuna aitti. GSTP1 ekspresyonu tümör dokularında normal dokularla karşılaştırıldığında daha yüksektir (Şekil 5, 6). GSTM1 ekspresyonunun normal ve tümörlü doku örnekleri arasında belirgin bir farklılık yoktur (Şekil 7, 8).

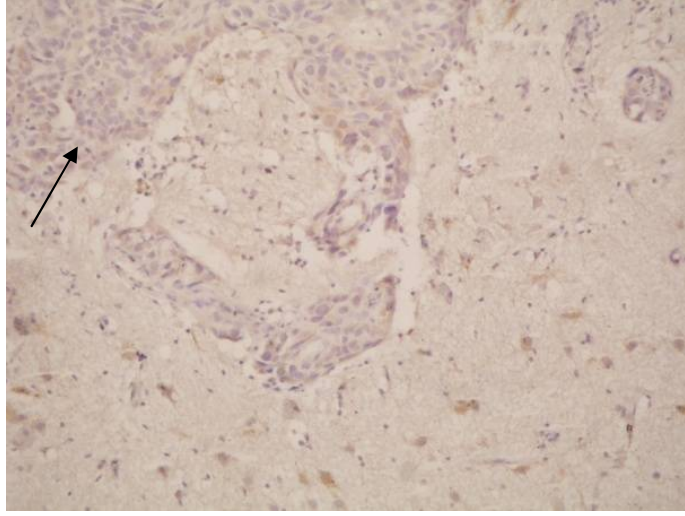
| Skor | GSTP1 | | GSTM1 | |
|----------|-------------|--------------|-------------|--------------|
| | Normal Doku | Tümörlü Doku | Normal Doku | Tümörlü Doku |
| 0 | 26 | 12 | 30 | 30 |
| 1 | 9 | 22 | 20 | 21 |
| 2 | - | 16 | - | 1 |
| 3 | - | 2 | - | - |
| Doku yok | 22 | 5 | 17 | 5 |

Çizelge 4.3: Normal ve Tümörlü dokularda GSTP1 ve GSTM1 Dağılımları.

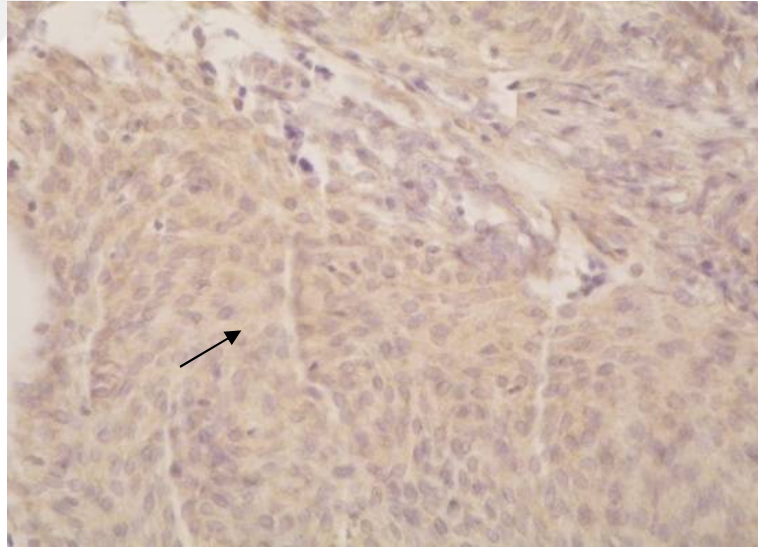
***Kruskall Wallis istatistik araştırmalara göre (teker teker grup içi istatistik yapmıyor, ancak toplu sonuç veriyor)**



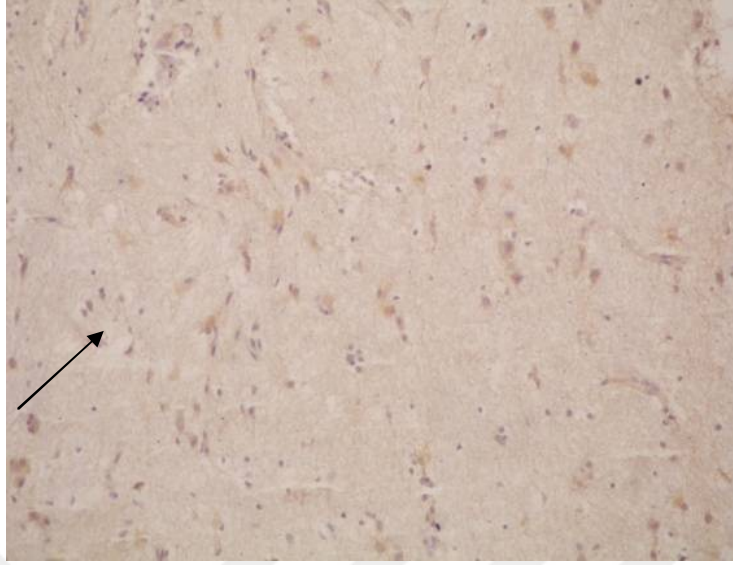
Şekil 4.1: Ependimoma tümör hücrelerinde GSTP1 kuvvetli (+3) immünohistokimyasal boyanma (X200)



Şekil 4.2 : Menengioma tümör hücrelerinde (OK) GSTM1 orta şiddette (+2) immünohistokimyasal boyanma (X200)



Şekil 4.3 : Menengioma tümör hücrelerinde (OK) GSTM1 orta şiddette (+2) immünohistokimyasal boyanma (X200)



Şekil 4.4 : Gliosis alanında (OK) (beyin normal çevre dokusunda) GSTM1 pozitif (+1) immünohistokimyasal boyanma (x200).

Çizelge 4.4, 4.5, 4.6, 4.7'deki verilere göre 5 hastada hipofiz bezi adenomu bulunmaktadır. Bu hastalardan 3 ü bayan, 2 si erkektir. Yaş ortalaması 46.2 dir. Ortalama 6.6 aylık dönemde hastaların takipleri gerçekleştirilmiştir (4-11 aylar). FSH ekspresyonu 3 hastada pozitif, LH ekspresyonu 2, PRL, GH ve ACTH Ekspresyonları 1 hastada pozitif olarak çıkmıştır. Ki-67 çoğalma indeksine göre bu oranlar oldukça azdır. GSTP1 ekspresyonu bu yapılarda metastaz, GBM ve meningiomalarla karşılaştırıldığında oldukça yüksektir.

| Hasta numarası | Yaş/ cinsiyet | FSH | LH | PRL | GH | ACTH | TSH | P53 | Ki-67 proliferation index (%) | Ay takibi |
|----------------|---------------|-----|----|-----|----|------|-----|-----|-------------------------------|-----------|
| 1 | 26/K | + | + | - | - | - | - | - | 1 | 11 |
| 2 | 67/E | + | + | - | - | - | - | - | 2 | 7 |
| 3 | 37/K | - | - | + | + | - | - | - | 2 | 6 |
| 4 | 39/E | - | - | - | - | + | - | - | 1 | 5 |
| 5 | 62/K | + | - | - | - | - | - | - | 2 | 4 |

Çizelge 4.4: Hipofiz Bezi adenomu

| Hasta numarası | Yaş/ cinsiyet | Bulunduğu kısım | Derecelendirme (boyanma durumu) | Örnek | Calcification | Ki-67 proliferation index (%) | Ay takibi |
|----------------|---------------|-----------------------|---------------------------------|---------------------|---------------|-------------------------------|-----------|
| 1 | 55/K | Frontobasal | I | Meningotheliomatous | + | 3-4 | 12 |
| 2 | 45/K | Sol frontal | II | Mixt | - | 6-7 | 12 |
| 3 | 69/K | Sağ frontal | I | Transitional | - | 3 | 10 |
| 4 | 39/K | Tuberculum Sellae | I | Meningotheliomatous | - | 2-3 | 7 |
| 5 | 47/K | Sol frontal | I | Mixt | - | 1 | 7 |
| 6 | 29/K | Sağ lateral ventricle | II | Mixt | + | 5 | 7 |
| 7 | 63/K | Bilateral parietal | I | Transitional | - | 3 | 6 |
| 8 | 47/K | Frontobasal | I | Meningotheliomatous | - | 1-2 | 5 |
| 9 | 39/K | Sol frontoparietal | I | Meningotheliomatous | + | 5 | 5 |
| 10 | 50/K | Sağ parietal | II | Meningotheliomatous | - | 5 | 5 |
| 11 | 43/K | Sağ parietal | I | Mixt | - | 4 | 4 |
| 12 | 77/E | Sağ temporal | I | Transitional | + | 2-3 | 4 |

Çizelge 4.5: Meningioma

| Hasta Sayıları | Yaş/cinsi,yet | Bulunduğu kısım | Primer orjin | Tipi | Ki-67 proliferasyon index (%) | Ay takibi |
|----------------|---------------|--------------------|--------------|---------------------------|-------------------------------|-----------|
| 1 | 59/E | Sağ temporal | Akciğer | Adenokarsinoma | 20 | 11 |
| 2 | 60/E | Sol frontotemporal | Nazofarinks | Karsinoma | | 11 |
| 3 | 47/E | Sol occipital | Akciğer | Küçük hücre karsinoması | ~100 | 8 |
| 4 | 49/K | Serebellum | Göğüs | Invasive ductal carcinoma | Yüksek | 9 |
| 5 | 55/K | Sağ frontal | Over | Ciddi karsinoma | Yüksek | 7 |
| 6 | 69/E | Sol parietal | Böbrek | Böbrek hücre karsinoması | | 8 |
| 7 | 39/K | Frontal | Mide | Adenokarsinoma | | 7 |
| 8 | 66/K | Temporal | | Büyük B hücresi lenfoma | 50 | 7 |
| 9 | 68/K | Sol parietal | Göğüs | Karsinoma | 50 | 6 |
| 10 | 64/E | Serebellum | Akciğer | Adenocarcinoma | | 5 |
| 11 | 61/E | Sağ frontal | Akciğer | Adenocarcinoma | | Excitus |
| 12 | 61/E | Sağ frontal | Akciğer | Squamous Hücre karsinoma | 50 | 4 |

Çizelge 4.6: Metastaz

| Hasta Sayıları | Yaş/cinsi,yet | Bulunduğu kısım | GFAP | P53 | Ki-67 proliferation index (%) | Ay takibi |
|----------------|---------------|---------------------|--------------|--------------|-------------------------------|-----------|
| 1 | 10/E | Sol talamus | Diffuse + | Diffuse + | 80 | Excitus |
| 2 | 63/E | Sol parietal | Diffuse + | %2-3+ | 40 | 10 |
| 3 | 45/E | Sol parietal | High | | High | 9 |
| 4 | 51/E | Sağ parietal | + | - | 40 | 8 |
| 5 | 53/K | Sol parietal | Diffuse + | - | 60 | 7 |
| 6 | 49/E | Sol parietal | Diffuse + | %2-3+ | 30 | 7 |
| 7 | 35/E | Sağ frontal | Diffuse + | Diffuse + | 50 | 5 |
| 8 | 39/K | Sol temporoparietal | + | - | 25 | 4 |
| 9 | 76/K | Sağ frontal | + | - | 15 | 4 |

Çizelge 4.7: Glioblastoma

Çizelge 4.4, 4.5, 4.6, 4.7'daki verilere göre 5 hastada hipofiz bezi adenomu bulunmaktadır. Bu hastalardan 3 ü bayan,2 si erkektir.Yaş ortalaması 46.2 dir.Ortalama 6.6 aylık dönemde hastaların takipleri gerçekleştirilmiştir(4-11 aylar).FSH ekspresyonu 3 hastada pozitif,LH ekspresyonu 2,PRL,GH ve ACTH Ekspresyonları 1 hastada pozitif olarak çıkmıştır.Ki-67 çoğalma indeksine göre bu oranlar oldukça azdır.GSTP1 ekspresyonu bu yapılarda metastaz,GBM ve meningiomalarla karşılaştırıldığında oldukça yüksektir.

4.3 GST İzozimlerinin Hasta Verileriyle Karşılaştırılması

4.3.1.Yaşa Göre Karşılaştırma;

Hastaların yaş gruplarına göre Beyin Tümörlü hastaların GST izozimlerinin protein ifadeleri incelendiğinde; GSTP1 ve GSTM1 izozimlerinin genç hastalarda hipofiz bezi adenomu daha fazla gözlenirken, yaşlı hastalarda metastaz ın daha fazla protein ifadesinin olduğu görüldü.

Yaş ile GSTP1, GSTM1, ilişkisi Pearson korelasyon ile değerlendirildi. Yaş-GSTP1- $p=0.795$, yaş-GSTM1- $p=0.016$ yaş arttıkça GSTP1, GSTM1 değerleri azaldığı görülmüştür.

4.3.2.Cinsiyete Göre Karşılaştırma;

Cinsiyete göre GSTP1 ve GSTM1 değerleri arasında istatistiksel olarak ilişki tespit edilememiştir. ($p>0.05$) (Mann-Whitney U testi)

5. TARTIŞMA

GST izoenzimleri doğada her yerde her organizmada bulunmaktadır. Bu enzimlerin çoğu, glutatyonun sülfür atomu ile substrat arasındaki bir tiyoeter bağının oluşumu yoluyla bir elektrofilik merkez içeren bileşiklerle indirgenmiş glutatyonun iletimini katalize eder(89).

GSTM ailesi 100 kblık gen kümesi tarafından kodlanmaktadır, bu aile 5'-GSTM4-GSTM2-GSTM1-GSTM5-GSTM3-3' şeklinde düzenlenmiştir. 8 eksondan oluşan, geniş homojili bölge tarafından, tanımlanmış 4,2 kb lık 2 bölge tarafından GSTM1 geni oluşturulmaktadır.4,2 kb lık sağ ve sol homolog rekombinasyonları, GSTM1 null alleli (genin homozigot delesyonu) 16 kb lık delesyonlu GSTM1 gene dönüşür (90,91,92).

Tek GSTP1geni kromozomun 11q13 şeklinde konumlanmıştır,2,8 kb uzunluğunda ve 7 ekson içermektedir. ilk eksonun sonundaki 3' ü ölgesinde açık okuma çeçevesi ile başlar ve 620 baz çifti uzunluğunda olup,209 aminoasideddn oluşan protein kodlanır. Polimorfik oluşumları içermektedir. 105(Ile,Val) ve 114.(Ala,Val) kodonlarda 5. ve 6. Eksonlarda geniş aminioasit sonuçları neticesinde 2 polimofik oluşum gerçekleşmektedir.(92,93,94,95,96).GSTP1 ilaç dirençliliği ile ilişkilidir ve terapinin başarısızlığıylada ilişkilidir.GSTP1 in anormal aktivitesi ve ekspresyonu ve GSTP1 in DNA hipermetilasyonu prostat,göğüs,akciğer,böbrek ve endometrial karsinomlarda tanımlanmıştır.Sitozolik GSTP1 toksik,ksenobiyotik ve kemoterapik bileşiklerin glutatyondaki elektrofilik merkezini indirgeyerek nükleofilik saldırıları katalizler(89).GSTP1 ekspresyon eksikliği kanser riskini yükseltmektedir.(95,97).

Gliyal tumorler ve metastazlar intrakranial tümörler arasında cerrahi ve ilave tedaviler olmasına rağmen teşhisi zor olmaktadır(73).GBM letal özelliği en azla olup heterojen özellikte kanserdir(72,73).Kemoterapi ve radyoterapiye cevabı oldukça azdır.Son 20 yılda beyin tümörleri üzerinde yapılan çalışmalar olgun bireylerde GST varyantlarının varlığı ile beyin tümörleri arasındaki ilişki rapor edilmiştir(98,99,100,101,102,103,104,105).Bilakis,Lai ve arkadaşları 2005(106)GST

lerin genetik polimorfizminde ve beyin tümör riskinde bu iki kavramın birbiri ile ilişkili olmadığını önerdi.

Hara ve arkadaşları (108), immunohistokimyasal metodla 26 meningioma hastasında GSTP1 in ekspresyonunu keşfetti ve bu çalışma grubu GSTP1 in ekspresyonun meningiomalı hastalarda pozitif olduğu sonucuna ulaştı. Geçiş gösteren meningiomalarda meningo component ekspresyonunu da gösterdi. Meningoselomatöz farklılaşma eğilimi olan iki olgu hariç, GSTP1'in hiçbir leke reaksiyonu fibroblastik menenjiyomlarda tanınmadı. Çalışmalar sırasında, 12 hastada meningioma, bu hastaların 5 inde meningotelmatus, 3 ü geçişkenli ve 4 ü karışık şekilde oluşmaktadır. Kuvvetli boyamalar (3 derecesinde) neticesinde GSTP1 ekspresyonu meningiomaların karışık tipinde gözlemlendi. Orta şiddetteki boyamalarda ise (2 derece) GSTP1 ekspresyonu meningotelmatus ve geçişsel meningiomalar gözlemlendi. Fakat GSTM1 ekspresyonu meningiomalarda oldukça zayıf gözlemlendi. Sonuç olarak, bizim çalışmalarımız Hara ve arkadaşlarının yapmış olduğu GSTP1 ekspresyonu ile aynı sonuca ulaşıldı.

Granr ve arkadaşları (107) GST (Pi ve Mü) 'nin ekspresyonun keşfetmişlerdir ve GST'nin immunohistokimya çalışmaları astrositler ve endotelyum için bir kanıt oluşturdu. Fakat beyindeki nöronlar ve oligodendrositer için kanıt oluşturmadı. Bu 2 araştırmacının çalışmaları GSTPi nin tümörlerde belirgin sınıfını oluştururken, GSTM (mü)nin bazı tümörlerde eksprese olduğunu ifade etmişlerdir. Bizde yapılan çalışmalarda ise glial tümörlü 20 vakada ve GBM(n=9) da belirlenmiştir.

Hara ve arkadaşları (108), 31 gliomada ve 6 normal beyin dokusunda GSTP1 in ekspresyonunu açıkladı. İyi huylu astrositomalar zayıf şekilde GSTP1 immunostaining (immunoboyamasını) normal glial hücrelerdeki gibi benzerlik gösterdi. İmmunostaining tekniği ile gliomalar GSTP1 ile yüksek pozitif reaksiyon gösterdi. Fakat, normal glial hücreler ise sitoplazmada ve bazı nüklear membranlarda GSTP1 zayıf immunostaining cevap oluşturdular. Fakat glioma hastalarında, glioma GSTP1 ile pozitif bir reaksiyon sergiledi. Yaptığımız çalışmalarda, 20 hastamız glial

tümör, bu hastaların 9 u da GBM li idi.GBM örneklerinde GSTP1 orta dereceli ekspresyona sahiptir ve bu ekspresyon normal dokulara göre daha yüksek orandadır. Juillerat-Jeanneret ve arkadaşları (78), GBM in 14 hastada tespiti ile tumör tipleri analiz edildi. Bu çalışma grubu tarafından GST ekspresyonu değerlendirildi. İnsan glioblastoma hücrelerinin alkali ajanlarla olan etkileşimi (alkali ajan-GST inhibitör) GSTP1 in ekspresyonu çalışmaları da değerlendirildi. Juillerat-Jeanneret ve arkadaşları2008 (78) insan GBM ve glioblastoma hücrelerinde GSTP1 in ekspresyonunda heterojenliği buldular. Bu hücrelerin iç özelliklerindeki farklılık, tümörlerin alkali ajanlara cevap vermemesiyle ilişkilidir.

Stavriou ve arkadaşları (82), 77 beyin tümürlü hastada Qrt-PCR ve Western Blotting yöntemlerini kullanarak gen ve protein ekspresyonunu keşfettiler. Bu çalışma gubu tarafından çeşitli MSS tümörlerinin farklı ilaç metabolizma enzim ekspresyonlarını gösterdiler. Bununla birlikte meningiomalarda GSTP1 ve GSTM nün transkripsiyonunda ve translasyon seviyelerinin her ikisinde yüksek ekspresyon seviyelerini gösterdiler. Çalışmalarımızda 55 hastanın verilerinden yararlanırken, Stavriou çalışma grubunda 77 hasta verisi kullanılmıştır. Buna karşın, çalışmalarımızda meningiomalarda GSTP1 ekspresyonunun Stavriou çalışma grubu gibi yüksek olduğu ve GBM ve metaztaz durumlarından da yüksek olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Sadece hipofiz bezi adenomlarında meningiomalara göre ekspresyonun yüksek olduğu bunun da nedeninin meningioma ve gliomalara göre farklı bir kökenden kaynak almasına bağlanmaktadır.

GSTP1,GSTM1 ve hipofiz bezi tümörleri arasında bir bağlantının olduğuna dair çalışmalar bulunmaktadır (109,110,111). Yuan ve arkadaşları (111) GSTP1 ekspresyon seviyesini değerlendirdi ve GSTP1 DNA metillenmesi 53 hipofiz bezi adenomunda ve GSTP1 inaktivasyonunun CpG hipermetilasyon şeklinde hipofiz bezi adenomlarında bulundu.Bu hipermetillenme aşırı derecede hipofiz bezi tümör oluşumuna neden olmaktadır.Çalışmalarımızda hipofiz bezi adenomları 5 hastada teşhis edilmesine rağmen oldukça geniş bir dağılım sergilemektedir.Hipofiz bezi adenomlarında kuvvetli şekilde boyanan GSTP1 ekspresyonu bulunmuştur fakat dokularda yayılımı agresiv değildir.Fakat yaptığımız çalışmalarda hipofiz bezi

adenomları hastalarımızın çok az bir kısmını oluşturmaktadır bu da kanıtlamaktadır ki meningioma ve glial hücrelerle karşılaştırıldığında GSTP1in hipofiz bezi tümörlerinde oldukça yaygın olduğunu göstermektedir.

Bu çalışmada, 8 aylık dönemde, 57 intrakranial tümörlü dokularda GST ekspresyonları analiz edilmiştir. Bu tümörlerin en yaygın gözlenenleri metastaz ve meningiomadır. Çalışmada, hipofiz bezi adenomlarında GSTP1 ekspresyonu yüksek olduğu tespiti yapılmıştır. Normal ve tümörlü dokular arasında GSTM1 ekspresyonu arasında belirgin bir farklılık gözlenmemiştir.

Çalışmalarımızda hasta sayısının az olması, farklı histolojik tipler ve kemoterapi cevaplarının karşılaştırılamaması bizim çalışmalarımızın eksiklikleridir.

Sonuç olarak, yapılan tez çalışması hipofiz bezi adenomlarında GSTP1 ekspresyonu yüksekliğini ve pek çok tümör çeşidinde detoksifikasyonunda rol aldığını ortaya koydu. Buda çalışmalar sırasında medikal tedavide zorluk oluşturmaktadır. Çalışmalarımızın büyük bir grup üzerinde ve farklı enzim tipleri üzerinde yapılacak çalışmaları oluşturmaktadır. Bu da çalışmanın ilerde yapılacak beyin tümörlü hastaların tedavisinde kullanılabileceği fikrini ortaya koymuştur ve beyin tümörü ile ilgili çalışmalara bilimsal katkısının olabileceği düşünüldü.

6. KAYNAKLAR

- 1) <https://norosirurji.trakya.edu.tr/pages/eriskin-beyin-tumorleri#.Ws-pLdSLSt8>
(Erişim Tarihi: 30.04.2018)
- 2) <http://www.turkiyeklinikleri.com/article/en-santral-sinir-sistemitumorlerinde-epidemioloji-ve-klinik-65127.html> (Erişim Tarihi: 01.01.2018)
- 3) <https://norosirurji.trakya.edu.tr/pages/eriskin-beyin-tumorleri#.Ws-pLdSLSt>
(Erişim Tarihi: 15.04.2018)
- 4) kanser.gov.tr/Dosya/2017Haberler/2017_4_subat.pdf (Erişim Tarihi: 16.04.2018)
- 5) kanser.gov.tr/Dosya/2017Haberler/2017_4_subat.pdf (Erişim Tarihi: 15.04.2018)
- 6) http://www.istanbulsaglik.gov.tr/w/tez/pdf/beyin_sinir_cerrahi/dr_bekir_tugcu.pdf (Erişim Tarihi: 20.04.2018)
- 7) Bailey P, Cushing H. A Classification of Tumors of the Glioma Group on a Histogenetic Basis. Philadelphia: JB Lippincott; pp 146-167.
- 8) Kernohan JW, Mabon RF, Svien HJ. A simplified classification of gliomas. Proc staff meetings, Mayo Clinic 1949 24: 71-74.
- 9) Ringertz N Grading of gliomas. Acta Pathol Microbiol Scand. 1950;27(1):51-64.

- 10) Daumas-Duport C, Scheithauer B, O'Fallon J, Kelly P. Grading of astrocytomas. A simple and reproducible method. *Cancer*. 1988 Nov 15;62(10):2152-65.
- 11) Kliehues P, Burger PC, Scheithauer BW. WHO International Histological Classification of Tumors. In: *Histological typing of tumours of the central Nervous System*. 2nd edn. New York: Springer-Verlag 1993.
- 12) Kliehues P, Cavenee WK. WHO Classification of Tumors, Pathology and Genetics of tumors of the Nervous System. International Agency for Research on Cancer (IARC). Lyon
- 13) <http://www.turknorosirurji.org.tr/menu/68/beyin-tumorleri> (Erişim Tarihi: 14.04.2018)
- 14) <http://www.tumor.gen.tr/beyin-tumoru-cesitleri.html> (Erişim Tarihi: 20.04.2018)
- 15) <https://www.beyinhastaliklari.com/beyin-tumoru-evreleri.html> (Erişim Tarihi: 21.04.2018)
- 16) Hodgson E, Levi PE. *Introduction to Biochemical Toxicology*. Connecticut: Appleton&Lange, 1994.
- 17) Vural N., *Toksik maddelerin metabolizması*. Ankara Üniv. Yayınevi, 2005.
- 18) Mannervik B., The isoenzymes of glutathione S-transferase. *Adv. Enzymol.* 57; 357-417, 1985.
- 19) Guengerich F.P., Characterization of human microzomal P450 enzymes. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 29; 241, 1989.

- 20) Board P, Coggan M, Johnston P, Ross V, Suzuki T, Webb G. (1990). Genetic Heterogeneity Of The Human Glutathione Transferases: A Complex of Gene Families. *Phar Ther*, Vol.48, 357-369.
- 21) Cengiz M, Hacıhanefioğlu S, Cenani A. Glutathione and related enzymes in rat liver treated with methyl nitrosourea. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*. 1996;7(4):341-5.
- 22) Helliwell B. Establishing the significance and optimal intake of dietary antioxidants: the biomarker concept. *Nutr Rev*. 1999, Apr;57(4):104-13.
- 23) 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.' *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 30(6):445- 600.
- 24) Lafuente A, Pujol F, Carretero P, Villa JP, Cuchi A, Human Glutathione s transferase mu (GST mu) deficiency as a marker for the susceptibility to bladder and larynx cancer among smokers. *Cancer Lett* 1993, Jan 15;68(1):49-54
- 25) Ketterer B, Harris J.M, Talaska G, Meyey D.J, Pemple S.E, Taylor J.B, Lang N.P, Kadlubar F.F. (1992). The Human Glutathione S-Transferase Supergene Family, Its Polymorphism, and Its Effects on Susceptibility to Lung Cancer. *Env Health Persp*, Vol.98, 87-94.
- 26) Commandeur J.N.M, Stijntjes G.J, Vermeulen N.P.E. (1995). Enzymes and transport systems involved in the formation and disposition of glutathione S-conjugates. *Phar Rev*, 47, 271-330.
- 27) Whalen R, Boyer T.D. (1998). Human Glutathione S-Transferases. *Sem Liver Dis*, Vol.18, No.4.

- 28) http://www.nature.com/onc/journal/v22/n47/fig_tab/1206940f1.html (Erişim Tarihi: 17.04.2018)
- 29) Whalen R, Boyer TD. Human Glutathione S-Transferases. *Sem Liver Dis* 1998;Vol.18, No.4
- 30) Pena-Ilopis S, Ferrando MD, Pena JB. Fish tolerance to organophosphate-induced oxidative stress is dependent on the glutathione metabolism and enhanced by N-Acetylcysteine. *Aquatic Toxicology* 2003; 65: 337- 360.
- 31) Griffith OW. Biologic and pharmacologic regulation of mammalian glutathione synthesis. *Free Radical Biology and Medicine* 1999; 27: 922-935.
- 32) Anderson ME. Glutathione: an overview of biosynthesis and modulation. *Chemico-Biological Interactions* 1998; 111-112: 1-14.
- 33) T.C.Sağlık Bakanlığı Haseki Eğitim Ve Araştırma Hastanesi I. Genel Cerrahi Kliniği Őef V. Prof. Dr. Mehmet Mihmanlı. Mide Kanserinde Totalsialik Asit, Glutatyon, Malondialdehit Seviyeleri ve Bu Parametrelerin Birbiriyle Ve Kanser Evresi İle İlişkisinin İncelenmesi. Uzmanlık Tezi, Dr. Yıldıray Dadük, İstanbul-2006.
- 34) Hanigan MH. γ -Glutamyl transpeptidase, a glutathionase: its expression and function in carcinogenesis. *Chemico-Biological Interactions* 1998; 111-112: 333-342.
- 35) Oksidatif Stres ve Antioksidanlar, Oksidatif Stres Analiz Parametreleri ve Oksantest ® Oksante Ar-Ge Laboratuvarı © 2012
- 36) Memişoğulları R. Diabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi* 2005; 3: 30-39.

- 37) Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya: Mimoza Yayınları, 1995.
- 38) T.C. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Ana Bilim Dalı VBY-YL-2012-0001 Karbon Tetraklorür İle Oluşturulan Karaciğer Hasarında Glutasyon (GSH) ve Glutasyon S-Transferaz (GST) Aktivitesi Üzerine N-Asetil Sisteinin Etkisi Hakan TEKELİ Danışman Prof. Dr. Ayşegül BİLDİK Aydın – 2012
- 39) Candas R, Sohal S, Radyuk SN, Klickhko VI, Orr WC. Molecularorganization of the glutathione reductase gene in Drosophila melanogaster. Archives of Biochemistry and Biophysics 1997; 339: 323-334.
- 40) Leblanc GA, Dauterman WC. Conjugation and elimination of toxicants, (E. Hodgson; R.C. Smart, Editörler). Introduction to biochemical toxicology. United States of America: Wiley and Sons Inc; 2001. 115-135.
- 41) T.C. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı Mesane Kanseri Hastalarda Metil Guanin DNA Metil Transferaz Aktivitesi Glutasyon S Transferaz ve Nitrik Oksitinin Önemi, Doktora Tezi M.Sc. Eyüp İlker Saygılı. İstanbul,2004
- 42) E Hana, S. Maclead, E. Vural, et. Al: Genetic Deletions of glutathione s transferases as a risk factor in squamous cell carcinoma of the larynx: a preliminary report. Am J Otolaryngol 22, 2001
- 43) G.M. Pacifici, G.N. Fracchia. Human Glutathione Transferase In Advances in Drug Metabolism in Man. Off. Pub of the Eur. Comm. Luxemburg, 1995.
- 44) Mannervik B., The isoenzymes of glutathione S-transferase. Adv. Enzymol. 57; 357-417, 1985.

- 45) Mannervik B., Awasthi Y.C., Board P.G., Hayes J.D., Di Ilio C., Ketterer B., et.al., Nomenclature for human glutathione transferases. *Biochem. J.* 282; 305-308, 1992.
- 46) Board P.G., Coggan M., Chelvanayagam G., Eastaugh S., Jermini L.S., Schulte G.K., et. al., Identification, characterization and crystal structure of omega class glutathione transferases. *J. Biol. Chem.* 275; 24798-24806, 2000.
- 47) John D, Hayes R C. Strange R C. Glutathione S-Transferase Polymorphisms and Their Biological Consequences. *Pharmacology* 2000;61:154-166.
- 48) Giuliano DP, Mango LA, SFR. Glutathione S-transferases: an overview in cancer research. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol* 2010; 6(2):153-170.
- 49) Strange R.C., Fyer A.A., Mattern B., Zhao L., Broome J., Campbell D., Jones P., Pastor I., Singh R., The glutathione S-transferase: comparison of isoenzymes expression in normal and astrocytoma brain. *Biochem. Biophys. Acta.* 1139; 222, 1992.
- 50) Takahashi Y., Champbell E.A., Hirada Y., Takayama T., Listowsky I., The basis of differentiating among the multiple human mu-glutathione S-transferase and molecular cloning of brain GST M5. *J. Biol. Chem.* 268; 8893, 1993.
- 51) Ginsberg G, Smolenski S, Hattis D, Guyton KZ, Johns D O, Sonawane B. Genetic Polymorphism in Glutathione Transferases (GST): Population Distribution of GSTM1, T1, and P1 Conjugating Activity, *J Toxicol Environ Health* 2009; 12(5), 389 - 439.
- 52) Coggan M., Whitbread A., Whittington A., Board P., Structure and organization of the human theta-class glutathione s-transferase and D-dopachrom tautomerase gene complex. *Biochem. J.* 334; 617, 1998.

- 53) Mainwaring G.W., et al., The distribution of theta class glutathione transferase in the liver and lung of Mouse rat and human. *Biochem. J.* 318; 297, 1996.
- 54) Board P.G., Coggan M., Chelvanayagam G., Easteal S., Jermin L.S., Schulte G.K., et al., Identification, characterization and crystal structure of omega class glutathione transferases. *J. Biol. Chem.* 275; 24798-24806, 2000.
- 55) A. Özaydın, Glutasyon S-Transferaz GST-M1 ve GST T-1 polimorfizmlerinin glutasyonla ilişkili detoksifikasyon sistemlerine etkisi, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, 2000.
- 56) Eaton D.L., Bammler T.K., Concise review of glutathione S-transferase and their significance to toxicology. *Toxicological Sciences.* 49; 156-164, 1999.
- 57) Blackburn A.C., Woollat E., Sutherland G.R., Board P.G., Characterization and chromosome location of the gene GSTZ1 encoding in human zeta class glutathione transferase and maleylacetoacetate isomerase. *Cytogenet. Cell Genet.* 83; 109-114, 1998.
- 58) Armstrong, R.N.: Structure, catalytic mechanism, and evolution of the glutathione transferases, *Chem. Res. Toxicol.*, 10(1), 2-18 (1997)
- 59) Sau A, Pellizzari Tregno F, Valentino F, Federici G, Caccuri AM. Glutathione transferases and development of new principles to overcome drug resistance. *Arc Biochem Biophys* 2010;500(2):116-22.
- 60) Aksoy Y. [The role of Glutathione in antioxidant mechanism]. *Turkiye Klinikleri J Med Sci* 2002;22(4):442-8.

- 61) Ogus H, Balk M, Aksoy Y, Muftuoglu M, Ozer N. The effects of oxidative stress on the redox system of the human erythrocyte. In: Özben T, ed. *Free Radicals, Oxidative Stress and Antioxidants: Pathological and Physiological Significance*. 1st ed. NATO ASI Series A, Life Sciences. New York: Plenum Press; 1998. p. 25-37.
- 62) Townsend DM, Tew KD. The role of glutathione-S-transferase in anti-cancer drug resistance. *Oncogene* 2003;22(47):7369-75.
- 63) Franco R, Cidlowski JA. Apoptosis and glutathione: beyond an antioxidant. *Cell Death Differ* 2009;16(10):1303-14.
- 64) Szakacs G, Paterson JK, Ludwig JA, Booth-Genthe C, Gottesman MM. Targeting multidrug resistance in cancer. *Nat Rev Drug Discovery* 2006;5(3):219-34.
- 65) Morrow CS, Peklak-Scott C, Bishwokarma B, Kute TE, Smitherman PK, Townsend AJ. Multidrug resistance protein 1 (MRP1, ABCC1) mediates resistance to mitoxantrone via glutathione-dependent drug efflux. *Mol Pharmacol* 2006;69(4):1499-505.
- 66) Adler, V., Yin, Z., Fuchs, S.Y., Benerza, M., Rosario, L., Tew, K.D., Pincus, M.R., Sardana, M., Henderson, C.J., Wolf, C.R., Davis, R.J., Ronai, Z.: Regulation of JNK signaling by GSTp, *EMBO J.*, 18, 1321-1334 (1999)
- 67) Townsend, D.M., Tew, K.D.: The role of glutathione-S-transferase in anti-cancer drug resistance, *Oncogene*, 22, 7369-7375 (2003)
- 68) *Glutathione S Transferase* Philip J. Sheratt and John D. Hayes, University Of Dundee, UK, *Enzyme Systems That Metabolise Drug and Other Xenobiotics*. Edited By Costas Ioannides, 2002.

- 69) Patchell RA. Overview of intracranial tumors. In: MSD Manual, Professional Version. 2012 (www.msmanuals.com/professional/neurologic-disorders/intracranial-and-spinal-tumors/overview-of-intracranial-tumors)
- 70) Bogdanovic L, Savic S, Basta-Jovanovic G, Radojevic-Skodrić S, Bogdanovic J. Death caused by undiagnosed primary intracranial neoplasmas - an autopsy study. *Rom J Leg Med* 2011;19: 107-110
- 71) Drewes C, Sagberg LM, Jakola AS, Gulati S, Solheim O. Morbidity after intracranial tumor surgery: sensitivity and specificity of retrospective review of medical records compared with patient-reported outcomes at 30 days. *J Neurosurg*. 2015;123(4):972-7.
- 72) Park IK, Hu K, Lee KW, Lee HD, Hong SW. Clinical review of 30 cases of intracranial tumors. *J Korean Neurosurg Soc* 1972;1: 45-50
- 73) Izci Y. Biomarkers for brain gliomas. In: Barh D, Carpi A, Verma M, Gunduz M (eds), *Cancer Biomarkers Minimal and Noninvasive Early Diagnosis and Prognosis*. CRC Press, Taylor and Francis Group, 2014, Boca Raton FL, USA, pp: 199-218
- 74) Backos DS, Franklin CC, Reigan P. The role of glutathione in brain tumor drug resistance. *Biochem Pharmacol*. 2012 Apr 15;83(8):1005-12.
- 75) Lo HW, Ali-Osman F. Genetic polymorphism and function of glutathione S-transferases in tumor drug resistance. *Curr Opin Pharmacol*. 2007; 7(4):367-74
- 76) Izci Y, Gurkanlar D, Timurkaynak E. Multicentric gliomas: Still remains a controversial issue. *Turk Neurosurg* 2005;15(2): 71-75

- 77) Akay KM, Baysefer A, Kayali H, Izci Y, Timurkaynak E. Glioblasoma multiforme: The comparison of radiological findings, surgery and prognosis. *Gulhane Med J* 2002; 44:142-148
- 78) Juillerat-Jeanneret L, Bernasconi CC, Bricod C, Gros S, Trepey S, Benhattar J, Janzer RC. Heterogeneity of human glioblastoma: glutathione-S-transferase and methylguanine-methyltransferase. *Cancer Invest.* 2008; 26(6):597-609
- 79) Nebert DW, Vasiliou V. Analysis of the glutathione S-transferase (GST) gene family. *Hum Genomics.* 2004;1(6): 460-4.
- 80) Sherratt PJ, Hayes JD. Glutathion-S-Transferases. In: Ionnides C (ed), *Enzyme Systems that Metabolise Drugs and other Xenobiotics.* John Wiley&Sons Ltd, West Sussex, UK, 2002, pp.319-352
- 81) Hashibe M, Brennan P, Strange RC, Bhisey R, Cascorbi I, Lazarus P, Oude Ophuis MB, Benhamou S, Foulkes WD, Katoh T, Coutelle C, Romkes M, Gaspari L, Taioli E, Boffetta P. Meta-and pooled analyses of GSTM1, GSTT1, GSTP1, and CYP1A1 genotypes and risk of head and neck cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003; 12(12):1509-1517
- 82) Stavrinou P, Mavrogiorgou MC, Polyzoidis K, Kreft-Kerekes V, Timmer M, Marselos M, Pappas P. Expression profile of genes related to drug metabolism in human brain tumors. *PLoS One.* 2015; 10(11):e0143285.
- 83) acikarsiv.ankara.edu.tr/browse/28200/tez.pdf
- 84) adudspace.adu.edu.tr:8080/jspui/bitstream/11607/1356/1/TEZ%20METİN.pdf
(Erişim Tarihi: 09.04.2018)
- 85) <https://acikders.ankara.edu.tr/mod/resource/view.php?id=51957> (Erişim Tarihi: 09.04.2018)

- 86) acikarsiv.ankara.edu.tr/browse/28200/tez.pdf (Erişim Tarihi: 09.04.2018)
- 87) Mussarat Wahid, İshrat Mhjabeen, Ruqia Mehmood Baig, Mahmood Akhtar Kayani: Expression of CYP1A1 and GSTP1 in Human Brain Tumor Tissues in Pakistan. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* .Vol14,2013;7187-7191.
- 88) Hatice Pınarbasi, Yavuz Silig, Mustafa Gurelik: Genetic Polymorphisms of GSTs and their association with primary brain tumor incidence. *Cancer Genetics and Cytogenetics* 156 (2005)144-149(ELSEVISER)
- 89) Sherratt PJ, Hayes JD. Glutathion-S-Transferases. In: Ionnides C (ed), *Enzyme Systems that Metabolise Drugs and other Xenobiotics*. John Wiley&Sons Ltd, West Sussex, UK, 2002, pp.319-352
- 90) Pearson WR, Vorachek WR, Xu SJ, Berger R, Hart I, Vannais D, Patterson D. Identification of class-mu glutathione transferase genes GSTM1-GSTM5 on human chromosome 1p13. *Am J Hum Genet*. 1993; 53(1):220-33.
- 91) Roodi N, Dupont WD, Moore JH, Parl FF. Association of homozygous wild-type glutathione S-transferase M1 genotype with increased breast cancer risk. *Cancer Res*. 2004; 64(4):1233-6.
- 92) Parl FF. Glutathione S-transferase genotypes and cancer risk. *Cancer Lett*. 2005; 221(2):123-9
- 93) Zimniak P, Singhal SS, Srivastava SK, Awasthi S, Sharma R, Hayden JB, Awasthi YC. Estimation of genomic complexity, heterologous expression, and enzymatic characterization of mouse glutathione S-transferase mGSTA4-4 (GST 5.7). *J Biol Chem*. 1994; 269(2):992-1000

- 94) Sørensen M, Autrup H, Tjønneland A, Overvad K, Raaschou-Nielsen O. Glutathione S-transferase T1 null-genotype is associated with an increased risk of lung cancer. *Int J Cancer*. 2004; 110(2):219-24.
- 95) Sørensen M, Raaschou-Nielsen O, Brasch-Andersen C, Tjønneland A, Overvad K, Autrup H. Interactions between GSTM1, GSTT1 and GSTP1 polymorphisms and smoking and intake of fruit and vegetables in relation to lung cancer. *Lung Cancer*. 2007; 55(2):137-44
- 96) Oguztüzün S, Aydın M, Demirag F, Yazici U, Ozhavzali M, Kiliç M, Işcan M. The expression of GST isoenzymes and p53 in non-small cell lung cancer. *Folia Histochem Cytobiol*. 2010; 48(1):122-7
- 97) Schnekenburger M, Karius T, Diederich M. Regulation of epigenetic traits of the glutathione S-transferase P1 gene: from detoxification toward cancer prevention and diagnosis. *Front Pharmacol*. 2014; 5: 170
- 98) Elempuru-Camiruaga J, Buxton N, Kandula V, Dias PS, Campbell D, McIntosh J, Broome J, Jones P, Inskip A, Aldersea J, Fryer AA, Strange RC. Susceptibility to astrocytoma and meningioma: influence of allelism at glutathione S-transferase (GSTT1 and GSTM1) and cytochrome P-450 (CYP2D6) loci. *Cancer Res* 1995; 55: 4237-9.
- 99) Geng P, Li J, Wang N, Ou J, Xie G, Sa R, Liu C, Xiang L, Li H, Liang H. Genetic contribution of polymorphisms in Glutathione S-Transferases to brain tumor risk. *Mol Neurobiol*. 2016;53(3):1730-1740
- 100) Pinarbasi H, Silig Y, Gurelik M. Genetic polymorphisms of GSTs and their association with primary brain tumor incidence. *Cancer Genet Cytogenet* 2005; 156(2):144-9

- 101) Ezer R, Alonso M, Pereira E, Kim M, Allen JC, Miller DC, Newcomb EW. Identification of glutathione S-transferase (GST) polymorphisms in brain tumors and association with susceptibility to pediatric astrocytomas. *J Neurooncol* 2002; 59: 123-34.
- 102) Custodio AC, Almeida LO, Pinto GR, Santos MJ, Almeida JR, Clara CA, Rey JA, Casartelli C. GSTP1 Ile105Val polymorphism in astrocytomas and glioblastomas. *Genet Mol Res* 2010; 9: 2328-34
- 103) Kilburn L, Okcu MF, Wang T, Cao Y, Renfro-Spelman A, Aldape KD, Gilbert MR, Bondy M. Glutathione S-transferase polymorphisms are associated with survival in anaplastic glioma patients. *Cancer*. 2010; 116(9):2242-9
- 104) Wahid M, Mahjabeen I, Baig RM, Kayani MA. Expression of CYP1A1 and GSTP1 in human brain tumor tissues in Pakistan. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2013;14(12):7187-91.
- 105) Schwartzbaum JA, Ahlbom A, Lönn S, Warholm M, Rannug A, Auvinen A, Christensen HC, Henriksson R, Johansen C, Lindholm C, Malmer B, Salminen T, Schoemaker MJ, Swerdlow AJ, Feyschtig M. An international case-control study of glutathione transferase and functionally related polymorphisms and risk of primary adult brain tumors. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2007; 16(3):559-65.
- 106) Lai R, Crevier L, Thabane L. Genetic polymorphisms of glutathione S-transferases and the risk of adult brain tumors: a meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2005;14(7):1784-90
- 107) Grant R, Ironside JW. Glutathione S-transferases and cytochrome P450 detoxifying enzyme distribution in human cerebral glioma. *J Neurooncol*. 1995;25(1):1-7.

- 108) Hara A, Yamada H, Sakai N, Hirayama H, Tanaka T, Mori H. Immunohistochemical demonstration of the placental form of glutathione S-transferase, a detoxifying enzyme in human gliomas. *Cancer*. 1990; 66(12):2563-8.
- 109) Perrett CW, Clayton RN, Pistorello M, Boscaro M, Scanarini M, Bates AS, Buckley N, Jones P, Fryer AA, Gilford J, Alldersea J, Strange RC. GSTM1 and CYP2D6 genotype frequencies in patients with pituitary tumours: effects on P53, ras and gsp. *Carcinogenesis* 1995; 16(7):1643-5.
- 110) Fryer AA, Zhao L, Alldersea J, Boggild MD, Perrett CW, Clayton RN, Jones PW, Strange RC. The glutathione S-transferases: polymerase chain reaction studies on the frequency of the GSTM1 0 genotype in patients with pituitary adenomas. *Carcinogenesis*. 1993; 14(4):563-6.
- 111) Yuan Y, Qian ZR, Sano T, Asa SL, Yamada S, Kagawa N, Kudo E. Reduction of GSTP1 expression by DNA methylation correlates with clinicopathological features in pituitary adenomas. *Mod Pathol*. 2008; 21(7):856-65.