



**T.C.**  
**KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BÖBREK KANSERİNDE APOPTOZUN VE GST  
İZOZİMLERİNİN EKSPRESYONLARININ ROLÜ**

**BALGÜZAR ESRA BEDİR**

**BIYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**  
**Prof. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN**

**KIRIKKALE-2022**





**T.C.**

**KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BÖBREK KANSERİNDE APOPTOZUN VE GST  
İZOZİMLERİNİN EKSPRESYONLARININ ROLÜ**

**BALGÜZAR ESRA BEDİR**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**  
**Prof. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN**

**KIRIKKALE-2022**

Balgüzar Esra BEDİR tarafından hazırlanan “BÖBREK KANSERİNDE APOPTOZUN VE GST İZOZİMLERİNİN EKSPRESYONLARININ ROLÜ” adlı tez çalışması, aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN

Biyoloji Anabilim Dalı, Kırıkkale Üniversitesi

İmza.....

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

Başkan: Prof. Dr. Tülay ÇOBAN

Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi

İmza.....

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

Üye: Doç. Dr. Tarık DANIŞMAN

Biyoloji Anabilim Dalı, Kırıkkale Üniversitesi

İmza.....

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

Tez Savunma Tarihi: 15/ 02/ 2022

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

Prof. Dr. Recep ÇALIN

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## ETİK BEYANI

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

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

İmza

Balgüzar Esra BEDİR

15/ 02/ 2022

# ÖZET

## BÖBREK KANSERİNDE APOPTOZUN VE GST İZOZİMLERİNİN EKSPRESYONLARININ ROLÜ

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN

ŞUBAT 2022, 84 sayfa

Böbrek kanseri en ölümcül ürolojik kanserlerden biri olup hem radyoterapi hem de kemoterapiye oldukça dirençlidir. Çoğu hasta tanı anında böbreğin ötesine metastaz geliştirdiğinden, hayatta kalma oranları çok düşüktür. Tütün kullanımı, obezite ve hipertansiyon böbrek kanseri için risk faktörleridir. Glutasyon S-transferazlar (GST'ler), hücreyi kimyasal kanserojenlere karşı koruyan detoksifiye edici enzimlerin bir ailesidir. GST'ler, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu, anti-kanser ilaçlarına karşı ilaç direnci ve tümör oluşumu gibi birçok moleküler yolakta yer alır. GSTpi (GSTP) ve GSTsigma (GSTS) bu enzim sisteminin önemli üyeleridir. Bu çalışmada, 38 böbrek tümörü ve normal dokuda GSTS, GSTP izozimleri ve p38 protein ekspresyonlarını incelemeyi amaçladık. Tümör ve normal dokuların GSTS, GSTP ve p38 ekspresyon düzeyleri immünohistokimyasal yöntemle değerlendirilmiş ve Mann Whitney-U testi ile karşılaştırılmıştır. Klinik ve demografik veriler ile ifade düzeyleri arasındaki ilişkiler Mann Whitney-U ve Kruskal Wallis testleri ile değerlendirildi. Korelasyon analizleri Spearmanrank korelasyon testi kullanılarak yapıldı. GSTS ve GSTP ekspresyonu açısından böbrek tümörü ile normal dokular arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ( $p<0.05$ ). Tümör dokularında p38 ekspresyonu normal dokulardan yüksek olmakla birlikte, gruplar arasında p38 ekspresyonu bakımından anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0.05$ ). Tümör dokularında, GSTS ve p38 ekspresyonları arasında pozitif yönlü ve anlamlı bir korelasyon bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Hastaların yaş artışı ile GSTS, GSTP ve p38 ekspresyonları arasında ise anlamlı bir korelasyon bulunmamıştır ( $p>0.05$ ). Sonuç olarak, tümör dokuları normal dokulara göre yüksek düzeyde GSTS ve p38 ekspresyonu göstermiştir. Böbrek tümörü dokularında GSTS ve p38'in daha yüksek ekspresyon göstermesi, hastalığın patogenezi ve progresyonunda bu parametrelerin önemli rolü olabileceğini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Böbrek kanseri, glutasyon-S-transferaz, p38, immunohistokimya

# ABSTRACT

## ROLE OF APOPTOSIS AND GST ISOENZYMES EXPRESSIONS IN KIDNEY CANCER

Kırıkkale University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology, M.Sc. Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Serpil Oğuztüzün

FEBRUARY 2022, 84 pages

Kidney cancer is one of the deadliest urological cancers and is highly resistant to both radiotherapy and chemotherapy. Survival rates are very low, as most patients develop metastases beyond the kidney at the time of diagnosis. Tobacco use, obesity and hypertension are risk factors for kidney cancer. Glutathione S-transferases (GSTs) are a family of detoxifying enzymes that protect cells against chemical carcinogens. GSTs are involved in many molecular pathways such as detoxification of xenobiotics, drug resistance to anti-cancer drugs, and tumorigenesis. GSTpi (GSTP) and GSTsigma (GSTS) are important members of this enzyme system. In this study, we aimed to examine the expressions of GSTS, GSTP isozymes and p38 protein in 38 kidney tumor and normal tissues. GSTS, GSTP and p38 expression levels of tumor and normal tissues were evaluated by immunohistochemical method and compared with Mann-Whitney-U test. The relationships between clinical and demographic data and expression levels were evaluated with the Mann-Whitney-U and Kruskal-Wallis tests. Correlation analyses were performed by using the Spearman rank correlation test. Statistically significant differences were found between kidney tumor and normal tissues in terms of GSTS and GSTP expression ( $p < 0.05$ ). Although p38 expression was higher in tumor tissues than in normal tissues, there was no significant difference in p38 expression between groups ( $p > 0.05$ ). A positive and significant correlation was found between GSTS and p38 expressions in tumor tissues ( $p < 0.05$ ). There was no significant correlation between the age of the patients and GSTS, GSTP and p38 expressions ( $p > 0.05$ ). In conclusion, tumor tissues showed higher levels of GSTS and p38 expression than normal tissues. Higher expression of GSTS and p38 in kidney tumor tissues indicates that these parameters may have an important role in the pathogenesis and progression of the disease.

**Keywords:** Kidney cancer, Glutathione-S-transferase, p38, immunohistochemistry

## TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanmasında tecrübelerinden yararlandığım, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle bana ışık tutan değerli hocam Prof. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN'e, çalışmamın deneysel kısmında doku kazanımı ve immünohistokimyasal boyama sonuçlarının değerlendirilmesinde bana yardımcı olan Prof. Dr. Gülçin GÜLER ŞİMŞEK'e teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmam boyunca sağladıkları imkânlardan dolayı Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Laboratuvarları Müdürlüğü'ne ve çalışmamın deney aşamasında yardımını esirgemeyen Pınar KAYGIN'a teşekkürlerimi sunarım. Tezimin istatistiksel analizlerinde bilgi ve becerileri ile bana yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Tülay ÇOBAN ve Sezen SARIALTIN'a teşekkürlerimi sunarım. Tezimin hazırlanması aşamasında tecrübelerini benimle paylaşan ablam Suzan Duygu BEDİR ERİŞTİ'ye teşekkürü bir borç bilirim. Daima yanımda olan ve beni her zaman destekleyen çok değerli eşime, çalışmalarım sırasında sevgisinden ilham aldığım biricik kızım Zeynep Eylül'e ve eğitim-öğretim hayatım boyunca her anlamda fedakârlık yapan annem, babam ve kardeşlerime teşekkürlerimi bir borç bilirim.



# İÇİNDEKİLER

	Sayfa
<b>ÖZET</b> .....	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>v</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>vi</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>vii</b>
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	<b>x</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>xi</b>
<b>TABLolar DİZİNİ</b> .....	<b>xii</b>
<b>GRAFİKLER DİZİNİ</b> .....	<b>xiii</b>
<b>KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	<b>xiv</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.1. Böbrek Anatomisi ve Fizyolojisi.....	2
1.2. Böbrek Kanseri Etyolojisi ve Epidemiyolojisi.....	9
1.3. Böbrek Hücreli Kanserin Sınıflandırılması.....	12
1.3.1. Berrak Hücreli Böbrek Hücreli Kanseri .....	12
1.3.2. Multiloküler Berrak Hücreli Böbrek Hücreli Kanseri .....	13
1.3.3. Papiller Böbrek Hücreli Kanseri.....	13
1.3.4. Kromofob Böbrek Hücreli Kanseri .....	14
1.4. Böbrek Kanseri Evrelendirilmesi .....	14
1.5. Nükleer Derecelendirme .....	15
1.6. Prognostik Faktörler.....	16
1.7. Ksenobiyotik Metabolizması.....	19
1.7.1. FAZ I ve FAZ II Reaksiyonları.....	20
1.8. Glutasyon ve Glutasyon-S-Transferazlar .....	21
1.8.1. Glutasyon-S-Transferazların Sınıflandırılması.....	23

1.8.1.1. Pi Sınıfı Glutatyon-S-Transferazlar.....	24
1.8.1.2. Alpha Sınıfı Glutatyon-S-Transferazlar .....	25
1.8.1.3. Teta Sınıfı Glutatyon-S-Transferazlar .....	25
1.8.1.4. Mu Sınıfı Glutatyon-S-Transferazlar.....	25
1.8.2. Glutatyon-S-Transferazların Biyolojik Rolü.....	25
1.8.3. Glutatyon-S-Transferazlar ve Böbrek Kanseri.....	26
1.8.4. P38'in Apoptozla İlişkisi.....	26
1.9. Çalışmanın Amacı.....	27
<b>2. MATERYAL VE METOD.....</b>	<b>29</b>
2.1. Materyal .....	29
2.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	29
2.1.1.1. Solüsyonların Hazırlanışı .....	29
2.1.2. Kullanılan Cihazlar.....	30
2.2. Kullanılan Yöntemler.....	30
2.2.1. Materyal Kazanımı .....	30
2.2.2. İmmünohistokimya Prosedürü [146].....	32
2.2.3. İstatistiksel Analiz .....	33
<b>3. ARAŞTIRMA BULGULARI.....</b>	<b>35</b>
3.1. P38 ve GST İzozimlerinin Normal ve Kanserli Böbrek Dokularındaki Dağılımı.....	35
3.1.1. GST İzozimlerinin Dağılımları.....	36
3.1.2. P38 Doku Dağılımı.....	39
3.2. P38 ve GST İzozimlerinin Klinik Verilerle Karşılaştırılması.....	41
3.3. P38 ve GST İzozimlerinin Demografik Verilerle Karşılaştırılması.....	43
<b>4. TARTIŞMA VE SONUÇ .....</b>	<b>47</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>49</b>

**ÖZGEÇMİŞ..... 65**

**EKLER..... 66**

EK-1: Etik Kurul Onay Belgesi ..... 66



# ÇİZELGELER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
<b>Çizelge 1.1.</b> FAZ I reaksiyon tipleri ve başlıca enzimler .....	21
<b>Çizelge 1.2.</b> FAZ II reaksiyon tipleri ve başlıca enzimler .....	21
<b>Çizelge 1.3.</b> İnsan GST İzozimleri Gen Ailesi .....	23
<b>Çizelge 2.1.</b> Hastalara ait klinik ve demografik veriler .....	31



# ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
<b>Şekil 1.1.</b> Böbreğin lokalizasyonu.....	2
<b>Şekil 1.2.</b> Böbreğin fonksiyonel bölümleri.....	3
<b>Şekil 1.3.</b> Ksenobiyotikmekanizması.....	20
<b>Şekil 1.4.</b> Glutatyonun oluşum mekanizması.....	22
<b>Şekil 3.1.</b> Böbrek tümör dokularında immünohistokimyasalGSTSi proteini.....	37
<b>Şekil 3.2.</b> Böbrek normal dokularında immünohistokimyasalGSTSi proteini.....	38
<b>Şekil 3.3.</b> Böbrek tümör dokularında immünohistokimyasalGSTPi proteini.....	39
<b>Şekil 3.4.</b> Böbrek normal dokularında immünohistokimyasalGSTPi proteini.....	39
<b>Şekil 3.5.</b> Böbrek tümör dokularında immünohistokimyasal p38 proteini.....	40
<b>Şekil 3.6.</b> Böbrek normal dokularında immünohistokimyasal p38 proteini.....	41

# TABLÖLAR DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
<b>Tablo 1.1.</b> Böbrek tümörlerinin sınıflandırılması .....	12
<b>Tablo 1.2.</b> Böbrek kanserlerinde TNM sınıflaması .....	15
<b>Tablo 1.3.</b> Anatomik evre/prognostik gruplar .....	15
<b>Tablo 1.4.</b> Fuhrman Nükleer Grade'leme Sistemi.....	16
<b>Tablo 3.1.</b> Tümör ve normal dokuların GST-S, GST-P ve p38 ekspresyonları arasındaki korelasyon analizleri.....	36
<b>Tablo 3.2.</b> Tümör ve normal dokuların GST-S ekspresyon düzeyleri.....	37
<b>Tablo 3.3.</b> Tümör ve normal dokuların GST-P ekspresyon düzeyleri.....	38
<b>Tablo 3.4.</b> Tümör ve normal dokuların p38 ekspresyon düzeyleri.....	40
<b>Tablo 3.5.</b> Hastaların klinik verileri.....	42
<b>Tablo 3.6.</b> Tümör dokularının özellikleri ile GST-S, GST-P ve p38 ekspresyonları arasındaki korelasyon analizleri.....	43
<b>Tablo 3.7.</b> Hastaların demografik verileri .....	43

## GRAFİKLER DİZİNİ

	Sayfa
<b>Grafik 3.1.</b> Tümör ve normal dokuların GSTS, GSTP ve p38 ekspresyonları.....	35
<b>Grafik 3.2.</b> Tümör ve normal dokuların cinsiyete göre GSTS, GSTP ve p38 ekspresyonları.....	44
<b>Grafik 3.3.</b> Sigara kullanımına göre tümör ve normal dokuların GSTS, GSTP ve p38 ekspresyonları .....	44
<b>Grafik 3.4.</b> Alkol kullanımına göre tümör ve normal dokuların GSTS, GSTP ve p38 ekspresyonları .....	45

## KISALTMALAR DİZİNİ

<b>A I-II</b>	Angiotensin I-II
<b>ACE</b>	Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim
<b>ADH</b>	Antidiüretik Hormon
<b>AJCC</b>	Amerikan Kanser Komitesi
<b>ATPaz</b>	AdenozinTrifosfataz
<b>BHBHK</b>	Berrak Hücreli Böbrek Hücreli Karsinom
<b>BCL-2</b>	Apoptozisiinhibe edici onkoprotein
<b>BHK</b>	Böbrek Hücreli Karsinom
<b>BT</b>	Bilgisayarlı Tomografi
<b>CRP</b>	C-Reaktif Protein
<b>CYP</b>	Sitokrom P450
<b>DNA</b>	Deoksiriboz Nükleik Asit
<b>EM</b>	Elektron Mikroskop
<b>GSH</b>	Glutasyon
<b>GST</b>	Glutasyon S-Transferaz
<b>GST-A-M-P-S-T</b>	Glutasyon S-Transferaz Alpha-Mü-Pi-Sigma-Teta
<b>IHC</b>	İmmünohistokimya
<b>IL-1</b>	Interleukin-1
<b>K</b>	Potasyum
<b>KrBHK</b>	Kromofob Böbrek Hücreli Karsinom
<b>LDH</b>	Laktat dehidrogenaz
<b>MRG</b>	Manyetik Rezonans Görüntüleme
<b>Na</b>	Sodyum
<b>P38</b>	Tümör Süpressör Geni
<b>P53</b>	Tümör Protein 53
<b>PBHK</b>	Papiller Böbrek Hücreli Karsinom
<b>PCNA</b>	Proliferating Cell NuclearAntigen
<b>RCC</b>	Renal Cell Carcinoma
<b>RHK</b>	Renal Hücreli Karsinom
<b>RV</b>	RenalVen
<b>TNM</b>	T-Primer tümör, N-Bölgesel lenf nodu, M-Uzak metastaz
<b>UICC</b>	Uluslararası Kanser Mücadele Birliği
<b>VEGF</b>	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
<b>VHL</b>	Von Hippel-Lindau
<b>VKİ</b>	Vücut Kitle İndeksi
<b>DSÖ –WHO</b>	Dünya Sağlık Örgütü



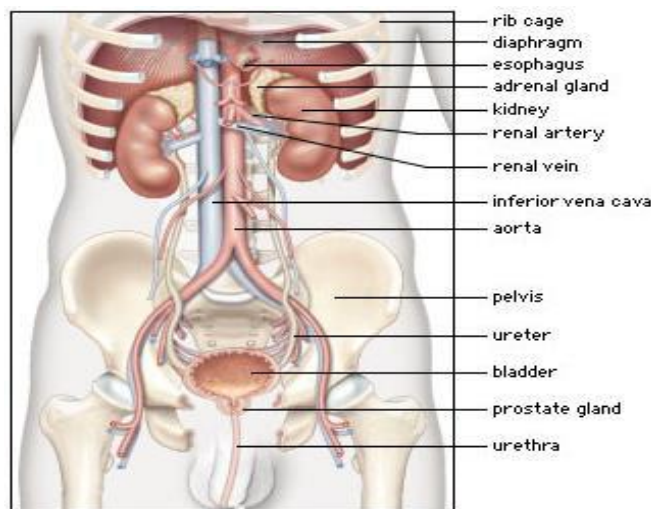
# 1. GİRİŞ

Renal hücreli karsinom (RHK), yetişkinlerdeki tüm malign tümörlerin %2- 3'ünü ve malignrenal tümörlerin %85-90'ını oluşturur [1]. Ürogenital kanserler içerisinde görülme sıklığı prostat ve mesane kanserinden sonra 3. sırada yer almaktadır. Erkek/kadın oranı yaklaşık 3/2'dir [1, 2]. Yıllar içerisinde RHK insidansı giderek artış göstermektedir. Bu durum ultrasonografi (USG) ve bilgisayarlı tomografi (BT) gibi görüntüleme yöntemlerinin giderek artan kullanımına bağlı olarak rastlantısal tanı konan RHK olgularının sayısının artışına bağlanmaktadır [3]. RHK, klinik sonuç ve biyolojik davranışlarında geniş varyasyonlar göstermektedir. Günümüzde RHK'li hastalar için en önemli prognostik parametrelerin tümör evresi ve nükleer grade olduğu düşünülmektedir. Fakat çoğu olguda bu parametreler, tümörlerin klinik davranışını saptamak için yetersizdir [1]. Fuhrman nükleer derecelendirme sistemi prognozda bağımsız bir belirleyici rol üstlenerek böbrek hücreli kanser için en yaygın kullanılan sistem haline gelmiştir. Sağ kalım açısından hastaları iyi prognozlu grup (Derece 1), kötü prognozlu grup (Derece 4) ve bu iki grup arasında bir prognoza sahip grup (Derece 2 ve 3) olarak ayırmıştır [4]. Böbrek kanserinde, lokalize hastalığın cerrahi olarak çıkarılması hariç etkili bir tedavi yönteminin olmayışı, hastalığın gidişini saptayabilecek faktörlerin belirlenmesini önemli kılmaktadır. Renal Hücreli Karsinom olgularında sık gözlenmeyen spontan regresyon, metastatik hastalık varlığında uzun süre sağkalım ve lokalize hastalıkta cerrahi tedavi sonrası geç rekürrens gibi olağan dışı klinik davranışların gözlenmesi hastalığın prognozunu önceden tahmin edilemez bir hale getirmektedir. Bu nedenle, tümörün davranışını değerlendirmek için farklı prognostik faktörlerin araştırılması bir zorunluluk haline gelmektedir. Bundan dolayı çeşitli yeni belirleyici parametrelerin geliştirilmesine odaklanılmıştır.

Bu çalışmada böbrek kanserinin oluşmasında ve gidişatında büyük bir rol oynayan p38, GSTP ve GSTS ekspresyonları immünohistokimyasal yöntem ile çalışılmıştır. P38, GSTP ve GSTS' nin normal ve tümör hücrelerindeki dağılımları tespit edilmiş ve kanser biyolojisindeki rolü irdelenmiştir. Ayrıca p38, GSTP ve GSTS' nin normal ve tümör hücrelerindeki dağılımlarıyla hastaya ait klinik parametreleri (yaş, cinsiyet, sigara içimi, alkol durumu, mesleki maruziyet, tümör evre ve derecesi) istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır.

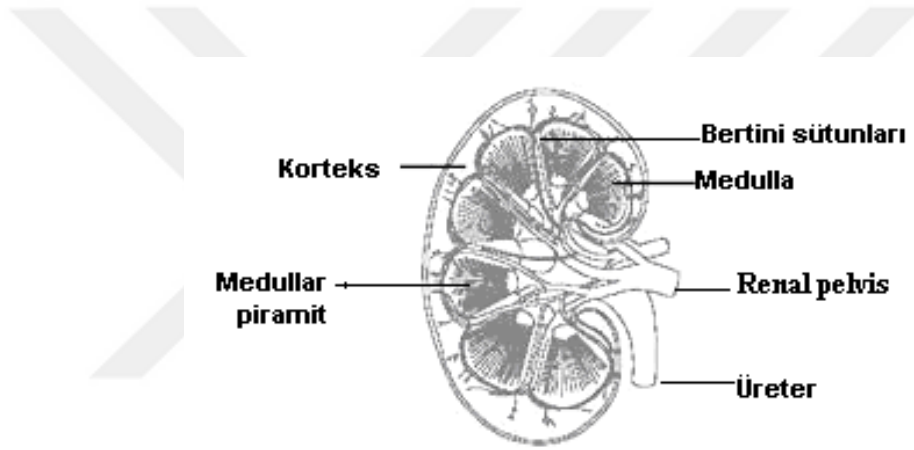
## 1.1. Böbrek Anatomisi ve Fizyolojisi

Böbrekler 11-12 cm uzunluğa, 5-6 cm genişliğe ve 3 cm kalınlığa sahip retroperitoneal olarak yerleşmiş olan ve yapısal olarak fasulye şeklinde organlardır. Onikincitorakal ve ilk üç lombervertebra düzeyinde, vertebraların sağında ve solunda yer almaktadırlar (Şekil 1.1). Üst pollelerin konumu alt pole kıyasla 1cm daha yakın biçimdedir. Böbreklerin karaciğere dayalı konumlanması açısından bakıldığında sağ böbreğin sol böbrekten bir miktar daha aşağı konumdadır. İç kenarları yapısal olarak konkav niteli göstermekte ve hilus içermektedir. Böbrekleri çevreleyen yapılar içten dışa doğru şu şekildedir: Fibröz kapsül en içte, onun dışında adipoz kapsül; en dışta da gerota kapsülü (gerotafasyası) yer alır. İnce fibröz kapsül böbrek yüzeyini çevrelemektedir. Fibröz kapsülün dışında kalın bir yapıda adpoz kapsül yer alır ve aynı zamanda perinal yağ dokusu olarak isimlendirilir. Bu yağ dokusu, yapısal olarak diğer çevremusküler yapılara göre direk grafidedir. Aynı zamanda yağ dokusu nispeten radyolüsent, bilgisayarlı tomografide (BT) ise hipodensolarak görünmektedir. Yağ dokusunun dışında renalfasya (gerotafasyası) vardır. Bu kısım böbreküstü bezini içine almaktadır. Gerotafasya, anterior ve posteriorrenal faysa adlı iki bölümden oluşur. Aynı zamanda perirenal ve pararenal yağ dokularını da ayırmaktadır. Bu fasyalar BT’de hiperdens çizgi şeklinde izlenirler. Anterior ve posterior renal fasyaların lateralde birleşmesi sonucu “laterokonafasya” oluşur. Böbrekler karın arka duvarına “korpuspararenalis” adlı yağ dokusu aracılığıyla tutunurlar [5].



Şekil 1.1. Böbreğin lokalizasyonu [5].

Böbreğin iki bölümü vardır; dıştaki bölümüne “korteks”, içteki bölümüne ise “medulla” adı verilir. Böbrek medulasının yapısı 10-18 konik ya da piramidal şekilli yapının bir araya gelmesiyle oluşur. Bu piramidal yapıya “medullar piramitler” denilmektedir. Bu piramitlerin tabı ile korteks arasında birbirine paralel tubül demetleri yer alır. Tubül demetlerinin diğer adı da “medullarışınlar”dır. Bir medullar ışın, bir ya da daha çok sayıda toplayıcı kanaldan ve böbreğin fonksiyon gören en küçük birimi olan birkaç nefron grubunun düz kısımlarından oluşmaktadır. Medullar piramidlerin çevresini kortikal doku sarmaktadır. Bu kortikal dokuya “renal lob” adı verilir. Her medullar ışın, konik şekilli renal lobülün merkezini oluşturur. Kortikal doku medullar piramidlerin arasında yer alır ve bu yapısal dizilim “Bertini sütunları”nı oluşturur [6]. (Şekil 1.2)



Şekil 1.2. Böbreğin fonksiyonel bölümleri

### **Nefron**

Böbreğin en küçük anatomik ve fonksiyonel birimidir. Her böbrek 1-4 milyon nefron içermekte ve tüm nefronlar idrar oluşumuna katılmaktadır. Nefron; kan sıvısının süzülmesi için glomerül ile süzülen sıvının böbreğin pelvisine akarken idrar niteliklerini kazandığı uzun bir tubülden (proksimal kıvrımlı tubül, distal kıvrımlı tubül, Henle kangalının ince ve kalın uzantıları ve toplayıcı kanallar) oluşur. Başlıca görevi, kan plazmasını böbrekten geçişi esnasında istenmeyen maddelerden (üre, kreatinin, ürik asit, urat gibi metabolizma artıkları) arındırmaktır [6].

### **Glomerül**

Yaklaşık 150-250 µ çapındaki glomerül (böbrek cisimciği), Bowman kapsülü olarak tanımlanan iki tabakalı epitelyal bir kapsül ile sarılmıştır. Kapsül iç tabakası (visseral tabaka) glomerülün kapillerlerini sarar. Kapsül dış tabakası (pariyetal tabaka)

glomerülün en dış sınırını oluşturmaktadır. Bowman kapsülünün iki tabakası arasında, kapiller duvarından ve visseral tabakadan süzülen sıvının toplandığı idrar boşluğu (kapsül boşluğu) bulunur. Temel fonksiyonu; kandan birtakım madde artıklarını ve birtakım maddelerden de vücut yapısı için gereksiz ya da fazla olanlarını temizlemektir. Ayrıca, sodyum ve üre gibi moleküller ile birlikte suyu süzmektir. Süzme özelliği kapillerler ve bir takım faktörlere bağlıdır. Bu faktörlerden hidrostatik ve onkotik basınç, filtrasyon yüzeyindeki kan akımı ve permeabilite değişiklikleri önemlidir. Böbrek kapillerleri otonomik hormonlar ve sinirlerden etkilenebilir. Bunlar diğer kapillerlerden farklı şekilde, distal tubülüsteki sodyum miktarındaki değişikliklere bağlı olarak glomerül içinde üretilen A II mezangiyal hücrelerde ve efferent arteriolde kasılma yaparak glomerül kan akımı, filtrasyon yüzeyi ve hidrostatik basınç değişikliklerinin ayarlanmasında rol oynarlar.

Glomerül temel olarak epitel, endotel ve mezangiyal olarak adlandırılan üç ana hücre tipinden oluşur. Hücreler ise glomerül bazal membrani ve mezangiyal matriks adlı iki bölgeden oluşur. Bu bölgelerin dışında filtrasyon fonksiyonu vardır. İç tabakadaki hücrelerin gövdelerinde primer sitoplazmik uzantılar bulunur ve bu hücreler “podosit” adını alır. Her bir primer sitoplazmik uzantı “pedisel” adlı çok miktarda sekonder uzantılar oluşturur.

Glomerül kapillerlerinde yer alan endotel hücreleri ile bu kapillerin dış yüzeyini örten podositler arasında kalın (~0,1µm) bir bazal membran yer alır. Söz konusu tabaka kapillerlerdeki kan ile idrar boşluğunu birbirinden ayıran filtrasyon engeli oluşturmaktadır. Filtrasyon engeli bazal membran kapillerin ve podositin oluşturduğu bazal laminaların kaynaşması ile oluşmuştur. EM ile, ortada laminadensa yani elektron-yoğun bir tabaka ile her iki yanda laminarara yani daha fazla elektron-geçirgen bir tabaka gözlemlenir. Laminadensa, heparan sülfat içeren bir matriks içinde tip IV kollagen ve lamininin oluşturduğu ağ şeklinde bir yapıya sahiptir. Laminar ara ise bunları hücelere bağlayan fibronektin içeren bir yapıdır. Glomerül bazal membrani; laminadensanın fiziksel yapıda bir filtre olarak görev yaptığı ve laminar aradaki anyonik bölgelerin elektriksel olarak engel oluşturduğu seçici makromoleküler bir filtredir. 10 nm’den büyük partiküller bazal olan laminadan geçemez. Moleküler ağırlığı albuminin moleküler ağırlığından [69.000MW) daha fazla olan negatif yüklü proteinler ise membrandan eser miktarda geçer. DM ve glomerülonefrit gibi hastalıklarda glomerüller filtre proteinlere karşı daha geçirgen

hale gelir, bunun ardından protein idrara geçer (proteinüri) [6, 7, 8, 9, 10]. Glomerül kapillerlerinin endotel hücreleri, kanın akıcılığını sağlayarak doku ile kanın doğrudan temasını sağlayan ilk hücrelerdir. Oksijen ve karbondioksidin dokuya transferi, ACE yapımı gibi görevleri bulunur [8]. Glomerül kapillerlerinde iki veya daha fazla kapileri ortak biçimde saran bazal laminanın bulunduğu bölgelerde, kapiller duvarına tutunan mezangiyal hücreler (kapillerler arası hücreler) yer alır ve sitoplazmik uzantıları kapiler lümenine ulaşacak biçimde endotel hücrelerinin arasına sokulurlar [7].

Mezangiyal hücreler, hem kendilerini sarmış olan hem de kapiler duvarına destek olan amorf matriksi sentezler. Mezangiyum yapısında; fagositik ve fagositik olmayan iki tip hücre yer alır. Fagositik olmayan hücreler daha fazla olup A II veya vazopressin uyarısı ile kasılma yaparlar. Mezangiyumda bulunan fagositik fonksiyona sahip ikinci tip hücreler makrofajlardır. Matriks yapısında; tip 4 ve 5 kollagen, fibronektin ve laminin gibi glikoproteinler bulunur. Büyük moleküller, antijen-antikor kompleksleri gibi moleküller endotel aralıklardan mezangiyal matrikse geçerler. Buradan ya tekrar kana geçerler ya da fagositler tarafından parçalanırlar veya glomerül kapillerlere doğru ilerlerler.

Mezangiyal matriks ve mezangiyal hücreler, glomerül kapillerlerin merkezini işgal ederler. Fagositlerden salgılanan IL-1 gibi faktörler hem matriksin hem de mezangiyal hücrelerin artışına yol açar. Bu artış glomerül kapillerlerini sıkıştırarak daralmalarına ve kan akımının azalarak, glomerül kapillerlerinde skleroza yol açar. DM ve amiloidoz da mezangiyumda madde birikimine ve mezangiyal genişlemeye, sonuçta da glomerül kapillerlerinin sklerozuna yol açar. Glomerül fonksiyonunun devamında mezangiyum'un önemli işlevi bulunur [6,7].

Glomerüldeki 3 hücre tipinden herhangi birinin eksikliği glomerulo skleroz gibi sonuçlara yol açar. Nefrotik sendromun birçok çeşidinde glomerulo skleroz gelişimine podosit sayısındaki azalma neden olmaktadır [11,12]. Glomerül hastalıklarının çoğunda hastaların idrarlarında podositler bulunmuştur [13].

### **Böbrek Tubülleri**

**a-ProksimalTübül:** Hücreleri kübik olup mikrovillüslere sahiptir. Bu villüsler tubülün emilim yüzeyini artırır. Geri emilimin %75-85'i proksimal tübül tarafından gerçekleştirilir. Metabolik olarak artık olarak tanımlanan üre ve ürik

asitler, proksimal kıvrıntılı tubüllerde kalmakta ve vücuttan idrarla atılmaktadır. Bu hücrelerde çok miktarda ribozom ve mitokondri vardır ve bunlar hücrenin metabolik aktivitesi ile yakından ilgilidir.

**b-DistalTübül:** Distal tübülün çok büyük bir çapı vardır. Distal tübülün duvarı ise tek katlı izoprizmatik bir epitel ile çevrelenmiştir. Ortasında ise düzenli ve geniş bir lümeni yer almaktadır. Proksimal tübülden daha kısa olduğundan kesitlerde daha az sayıda görülmektedir. Sodyum iyonlarını glomerüler filtrattan interstisyum içine aktif olarak geri alırlar. Sodyum geri emilimi ve potasyum sekresyonu, adrenal korteksten salgılanan aldosteron ile kontrol edilir. Antidiüretik hormon (ADH) distal tübülün suya karşı geçirgenliğini arttırarak buradan suyun emilmesini sağlar.

**c-Henle Kangalı:** Proksimal ve distaltübüller arasında yer almaktadır. Yapısında inen (ince) ve çıkan (kalın) kısımlar yer almaktadır. U şekline benzeyen oldukça büyük bir bölümü, medullada bulunan ve medulla hipertonesinin (zıt yönlü akım mekanizması) oluşumunda rolü olan bir nefronparçasıdır. Kangalın inen ince kısmının suya geçirgendir. Henle kulpunun çıkan kısmından hem sodyum hem klorün aktif olarak peritübüler, interstisyel sıvıya taşınmaktadır. Ayrıca söz konusu çıkan kısmın suya karşı geçirgen olmaması peritübüler medulla bölümünün hipertonic, kulpun içindeki sıvının ise hipotonik olmasına yol açarak idrar yoğunluğunu ayarlar. Potasyumun bir kısmı Henle'nin çıkan kısmında emilmektedir.

**d-ToplayıcıTübüller ve Kanallar:** Distal kıvrımlı yapıdaki tübüllerden geçen idrar düz toplayıcı kanalları oluşturan toplayıcı kanallara birleştirici bir parça (connectingsegment) aracılığında boşalır. Henle kangalının çıkan kolu, proksimal tübülün düz ve kıvrıntılı parçaları ile birleştirici kısmın histolojik yapıları benzer olmakla bazı farklılıklar gösterirler. Toplayıcı kanalların çapları büyük olup geniş bir lümenine sahiptir. Duvarları tek katlı, başlangıç kısımları izoprizmatik sonraları ise prizmatik epitelten oluşmuştur. Toplayıcı tübüller ve korteksteki toplayıcı kanallarda iki tip interkalar hücre (A ve B tipi) bulunur. Bu kanallardaki en temel olay, ADH hormonunun etkisi ile suyun geri emilmesi durumudur. Söz konusu hormona bağlı olarak suya geçirgenlik artar, suyun hipertonesi medullaya kolaylıkla geçmesini sağlar. Sonuçta idrarın yoğunluğu artar.

**Jukstaglomerüler aygıt:** Glomerül arter kutbu yakınında bulunan jukstaglomerular aygıt; afferent arteriyolün tunikamediasında bulunan epiteloid hücreler, maculadensa

ve Goormgthigh hücrelerinden oluşur. Jukstaglomerüler hücrelerden salgılanan renin hormonu, afferent arteriyolün duvarındaki gerilmelere yanıt olarak sistemik kan basıncındaki değişiklikleri düzenler. Sistemik kan basıncındaki bir azalma jukstaglomerüler hücreleri, kan akımını içerisine renin salgılamak amacıyla uyarır. Renin, “angiotensinojen” plazma proteinini A I'e dönüştürür, daha sonra A I, akciğerlerin endotel hücrelerindeki dönüştürücü bir enzim (ACE) tarafından A II'e dönüştürülür. A II, arteriyal daralma ile sistemik kan basıncını artıran güçlü vazokonstriktör etkiye sahip hormondur ve adrenal korteksten aldosteron hormonu salınımını da uyararak kan basıncının düşmemesini sağlar. Jukstaglomerüler hücrelerin bulunduğu afferentarteriyole komşu distal tubüllerde bulunan makuladensa ile birlikte jukstaglomerular apareyi oluşturur, distal kıvrıntılı tubülden akan glomerüler filtratın hacmi ve sodyum klorid yoğunluğundaki değişimlere yanıt verir.

### **Böbrek interstisyumu**

Korteks ve medullada, tubüller ile kan ve lenf damarları arasındaki boşluklarda bulunan hücreler “interstisyel hücreler” olarak adlandırılmaktadır [6, 14,].

Böbrekler, vücudun homeostasisini düzenleyen hayati organlardır. Vücutta meydana gelen metabolizma artıklarının büyük bir kısmını vücuttan uzaklaştırma ve vücut sıvılarında bulunan maddelerin çoğunun konsantrasyonunu kontrol etme gibi temel fonksiyonlara sahiptirler. Kan basıncı ve vücudun sıvı dengesini ayarlar, idrar oluşturur ayrıca pH derecesini sürdürürler. Renin ve eritropoetin olmak üzere iki önemli hormonu üretirler. Renin, kan basıncını ayarlar. Eritropoetin, kemik iliğinde kırmızı kan hücrelerinin yapım üzerine etkilidir [14].

Erişkin bir bireyin her iki böbreğine dakikada 1,2–1,3 litre böbreğe kan gelir. Bir başka deyişle vücutta dolaşan tüm kan her 4–5 dakikada bir böbrekten geçmektedir. Her iki böbreğin dakikada filtrat üretimi 125 ml'dir. Dakikada üretilen filtratın 124 ml'si geri emilir. Sadece 1 ml'si idrar olarak kaliksleresalınır. Bu salınım sonucunda ortalama olarak bir günde 1500 ml idrar oluşumu söz konusudur [5].

Glomerüler filtrat yapısının kimyasal bileşimi temelde kan plazmasına benzerlik göstermektedir. Makromoleküller glomerül duvarını geçemediği için neredeyse hiç protein içermez. Glomerül kapillerlerinin endotel hücreleri pencere yapıdadır. Bu pencere yapıda 70–90 nm çapında birçok açıklık bulunur. Ayrıca diyafram

içermemeleri nedeni ile de endotel geçirgenliği artar [5]. Renal cisimcikte oluşan glomerüler filtrat, emilim ve ekskresyonun başladığı yer olan proksimal kıvrımlı tübüllere geçer. Proksimal kıvrımlı tübüller filtrattaki glukoz ve aminoasitlerin tamamını, sodyum klorür ve suyun %85'ini ve ilaveten kalsiyum ve fosfatı emer. Glikoz, aminoasitler ve sodyum, proksimal tübül  $Na^+/K^+$  hücrelerinin bazolateral membranları üzerinde bulunan -ATPaz etkinliğine bağlı olarak absorbe edilirken su, ozmotik gradienti izleyerek pasif şekilde absorbe edilir. Filtrattaki glikoz miktarı proksimal tübülün var olan emme kapasitesini aştığı anda, idrar miktar olarak artar ve glukoz içerir. Filtrattaaz olarak bulunan protein emilimi pinositozla gerçekleştirilir. Proteinler lizozomlar tarafından sindirilirler ve aminoasitler burada yer alan hücreler tarafından tekrar kullanılırlar. Tüm bu işleme ilave tenproksimal kıvrımlı tübüller kreatinin şeklindeki maddeleri ve paraamino hippürik asid, penisilin ve iyotlu kontrast madde şeklinde toksik maddeleri idrara salgılar. Bu olay tübüler sekresyon olarak ifade edilen oldukça aktif bir işlemdir. Söz konusu maddelerin sekresyon hızının belirlenmesi önemlidir. Çünkü bu hız böbrek işlevlerinin klinik olarak değerlendirilmesi sürecinde katkı sağlayıcıdır.

Su tutma işleminde henle kangalı önemli role sahiptir. Çünkü hipertonic idrar bu yolla üretilir ve vücut suyu böylece korunmuş olur. Toplayıcı kanallardan geçen idrarın yoğunluğunu etkileyen medüller interstisyumdaki hipertonic gradyanı Henle kangalı oluşturmaktadır. Henle kangalın inen ince kısmı suya geçirgen özelliktedir ancak kangalın çıkan kısmı suya geçirgen özellikte değildir. Sodyum klorür çıkan kalın kolda aktif olarak tübülden dışarı atılmaktadır. Böylece medüller interstisyumda idrarın yoğunlaştırılmış yapıya dönüşmesi için gerekli gradyan sağlanmış olur. Aldosteron yoğunluğu gerektiği kadar yüksek olduğunda ise distal kıvrımlı tübüllerde sodyumun emildiği ve ayrıca potasyum iyonlarının dışarı verildiği iyon değişim bölgesi bulunur. Bu kısım insan vücudundaki toplam tuz ve suları kontrol eden düzeneğin yer aldığı bölgedir. Distal tübül ayrıca tübüldeki idrara amonyum ve hidrojen iyonlarını salmaktadır. Söz konusu etkinlik kandaki pH dengesinin korunmasında çok önem taşımaktadır.

Toplayıcı kanal epiteli arka hipofizden salgılanan antidiüretik hormona (ADH) karşı duyarlıdır. Suyun alımı azaldığı takdirde, ADH salgılanmakta ve toplayıcı kanalların epiteli suya geçirgen hale geçmektedir. Bu sayede su glomerüler filtrattan absorbe edilip kan kapillerlerine aktarılır. Bu etkinliğin sonucunda vücut içinde kalır.



Ortamda ADH bulunduğunda lümen membranındaki membran içi partiküller suyun absorbe edildiği kanalları oluşturacak şekilde bir araya toplanabilir [5].

## 1.2. Böbrek Kanseri Etyolojisi ve Epidemiyolojisi

Böbrek Hücreli Karsinom (BHK) ürolojik yapıda tanımlanan karsinomlar içinde prostat ve mesaneden sonra en sık görülen üçüncü ürolojik kanserdir. Çok daha erken evrede tanı konulabilmesine karşın halen yüksek mortalite oranları ile seyretmektedir. Ayrıca görülme oranı git gide artmaktadır(152).

Temel olarak BHK çok daha ileri yaşlarda görülen bir hastalıktır. İleri yaş sürecinde çok sık rastlanıldığı yaş aralığı 70-74 'dür. Erkeklerde oran kadınlara oranla yaklaşık 2:1 daha yüksektir[15, 16]. Bu nedenle erkeklerde hastalığa ilişkin risk kadınlara oranla daha yüksektir. Hastaların çok büyük oranı sporadik ve %2 olgunun temeli ise ailesel etmenlerdir[17]. Araştırmalar BHK olan kişilerin birinci derece akrabalarında söz konusu hastalık varsa riskin 4,3 kat arttırdığını ortaya koymuştur[18].

Böbrek kanserlerinin oluşumunda çok çeşitli etmenlerin yansımaları söz konusudur:

**1. Sigara:** Hipoksik durumlara yol açan sigara kullanım durumu BHK oluşmasına neden olan hücresel yollarda aktivasyona neden olmaktadır. Sigarada bulunan birçok karsinojenik (N-nitrosamin, aromatic aminler heterocyclic aminler, polycyclic aromatic hydrocarbonlar,) madde tümör gelişimini başlatabilmekte ve ayrıca ilerlemesine neden olabildiği bilinmektedir.[19]. Risk sigara içen erkeklerde %27–37 ve kadınlarda %10–24 oranları arasında değişkenlik göstermektedir. Son dönemlerde sigara kullanımı bağlamında gerçekleştirilen bir meta-analiz çalışmasında incelenen 24 çalışma, sigara kullanımının böbrek kanseri oluşumuna yol açtığını göstermektedir [20].

**2. Obezite:** BHK'nın teşhis edilme sıklığı temelde dünya genelinde obezitenin yaygınlığı ile ilişkisel bir tablo ortaya koymaktadır. Bu ilişkisel yapı bilimsel çalışmalarla da ortaya çıkarılmıştır [21]. Ayrıca Asya ülkelerindeki insanların farklı bölgesel etmenler, beslenme ve kültürel farklılıklardan kaynaklanan yansımalar bağlamında vücut kitle indeksleri (VKİ) batı dünyasına göre daha düşüktür. Bu bölgelerde BHK sıklığının azalması ve düşük olması durumu da obezite ile BHK arasındaki ilişkiyi daha güçlü bir şekilde göstermektedir [22]. BHK'nın gelişme riski

doza bağımlıdır. VKİ 30 ve üzerinde olanlarda risk 2,5 kat artmakta,25-30 aralığında olanlarda risk 1,5 kat artmaktadır [23]. Obezite ile BHK arasındaki ilişkiye bakıldığında, VKİ'sindeki her 5 kg/m<sup>2</sup> artış için BHK riski erkeklerde 1,24, kadınlarda 1,34 kat artış göstermektedir [24]. Genel olarak obezite ve böbrek tümörü ilişkisi kadınlarda çok daha fazla belirgindir ve obezitenin derecesiyle doğru orantılıdır. Vücut kitle indeksi fazla olanlarda böbrek kanseri riski neredeyse 2 kat artmaktadır [20].

**3. Fiziksel Aktivite:** Fiziksel aktivite artması ile birlikte böbrek kanseri riskinin azalmakta olduğu görülmektedir. Bu önemli bir risk faktörü olan obeziteyi önlemesiyle açıklanabilmektedir [20].

**4. Hipertansiyon:** BHK ile kan basıncı yüksekliği arasındaki ilişki farklı çalışmalarla irdelenmiştir. Anti hipertansif ilaçların, spesifik olarak da diüretiklerin proksimal tübül üzerine etkili olmaları ve BHK'nında daha çok buradan gelişmesi sebebiyle söz konusu ajanların kullanımının BHK'nın potansiyel nedenlerin de nolabileceği [25] öne sürülmesine rağmen kanıtlanmamıştır [26]. Weikert ve ark.'nın yaptığı önemli bir Avrupa çalışmasında arteriyel kan basıncı yüksek ( $\geq 160$  mmHg) olanlar ile düşük (<120 mmHg) olanlar karşılaştırılmıştır. Kan basıncı yüksekliği olanlarda BHK'nın gelişim riskinin 2,4 kat daha fazla olduğunu saptamıştır [27]. Chow ve ark.'nın yaptığı çalışmada kan basıncı yüksekliği ile BHK gelişme riski arasında doza bağımlı bir ilişkinin olduğunu ortaya konulmuştur ve ayrıca kan basıncının düşürülmesi ile riskin zaman içinde azalabileceği gösterilmiştir [28].

**5. İlaçlar:** Birtakım analjeziklerin kullanımına dayalı süreçler ve etkileri tartışılmış ve kanıtlanamamıştır. Zamana dayalı olarak enasetin kullanımının böbrek toplayıcı sisteminde değişici epitel hücreli karsinom gelişimini arttırdığı ortaya konulmuş ancak BHK gelişimine olan etkisi gösterilememiştir [29]. Diüretik kullanan kadınlarda kanser riski 5 kat artmaktadır [20].

**6. Beslenme:** Faramawi ve ark.'nın yaptığı bir meta analiz araştırmasında 13 olgu kontrol çalışması incelenmiştir. Bu bağlamda aşırı et tüketimi (işlenmiş et, kırmızı et ve kümes hayvanları) ile artmış böbrek kanseri riski arasında ilişki bulunmuştur. Bu ilişkiye göre araştırma daha fazla et tüketenlerde daha az et tüketenlere göre %20-%30 oranında riskin arttığını ortaya koymuştur. Bu sonuçtan yola çıkılarak araştırmada söz konusu tüketiminin sınırlandırılması ve azaltılmasının genel

populasyonda böbrek kanseri insidansını azaltmasında önemli bir yaklaşım olacağı vurgulanmaktadır. Bu bağlamda önerilen diyetle anti-oksidan alımı ile riskin azaltılabileceği öngürüsü yer almaktadır. Ancak söz konusu öngörüye ilişkin bilimsel kanıtlar yeterli değildir. Lee ve ark.'nın yaptığı çalışmada meyve ve sebze açısından zengin beslenme yapılandırmanın da riskiazalttığı [30] ifade edilmektedir. Ancak bu bağlamda bir ilişkinin bulunamadığını ifade eden çalışma da söz konusudur [31]. Galeone ve ark.'nın yaptığı çalışmada ise BHK gelişme riskinin glisemik indeksi yüksek gıdalarla beslenmeye dayalı olarak 2,56 kat arttığı bulunmuştur [32].

**7. Mesleki Faktörler:** Meslek faktörüne dayalı olarak asbest, polisiklik aromatik hidrokarbonlar, organik çözücüler ve petrol ürünlerine maruz kalma durumlarında böbrek kanseri riski artmaktadır [20].

**8. Radyasyon:** Ankilozan spondilit ve serviks kanseri sebebiyle iyonize radyasyon alan hastalarda sekonder olarak böbrek kanseri gelişme riski yüksektir [20].

**9. Böbrek Hastalıkları:** Kronik böbrek yetmezliği nedeniyle hemodiyaliz uygulanan ve böbreğin kazanılmış kistik hastalığı gelişen hastalarda böbrek kanserinin gelişme riski yüksektir. Üriner sistem infeksiyonu hikâyesi olanlarda böbrek kanseri insidansının 1,9 kat daha fazla arttığı bildirilmektedir [20].

**10. Genetik Faktörler:** Böbrek kanserlerinde hem sporadik hem de ailesel formlar mevcuttur. Özellikle aile hikâyesi olanlarda böbrek hücreli kanser gelişme riski 4 kat artmaktadır. Ailesel sendromlarla görülen böbrek kanserlerinde genetik faktörler öne çıkmakta olup, her iki böbrekte ve multipl yapıda oluşmaktadır. Yapılan çalışmalar vonHippel–Lindau (VHL) ve tuberoskleroz gibi gen mutasyonları kaynaklı hastalıklarda böbrek kanseri gelişme riskinin yüksek olduğunu göstermektedir [20].

Böbrek kanseri, tüm renal malignitelerin yaklaşık %85-90'ini oluşturur. Yapısal olarak çoğunlukla 40 yaşından sonra görülmektedir. Yaş aralığı olarak 60-70 yaş arasında en üst düzey görülme sıklığına ulaşmaktadır. Fakat çocukluk çağı ve 20'li yaşlarda da nadir olarak görülebilmektedir. Son yılların teknolojik gelişmelerine dayalı görüntüleme yöntemlerindeki gelişmeler sayesinde böbrek kanseri insidansında artış olduğu görülmektedir. Tümörün gerçek insidansında bir değişiklik olmadığı düşünülmekte, ancak teşhis ve görüntüleme yöntemlerindeki gelişim ile insidental tanı oranının artmakta olduğu görülmektedir ve bu da insidans artışına sebep olan göreceli bir durumdur [33]. Heryıl yaklaşık verilere dayalı olarak 270,000

birey böbrek kanserine yakalanmaktadır. Bu bireylerin 115,000'i böbrek kanseri nedeniyle ölmektedir [34]. Böbrek kanseri hastalığı durumunda cerrahi müdahale ile iyi sonuç alınan durumlar olsa dahi hastalığı ilerlemiş olan bireylerin %20'den azı 2 yıllık bir sağ kalım oranına sahiptir [35].

### 1.3. Böbrek Hücreli Kanserin Sınıflandırılması

Renal hücreli karsinomlar 2004 yılında Dünya Sağlık Örgütü tarafından immünohistokimya, sitogenetik ve moleküler genetik çalışmalarının yapılandırıldığı bilgi birikimine dayalı olarak yeniden sınıflandırılmıştır.

2004 DSO (WHO)'ne göre böbrek hücreli tümörlerin histolojik sınıflaması **Tablo 1.1.'de** yer almaktadır. Böbrek tümörlerinin oran olarak %2-3'u kimi herediter karsinom sendromlarıyla ilişkilidir. Bunun yanında böbrek tümörlerinin büyük bir oranı genetik faktörlere bağlı olmaksızın sporadik olarak görülmektedirler [36].

**Tablo 1.1.** Böbrek tümörlerinin sınıflandırılması (WHO, 2004)

A) Benign	B) Malign
<ul style="list-style-type: none"><li>• Papiller adenom</li><li>• Onkositom</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Berrak hücreli tipte renal hücreli karsinom</li><li>• Multiloküler berrak hücreli karsinom</li><li>• Papillar tipte renal hücreli karsinom</li><li>• Kromofob tipte renal hücreli karsinom</li><li>• Bellini'nin toplayıcı kanal karsinomu</li><li>• Renalmedüllerkarsinom</li><li>• Xp11 translokasyonkarsinomu</li><li>• Nöroblastom ile ilişkili karsinom</li><li>• İğsi hücreli ve müsinöztübülerkarsinom</li><li>• Sınıflandırılmayan renal hücreli karsinom</li></ul>

#### 1.3.1. Berrak Hücreli Böbrek Hücreli Kanser

Böbrek hücreli kanserlerin %70–80'inden sorumlu olan en sık görülen tipi [37]. Makroskopik kesit yüzeyinin sitoplazmik lipid içeriği sebebiyle parlak sarı renkli, arada gri beyaz fibrozis ve kanama bölgeleri içermesi bakımından karakteristiktir. Büyüdüğünde komşu böbrek parankimini iter ve genellikle komşu normal böbrek

dokusundan iyi sınırlı, ince fibröz bir yalancı kapsül ile ayrılır. Kistik değişiklikler, kanama, nekroz ve kalsifikasyona sıklıkla izlenir [38]. Mikroskopik solid tabakalar halinde veya alveolar, asinerpatern oluşturan tümör hücrelerinin sitoplazmaları, içerdikleri lipid ve glikojen sebebiyle şeffaf olarak izlenir. Stromada ince duvarlı kan damarları izlenir [39]. Sitoplazmik sınırları belirgindir. Çekirdek şekilleri, boyutları ve nükleol belirginliği farklılık gösterir ve bu özelliklere bakılarak nükleer derecelendirme yapılır [40]. Nispeten olumsuz bir prognozu vardır. 5 yıllık sağkalım %50–60'tır. Berrak hücreli BHK, tüm BHK'lerin karakteristik ortak MRG özelliklerini gösterir [41].

### **1.3.2. Multiloküler Berrak Hücreli Böbrek Hücreli Kanser**

Berrak hücreli BHK olgularının %5'ini oluşturur. Bildirilen vakaların tümü yetişkindir ve yaş ortalaması 51 olarak ifade edilmiştir. Kesit yüzü çok sayıda kistlerden meydana gelmiş olan bu tümörde septaları döşeyen hücreler, tek veya az sıralanma gösteren berrak hücrelerdir ve çekirdekler FND 1 olarak izlenmektedir [39, 42]. Makroskopik olarak kalın fibröz bir kapsül ile çevrili ve iyi sınırlı olan bu tümörlerin çapı 2,5 cm ile 13 cm arası değişmektedir [39].

### **1.3.3. Papiller Böbrek Hücreli Kanser**

Böbrek hücreli kanserlerin en sık ikinci tipidir [43,44]. Yaş ve cinsiyet dağılımı ile BHBHK'ye benzer [45].

Diyaliz ile ilişkili kistik hastalığın geliştiği hastalarda en sık görülen böbrek kanser tipidir [37]. Araştırmalarda çocuklardaki oluşumda izlenen BHK'lerin daha çok papiller morfolojiye sahip olduğu ifade edilmektedir [39]. Çoğu papiller BHK sporadiktir [45]. Papiller böbrek hücreli karsinom, BHBHK'den daha iyi bir prognoza sahiptir.

5 yıllık sağkalım yaklaşık %90 oranındadır [41]. Papiller böbrek hücreli karsinom, büyük, iyi tanımlanmış ve yavaş büyüyen tümörlerdir. Genellikle psödokapsüle sahip iyi sınırlı tümörlerdir ve kesit yüzlerinde sıklıkla kanama, nekroz ve kistik dejenerasyon alanları izlenmektedir [39, 40, 41, 45].

#### **1.3.4. Kromofob Böbrek Hücreli Kanser**

Böbreğin tüm epitelyal tümörlerinin %4–5'ini oluşturur. Tümör çapı 1,5 cm ile 25 cm arasında değişir [40]. Ortalama 5,3 adet olmak üzere, çok sayıda izlendiklerinde Bift-Hogg-Dube sendromu akılda bulundurulmalıdır. İyi huylu deri tümörleri, böbrek epitelyum neoplazmları ve spontan pnömotoraks ile karakterize, otozomal dominant geçişli ve ortalama 51 yaşında ortaya çıkan sendromda, çok sayıda bilateral yerleşimli papiller ve kromofob karsinomlar, onkositomlar, onkositozis veya hybrid tümörler görülebilmektedir [39, 45]. Genellikle açık kahverengi kesit yüzeyi ile iyi sınırlı ve kapsülsüz kitle olarak izlenir [45].

#### **1.4. Böbrek Kanseri Evrelendirilmesi**

1958'de Flocks ve Kadesky'nin çalışmalarına dayalı olarak oluşturulan evreleme sisteminin daha sonra Robson tarafından 1969'da modifikasyonu yapılmıştır. Bu modifikasyon 1990'lı yıllara kadar kullanılan evreleme sistemini oluşturmuştur.

1990'da Hermanek ve Schrott tarafından önerilen Union Internationale Contra le Cancer kuruluşunun (UICC) TNM sınıflamasının (**Tablo 1.2.**) modifikasyonu, hasta prognozu ile evreleme arasında çok iyi derecede bir korelasyon sağlamıştır. TNM evrelemesi ile anatomik sınırlar net olarak belirlenmiştir. Ayrıca dünyadaki merkezlerin klinik ve patolojik verilerinin kıyaslanabilmesini sağlamıştır. TNM evrelemesi Robson evrelemesine göre anlamlı olarak prognozu belirtmekte ve sağkalım ile korelasyonel ilişki göstermektedir [46].

Renal hücreli kanserlerde (RHK) evreleme geleneksel olarak tümörün anatomik yayılımına (tümör büyüklüğü, komşu organ tutulumu, vasküler invazyon) göre yapılmaktadır. Fiziki muayene, tomografik verilere dayalı değerlendirme ve olası uygun görüntüleme yöntemleri kullanılarak primer tümör, lokal ve uzak yayılımlar değerlendirilerek klinik evrelendirme yapılır. Uzak metastazları değerlendirmek için biyokimyasal testler akciğere ait görüntüleme yöntemleri, gerektiğinde izotopik tetkiklerden yararlanır. Patolojik evrelendirme için patolojik inceleme ve anatomik invazyonun değerlendirmesi gereklidir. Primer tümörün, böbreğin, gerotafasyasının, periferik yağ dokusunun, renalvenin (RV) ve uygun olan lenf düğümlerinin eksizyonu gereklidir. Hastalığın anatomik yayılımı ve tutulumunu gösteren tümör evresi; RHK sonucu ve klinik davranış için önemli bir prognostik faktördür [47].

**Tablo 1.2.** Böbrek kanserlerinde TNM sınıflaması [133]

Evre	Özellikler
<b>TX</b>	Primer tümör değerlendirilemedi
<b>TO</b>	Primer tümör görülmedi
<b>T1</b>	Tümör 7 cm ya da daha küçük ve böbreğe sınırlı
<b>T1a</b>	Tümör 4 cm veya daha az çapa sahip, organa sınırlı
<b>T1b</b>	Tümör 4 cm'den büyük ancak 7 cm'den küçük çapa sahip, böbreğe sınırlı
<b>T2</b>	Tümör 7 cm'den büyük çapa sahip, böbreğe sınırlı
<b>T2a</b>	Tümör 7 cm'den büyük ancak 10 cm'den küçük çapa sahip, böbreğe sınırlı
<b>T2b</b>	Tümör 10 cm'den büyük çapa sahip, böbreğe sınırlı
<b>T3</b>	Tümör major ven, adrenal gland ya da perinefrik dokulara invaze ancak geratofasiası içinde
<b>T3a</b>	Tümör renal venlere ve onun segmental dallarına (kas ihtiva eden) yayılmış ya da perirenal ve/veya renal sinüs yağ dokuyu invaze etmiştir, geratofasiasını aşmamıştır
<b>T3b</b>	Tümör makroskopik olarak, diyaframın altında kalan vena kavanın içine yayılmıştır
<b>T3c</b>	Tümör makroskopik olarak diyaframın üzerinde bulunan vena kavanın içine yayılmış ya da vena kavanın duvarını invaze etmiştir.
<b>T4</b>	Tümör doğrudan geratofasiasını aşmış (aynı taraf adrenal glanda uzanım göstermektedir)
<b>NX</b>	Bölgesel lenf nodları değerlendirilemedi
<b>N0</b>	Bölgesel lenf nodlarına metastaz yok
<b>N1</b>	Bölgesel lenf noduna metastaz var
<b>MX</b>	Uzak metastazlar değerlendirilemedi
<b>M0</b>	Uzak metastaz yok
<b>M1</b>	Uzak metastaz var

**Tablo 1.3.** Anatomik evre/prognostik gruplar [40]

Evre	Tümör	Lenf Nodu	Metastaz
Evre I	T1	N0	M0
Evre II	T2	N0	M0
Evre III	T1 ya da T2	N1	M0
	T3	N0 ya da N1	M0
Evre IV	T4	Herhangi bir N	M0
	Herhangi bir T	Herhangi bir N	M1

## 1.5. Nükleer Derecelendirme

Tümör derecesi için en çok Fuhrman sistemi kullanılmakta olup, bu sistem, çekirdek ve çekirdekçik büyüklüğü ile şekillerliliğinin değerlendirilmesine dayanır [48]. Bu derecelendirme sisteminde tümörler, 4 alt gruba ayrılır [43–49, 50, 51]. Fuhrman derecesi düşük (derece 1 ve 2) ve yüksek (derece 3 ve 4) olarak sınıflandırılır. Bu, çekirdek boyutu, nükleer membranın düzensizliği ve nükleolar belirginliğe dayanır [45].

10'luk büyütmedeki nükleolün görülmesi 2–3. derece tümörleri ayırt etmede kullanılır [43–49, 50, 51].

**Tablo 1.4.** Fuhrman Nükleer Grade'leme Sistemi [40].

Grade I	<b>Küçük yuvarlak çekirdek [10µm'den küçük), belirsiz nükleol, uniform nükleuslar</b>
Grade II	15 µm çekirdek çap, 10x büyütme ile seçilemeyen veya zorlukla seçilen nükleol, hafif düzensiz nükleer kontür
Grade III	<b>İri (20µm) çekirdek, 10x büyütme ile rahatça izlenen belirgin nükleol, belirgin düzensiz nükleer kontür</b>
Grade IV	Geniş ve düzensiz pleomorfik çekirdekler, tek veya çok sayıda belirgin makronükleol, derece 3'e ek olarak multilobüler, multiple ya da bizar nükleol, yoğun kaba kromatin kümelenmesi

## 1.6. Prognostik Faktörler

1997 yılında Union Internationale Contre le Cancer (UICC) ve American Joint Committee on Cancer (AJCC) tarafından böbrek hücreli karsinomlardaki prognostik faktörler üç alt grupta toplanmıştır [43–49, 51, 52, 53, 54, 55]:

### A. Tümörle ilgili faktörler:

#### 1. Histopatolojik bulgular

**a. Evre:** Tümörün anatomik yayılımını gösterir ve RHK'da en önemli prognostik faktörlerden biridir [56]. Tanı anında uzak metastazı olmayan hasta tablolarında cerrahi bulgular çerçevesinde evrelendirme yapılır [57]. TNM sistemine göre sınıflandırılmış bir yapıdır. Nefrektomi sonrası evre 1'de 5 yıllık sağkalım %91, evre 2'de %74, evre 3'de %67, evre 4'te ise %32'dir [43–49, 51, 52, 53, 54, 55].

**b. Nükleer Derece:** Fuhrman nükleer derecelendirme sistemi günümüzde en yaygın olarak kullanılmaktadır. Derece 1'de 5 yıllık sağkalım %65–75, derece 2'de %30–70, derece 3'de %20–50 ve derece 4'de %10–35'tir [43–49, 51, 52, 53, 54, 55]. Bu sisteme göre değerlendirilme çerçevesinde; nükleer derecesi 1-2 olanlar düşük, derecesi 3-4 olanlar yüksek derecelidir. Budia Alba ve arkadaşlarının gerçekleştirdikleri araştırmada nükleer derecesi 1-2 olanlar, derecesi 3-4 olanlar ile kıyaslanınca daha iyi prognoza sahip olduğu ortaya konulmuştur [58].

**c. Histolojik alt tip:** Berrak hücreli karsinom, %70-80 oranında en sık gözlenen RHK alt tipidir. 5 yıllık sağkalım %76'dır. Papiller tip histolojik karakteristiklerine göre Tip I ve Tip II olarak ayrılır. Tip 1 papilla ve tubüler yapıları çevreleyen az



sitoplazmalı ve küçük oval çekirdekli hücreler ile papilla içerisinde yerleşmiş makrofajlar ve sık psammom cisimcikleri ile karakterize bazofilik bir tümördür. Tip II ise eosinofilik sitoplazmalı geniş çekirdek ve belirgin çekirdekçikli geniş hücrelerle kaplı papillalardan oluşan eosinofilik bir tümördür [59]. Prognozu açısından kesin bir fikir birliği yoktur. Tip I daha az agresif özelliktedir. Tip II varlığı ise bağımsız kötü prognoz göstergesi olarak belirtilmiştir [60]. Kromofob tip RHK'ların %5'lik kısmını oluşturmaktadır [134]. Çeşitli çalışmalarda prognozu en iyi olan tip olarak belirtilmektedir [61,62]. PBHK'nin prognozu BHBHK'den iyi, KrBHK'den kötüdür. 5 yıllık sağkalım %86'dır. BHK'ler içerisinde prognozu en iyi olan KrBHK olup 5 yıllık sağkalım %100'dür. Toplayıcı duktus karsinomu ender görülen (<%1] prognozu oldukça kötü ve uzak metastazı sık olan bir karsinomdur [43–49, 51,52,53,1 54, 55].

**d. Sarkomatoid değişiklik:** Önceleri farklı bir varyant olarak tanımlanan sarkomatoid değişiklik kötü prognozla ilişkili olup yüksek dereceli BHK'lerde görülmektedir [43–49, 52].

**e. Cerrahi sınırlar:** Prognostik faktörler içerisinde yer alan cerrahi sınır pozitifliğinin önemi henüz bilinmemekle beraber cerrahi sınır pozitifliğinin lokal nüks anlamına gelmeyeceği belirtilmiştir. Frozen eşliğine dayalı olarak biyopsi alınması ile ve frozen kesitlerinin tümör yatağından alınması yoluyla cerrahi sınır pozitifliğinin azalacağını öngören görüşler bulunmaktadır [50].

**f. Uzak Metastaz:** Metastatik hastalıkta prognozu etkileyen faktörler olarak; performans durumu (Karnofskyskalası ya da ECOG), metastazların yeri ve sayısı, metastaz oluşumuna kadar geçen süre, kilo kaybı, birincil basamak kemoterapi, anemi, hiperkalsemi, trombositoz sıralanabilir [63,64]. BHK'lerde tipik metastaz akciğer, beyin, kemik, karşı taraf böbrek, adrenal gland, abdominal vissera ve bölgesel lenf düğümlerine olur. En sık görülen lokalizasyon %33 ile akciğerlerdir. Kemikler ve karaciğere %20 ve beyine %10 oranında metastaz görülür. Özellikle pelvis bölgesinde olmak üzere kemik metastazları çok kötü prognoz göstergesi olan durumlardır[43–49].

**g. Mikrovasküler invazyon:** Tümör çapı, evre ve derece ile ilişkili olup T1 tümörlerde izlenmediği saptanmıştır [50].

**h. Tümör çapı:** Patolojik evre prognozu etkileyen faktörlerin başında yer alır. Tümör çapı patolojik evreyi belirleyen parametrelerin en önemlilerinden biridir [43–49, 51,52,53, 54, 55]. Tümörün çapı 3 cm' in altında veya 12 cm'in üzerinde ise bu durum prognozda önemlidir. Araştırmalarda söz konusu bu değerler arasındaki boyutlar ile prognoz arasında ilişkisi bulunamamıştır. Steiner ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada söz konusu değer, 4 ile 7 cm olarak prognozdaönemli olduğu vurgulanmıştır [65].

## **2. Biyomoleküler faktörler:**

**a. DNA içeriği** [50].

**b. Nükleer morfolometri:** Nükleer morfolometri çekirdek çapı, çekirdek çevresi, çekirdek düzenlilik faktörü, çekirdek elongasyon faktörü dikkate alınarak belirlenir ve Fuhrman derecesine göre daha objektif olarak kabul edilebilir [66,67].

**c. Proliferasyon belirteçleri:** Son yıllarda tümör hücre proliferasyonunu belirlemedeki çalışmalar çoğalmıştır. Bu çalışmalar DNA akım sitometri de proliferasyon analizi (S fazı), Nükleer organize bölgeler (AgNOR), proliferasyon hücrelerin nükleer antijeni (PCNA), immünohistokimyasal olarak hücre döngüsü proteinlerini belirleyebilen yöntemler olarak sıralanabilir. Bazı çalışmalarda DNA akım sitometri ile ölçülen DNA içeriğinin böbrek hücreli karsinomlarda prognozda etkili olduğu belirlenmiştir. Ayrıca aneuploid olan tümörlerin daha kötü prognoza sahip olduğu da ortaya konulmuştur [68].

**d. Diğer potansiyel faktörler:**p53, bcl-2 gibi apoptotik belirteçlerin, angiogenezi gösteren VEGF'nin, kromozom anomalilerinin" DNA anöploidisinin CD44 gibi hücre adezyon moleküllerinin prognostik değeri üzerinde genel bir görüş birliği oluşmamıştır [56].

## **B. Hastayla İlişkili Faktörler**

**1. Semptomlar:** Tanı anında semptomatik olan olgularda sağkalım asemptomatik aşamada tanı konan hastalardan daha kısadır. Asemptomatik tanı konan olgularda tümör evresi, derecesi, metastaz riski daha düşük olmaktadır [69, 70]. RHK

olgularında anoreksi, kansızlık, belirgin kilo kaybı, kötü performans hali kötü prognostik göstergelerdendir [50].

**2. Laboratuvar bulguları:** Hiperkalsemi, trombositoz, serum alkelen fosfataz, ferritin, CRP, LDH, haptoglobin, sedimentasyon ve  $\alpha$ 1-antitripsin yüksekliği de kötü prognoz göstergesidir [50].

### **C. Tedaviyle İlişkili Faktörler**

Southwest Oncology Group ve EORTC tarafından yapılan çalışmalarda metastatik hastalıkta nefrektominin olumlu etkisi belirtilmektedir [46].

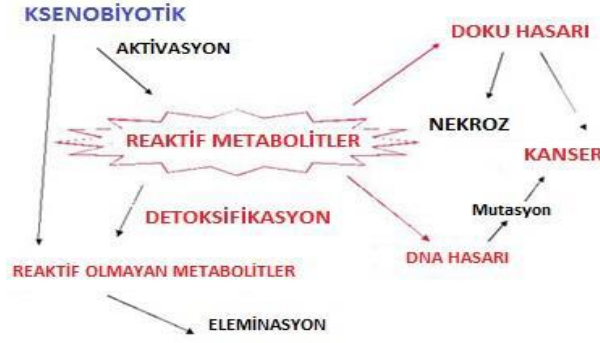
BHK'lerin tedavilerini belirlemede prognostik faktörleri saptamak önemlidir. Böbreğe sınırlı BHK'de, böbrekle beraber çevre yağ dokusu, adrenal bez ve bölgesel lenf düğümlerini içeren radikal nefrektomi standart tedaviyen lokal nüks ve metastazı bulunan olgularda standart tedaviye adjuvan tedavi de eklenir [43-49, 50, 53].

### **1.7. Ksenobiyotik Metabolizması**

Kemoterapötik ilaçlar, kirlilik sonucu vücuda alınmakta olan kimyasal karsinojenler, gıda eklentileri ksenobiyotik olarak isimlendirilmektedir [71].

Toksik maddeler, metabolitler, epoksitler vb. oluşturduğu ksenobiyotiklerin, zararlı etkilerinin moleküller ya da enzim yardımı ile etkisiz hale getirilerek vücuttan dışarı atılmalarını sağlayan mekanizmalar, detoksifikasyon (biyotransformasyon) mekanizmaları olarak tanımlanırlar [137].

Hücre içine giren ksenobiyotikler, ya non-reaktif metabolitlere (reaktif olmayan metabolitlere) katalize edilip vücuttan dışarı atılırlar. Ayrıca aktive olarak reaktif metabolitlere de dönüştürülürler. Reaktif metabolitlerin hücre ve/veya dokularda birikmesi ile doku hasarı, DNA hasarı, nekroz, mutasyonlar sonucunda kanser gibi hastalıklar oluşur. Metabolizmanın bu safhasında aktive olan reaktif metabolitler detoksifiye edilerek non-reaktif metabolitlere dönüştürülerek vücuttan dışarı atılırlar [138].



Şekil 1.3. Ksenobiyotikmekanizması [131].

### 1.7.1. FAZ I ve FAZ II Reaksiyonları

Eki fazlı bir işlem olan ksenobiyotiklerin metabolizmasında işleyiş şu şekildedir: Faz I reaksiyon çoğunlukla karaciğerde, mikrozomal enzim sistemi içinde yer alan sitokrom P450 (CYP)'ler tarafından yürütülmektedir. Böbrek, akciğer, bağırsak, deri, plsentta, testis, adrenal bezde de faz I reaksiyonu sınırlı olmakla birlikte gerçekleşebilir. Faz I reaksiyonu ile lipitde çözünen ksenobiyotikler daha polar hale geçmektedirler [72, 73].

Faz II reaksiyonları birçok sitozolik enzim tarafından yürütülmekte olan konjugasyon reaksiyonlarıdır. Detoksifikasyon olarak kabul edilen, konjugasyon reaksiyonları ile endojen maddelerle birleşen polar metabolitlerin aktif şekilde eliminasyona uğramaktadır [74, 75].

Çizelge 1.1'de ksenobiyotik biyotransformasyonunda yer alan FAZ I reaksiyon tipleri ve başlıca enzimler gösterilmektedir.

**Çizelge 1.1.** FAZ I reaksiyon tipleri ve başlıca enzimler

<b>REAKSİYON TİPLERİ</b>	<b>ENZİMLER</b>
Yükseltgenme (oksidasyon)	<b>SitokromP-450monoksijenaz</b> Ksantinoksitaz Peroksidazlar Aminooksidaz Monoaminooksidaz Dioksijenaz Alkol dehidrogenaz Aldehit dehidrogenaz Superoksitdismutaz
İndirgenme (redüksiyon)	<b>SitokromP-450redüktaz</b> Keto-redüktaz Glutatyonyperoksidazlar
Hidroliz	Epoksithidrolaz Karboksiesterazlar Amidazlar

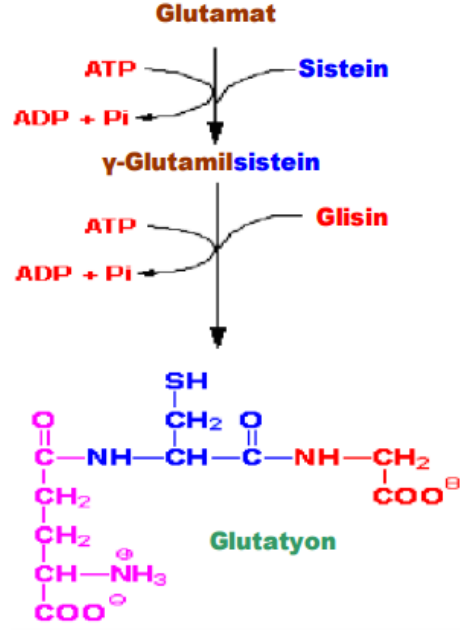
Çizelge 1.2’de ksenobiyotik biyotransformasyonunda yer alan FAZ II reaksiyon tipleri ve başlıca enzimler gösterilmektedir.

**Çizelge 1.2.** FAZ II reaksiyon tipleri ve başlıca enzimler

<b>REAKSİYON TİPLERİ</b>	<b>ENZİMLER</b>
Konjugasyon	Glukuronoziltransferaz Sulfotransferaz <b>Glutatyon S-transferaz</b> Glukoziltransferaz Tiyoltransferaz Amidsentezi (transaçilaz)
Metilasyon	O-,N-,S-metiltransferazlar
Asetilasyon	N-asetiltransferaz Açiltransferaz
Diğerleri	Sülfürtransferaz (rodanez)

## **1.8. Glutatyon ve Glutatyon-S-Transferazlar**

Glutatyon (GSH); glutamik asit, glisin ve sisteinden oluşmaktadır. İntraselüler konsantrasyonu yüksekolan bir tripeptittir. Glutatyon, önemli bir indirgeyici ajandır. Aynı zamanda antioksidandır. Bu özellikleri ile hücrenin oksido-redüksiyon dengesini sürdürüp hücreleri endojen ve ekzojen kaynaklı oksidanların zararlı etkilerinden koruyabilmektedir [135].



Şekil 1.4. Glutatyonun oluşum mekanizması

Ksenobiyotik metabolizmasının çoğunlukla detoksifikasyonla sonuçlanan II. faz reaksiyonlarında glutatyonla (GSH) konjugasyon sonucu; organizma elektrofilik maddelerin ataklarından korunur [76]. Glutatyon protein yapıda olmayan, düşük moleküler ağırlıklı, hücrede milimolar derişimlerde ve çok miktarda bulunarak hücreyi koruma kapasitesi fazlaca yüksek olan bir tiyoldür [77,78].

GST izoenzimleri dokuların oksidatif zarardan korunmasında, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda, ilaç dirençliliğinde, hücre sinyalizasyonunda ve apoptoziste önemli rolü olan çok fonksiyonlu enzim grubudur [76]. Enzimin en fazla aktivite gösterdiği organlar, testis, karaciğer, böbrek, bağırsak ve adrenal bezlerdir [136]. GST enzimlerinin çok büyük kısmı hücrenin sitoplazmasında çözünmüş olarak bulunur [79]. GST enzimlerinin bir kısmı ise endoplazmik retikulumda (mikromazomal) lokalize durumdadır. Sitozolik GST aktivitesinin mikrozomal aktiviteye göre 5 ile 40 kat daha fazla olduğu saptanmıştır [80]. İnsanların birçok doku ve organında bulunan çok işlevli ve geniş spektrumlu substrat özgüllüğü olan GST'ler, toksik kimyasallara maruz kalmış olan canlı organizmalarda savunma görevini üstlenmektedirler. GST'lerdetoksifikasyon görevini, indirgenmiş glutatyonun (GSH), tiyol (-SH) grupları ile elektrofilik fonksiyonel gruba sahip olan ksenobiyotiklerin (oksidatif strese neden olanlar, çevresel kirleticiler ve karsinojenler gibi) büyük bir kısmının elektrofilik bölgelerini nötralize ederek gerçekleştirir.

Oluşan ürün suda çözünen merkaptürik asittir (N-asetilsistein) ve bu ürün vücuttan idrarla dışarıatılır [81].

### 1.8.1. Glutasyon-S-Transferazların Sınıflandırılması

Enzimatik özelliklerine, izoelektrik noktalarına, primer yapılarına, antikorlarla ilişkili reaksiyonlarına, kimyasal affinitelerine, aminoasit dizilerine, yapısal karakteristiklerine ve enzimlerin kimyasal davranışlarına göre GST'ler sitozolik, mikrozomal ve mitokondriyal şeklinde üç aile yapısı içinde sınıflandırılmıştır [139]. Bunlardan alfa, pi, teta, mu, zeta, sigma, ve omega olmak üzere 7 esas gen sınıfı sitozolik GST izoenzimlerini oluşturmakta; eokosanoid ve glutasyon metabolizmasında membrana bağlı proteinler (MAPEG) olarak isimlendirilen mikrozomal GST'ler ve kappa gen sınıfı da mitokondriyal GST'ler olarak tanımlanmaktadır [82, 83].

GST'ler muhtemelen tek bir ortak atadan gelmektedirler ve GST'lerin substrat özgüllüğünün ve farklılıklarının, dublikasyon, gen rekombinasyonu ve mutasyonların birikmesi yolu ile yeniden şekillendiği düşünülmektedir [84].

Çizelge 1.3. İnsan GST İzozimleri Gen Ailesi [131]

Aile	Sınıf	Protein	Eksprese Edildiği Organ
Sitozolik	Alfa	GSTA1	Testis, karaciğer, böbrek, adrenal, pankreas
		GSTA2	Karaciğer, testis, pankreas, böbrek, adrenal, beyin
		GSTA3	Plesanta
		GSTA4	İnce bağırsak, dalak, karaciğer, böbrek, beyin
Sitozolik	Mu	GSTM1	Karaciğer, testis, beyin, adrenal, böbrek, akciğer
		GSTM3	Testis, beyin, incebağırsak, iskelet kası, akciğer
		GSTM4	Beyin, kalp, iskelet kası
		GSTM5	Beyin, kalp, akciğer, testis
Sitozolik	Pi	GSTP1	Beyin, kalp, akciğer, testis, böbrek, pankreas
Sitozolik	Teta	GSTT1	Böbrek, karaciğer, incebağırsak, beyin, prostat
		GSTT2	Karaciğer
Sitozolik	Sigma	GSTS1	Fetal karaciğer, kemik iliği

**Çizelge 1.3. (Devamı) İnsan GST İzozimleri Gen Ailesi [131]**

Aile	Sınıf	Protein	Eksprese Edildiği Organ
Sitozolik	Zeta	GSTZ1	Fetal karaciğer, iskelet kası
Sitozolik	Omega	GSTO1	Karaciğer, kalp, iskelet kası, pankreas, böbrek
		GSTO2	Karaciğer
Mitokondriyal	Kappa	GSTK1	Karaciğer mitekondrisi
		GSTK2	Karaciğer mitekondrisi
Mikrozomal (MAPEG)		MGST1	Karaciğer, pankreas, prostat, kolon, böbrek, beyin
		MGST1	Testis, prostat, incebağırsak, kolon
		MGST2	Karaciğer, iskeletkası, incebağırsak, testis
		MGST3	Kalp, iskeletkası, adrenalbez, tiroid
		LTC4S	Trombosit, akciğer, karaciğer
		FLAP	Akciğer, dalak, timus, ince bağırsak

#### 1.8.1.1. Pi Sınıfı Glutatyon-S-Transferazlar

Glutatyon-S-Transferaz P1 (GSTP1) geni ksenobiyotik metabolizmasının faz II evresinde rol oynayan GST enzim ailesinin temel bir üyesidir [85]. GST'ler arasında ise en yaygın olan Pi sınıfı olarak ifade edilir. Pi genleri arasında GSTP1 tanımlanmıştır. GSTP1 geni insanlarda polimorfiktir [86]. GSTP1' in, ilk olarak 24 insan plasentasında bulunan anyonik GST olduğu ifade edilmiştir. Hatta içinde bulunan P harfi de buradan gelmektedir [87,88].

Yapılan geniş ölçekli çalışmalarda GST P1 enzim miktarının; sigara kullanımı ve maligniteyle ilişkili olduğu alanyazında öne çıkar. GST P1-1 enzimi preneoplatsik ve neoplastik lezyonlarda eksprese edilir. Ayrıca GST P1-1 enziminin; mesane, mide, larenks, ağız, farinks, deri, akciğer ve meme tümörlerinde, normal doku ile karşılaştırıldığında yükseldiği görülmüştür. GST P1-1 enzimleri çok çeşitli kanserlerde uygulanan kemoterapi ve radyoterapiye dirençlilik göstermektedir [89].



### **1.8.1.2. Alpha Sınıfı Glutasyon-S-Transferazlar**

Kromozom 6p12 üzerinde bulunan alpha gen ailesi tarafından eksprese edilen 4 GST izoenzimi tanımlanmıştır. GST A1 ve GST A2 insan dokularında yüksek düzeyde eksprese edilir. Ama ekspresyonları bireysel ve dokusal olarak farklılık göstermektedir [90, 91]. Karaciğer, böbrek ve adrenal dokuda bol miktarda eksprese edilir ve insan karaciğerinde total GST'lerin %80'ininden fazlasını kapsar [92-93].

### **1.8.1.3. Teta Sınıfı Glutasyon-S-Transferazlar**

İnsanlarda GSTT gen ailesi 22. kromozom (22q11) üzerinde olup tanımlanmış iki izoenzimi almaktadır. GSTT1 tarafından kodlanan enzim hem detoksifikasyon hem de biyoaktivasyon reaksiyonlarında rol oynar. Bu enzim monohalometanları ve etilen oksitidetoksifiye ederken, metilen klorürü toksikmetabolitine dönüştürür. GSTT2 ise organik hidroperoksitlere karşı afinitesi vardır. GSTT1 böbrek, karaciğer, ince bağırsak, beyin, prostat gibi dokularda eksprese olurken GSTT2 ise en fazla karaciğerde eksprese olur [94].

### **1.8.1.4. Mu Sınıfı Glutasyon-S-Transferazlar**

GST Mu sınıfı, insanlarda M1'den M5'e kadar numaralanan 5 izoenzimden oluşmaktadır [95]. Ekspresyonları dokular arasında varyasyon gösterir. En yaygın eksprese edilen GSTM1'dir ve kemik, beyin, akciğer, paratiroid, kalp, böbrek, over, uterus gibi organlarda bulunur. GSTM2 iskelet kasında, GSTM3 ise kaslara ilave olarak beyin, akciğer ve testiste bulunur. GSTM4 insan lenfoblastoid hücre soylarında, GSTM5 ise beyinde eksprese edilir [96, 97].

## **1.8.2. Glutasyon-S-Transferazların Biyolojik Rolü**

Glutasyon S-transferazlar (GST), birçok dokuda eksprese edilen ve toksik bileşiklerin, glutation konjugasyonu ile çıkarılabilen hidrofilik metabolitlere dönüşümünü düzenleyen geniş bir enzim ailesidir [98]. Ek olarak, son çalışmalar, GST'lerin, hücre proliferasyonunu ve apoptozini de düzenleyebildiğini, ayrıca apoptoz sinyal düzenleyici kinaz gibi protein kinazların endojen negatif regülatörleri olarak protein-protein etkileşimlerinde partiküle ederek göstermiştir [99-100]. Dahası, GST'ler ayrıca bazı antikanser ilaçları (yani adriamisin, mitoksantron ve

melfalan), inaktive eder ve aşırı ekspresyonunun hastalığın ciddiyetini ve ilerlemesini arttırdığına inanılır [101-102]. Pestisitler, canlı organizmalar için toksik olacak şekilde geliştirilir ve çok çeşitli bileşikler temsil eder. Halojenli alkanlardan, alkenlerden ve diğer çözücülerden üretilenlerin, glutatyon S-transferazlar (GST'ler) ile glutatyon'a konjüge edildikten sonra böbrekte biyoaktivasyon geçirdiği düşünülmektedir [103,104].

### **1.8.3. Glutatyon-S-Transferazlar ve Böbrek Kanseri**

Oksidatif ve elektrofilik stres RCC büyümesinde ve ilerlemesinde kilit bir rol oynar ve insanlar bazı ksenobiyotiklerin ve kanserojenlerin neden olduğu hasarı sınırlamak için bir dizi antioksidan ve enzime sahiptir [105,106]. Glutatyon S-transferazlar (GST'ler) bu detoksifikasyon sürecinde önemli bir rol oynamaktadır [107].

GST'ler böbrekte belirgin bir aktiviteye sahiptir ve eksprese edilir, ancak çok az sayıda çalışma GST'leri RCC'ye duyarlılık olarak kabul etmiştir [108-109].

Bir çalışmada, mesleki pestisit maruziyetleri, RCC riski ve GST genotiplerinin modifikasyonu arasındaki ilişki araştırılmış ve GSTM1 ve GSTT1 ile denekler arasında boş genotipler ile karşılaştırıldığında daha yüksek riskler gözlemlenmiştir [110].

Proksimal tübül berrak hücreli RCC'nin kökenidir [111]. Bu nefron segmentinde, GST-a'nın spesifik ve seçici bir şekilde lokalize olması, bu tür böbrek kanseri ile potansiyel (münhasır olmasa da) bir ilişki olduğunu gösterir. Buna karşılık, GST-P, distal nefronda eksprese edilir [112,113] ve ekspresyonunun, insan böbrek tümörlerinin çoğunda arttığı iyi bilinmektedir [113,114].

Bir başka çalışmada, GST-pi ekspresyonu 60 formalinle fikse edilmiş, parafine gömülmüş renal hücreli karsinom numunesinde immünohistokimya ile analiz edilmiştir ve böbreklerin eşleşmiş normal bölgeleriyle karşılaştırılmıştır. Berrak hücreli karsinomun %87'sinde ve papiller alt tiplerinin %50'sinde belirgin bir şekilde yüksek GST-pi ekspresyonu gözlenmiştir [115].

### **1.8.4. P38'in Apoptozla İlişkisi**

Birçok hücre dışı uyarana yanıt olarak hücresel davranışa MAP kinaz sinyal yolları aracılık eder [116]. MAPK, hücresel strese ve sitokinlere duyarlı olduğu için p38,

stresle aktive olan bir protein kinazdır (MAPK) [117,118]. p38, hücre proliferasyonu, farklılaşması, stres yanıtı, apoptoz ve hücre göçü ve hayatta kalması dahil olmak üzere çoklu hücre fonksiyonları, çok sayıda substrat ile etkileşime girerek düzenleyen çok görevli bir kinazdır [149,150]. Memelilerde dört izoformla (p38 $\alpha$ , p38 $\beta$ , p38 $\gamma$  ve p38 $\delta$ ) temsil edilen p38 MAP kinazı, MAP kinazlarının dört ana alt grubundan biridir.

Son çalışmalar, çeşitli anti-kanser ajanları tarafından başlatılan kanser hücresi ölümü için p38 aktivasyonunun gerekli olduğunu göstermektedir. Kanser hücresi apoptozunun p38 aktivasyonu çok karmaşık bir süreç olmasına rağmen, son çalışmalar kanıtlanmış tedavilerin etkinliğini artıracak ve toksisitesini azaltacak yeni stratejiler için iyi bir başlangıç noktası olduğunu göstermektedir [116]. p38 tümörjenik hücrelerde metastatik davranış ve güçlü tümör büyümesi ile birlikte hızlı bir şekilde inaktive edilir [151]. p38'in inflamatuvar hastalığındaki rolü, başlangıçta bir sitokin indükleyicisi olarak tanımlandığından beri takdir edilmiştir [119]. Daha yakın zamanlarda, p38 işlevi in vivo olarak değerlendirildi ve bu çalışmalar yoluyla p38, hem embriyonik gelişimin hem de kanser ilerlemesinin önemli bir düzenleyicisi olarak ortaya çıktı [120].

## 1.9. Çalışmanın Amacı

Yapılması planlanan bu projede, tüm dünyada yaygın olarak karşılaşılan, multifaktöriyel bir gelişim gösteren böbrek tümörü dokularında oksidatif stresin ilişkili olduğu bilinmektedir. Ksenobiyotik mekanizmasında önemli rol oynayan tümör supressor geni olan p38 ile II. faz reaksiyonlarını katalizleyen Glutasyon S-Transferaz (GST) enzim sisteminin üyelerinden GSTPi ve GSTSigma (GSTSi) izozimlerinin böbrek tümörü ile ilişkisi bu çalışmayla araştırılacaktır.

Normal şartlar altında hücreler zamanı geldiğinde ölmelidirler. Bunu sağlayan fizyolojik işlem programlı hücre ölümü, yani apoptozisdir. Kanserli hücrelerde ise bu işlev yapıcı bozulmaktadır [147]. Apoptozu başlatan ya da inhibe eden başlıca proteinler p53, bcl-2 ve kaspaz-3 dür. P38 MAPK yolağında başlatıcı rolü olan ve büyüme faktörlerinin etkisiyle hücrede artış gösteren apoptotik proteindir [148]. Bcl-2 gen ailesinin önemi, apoptoz düzeyleri ve böbrek hücreli karsinomun gelişiminde ve ilerlemesinde hücre proliferasyonu ile ilgili literatürler mevcuttur. Buna göre,

böbrek tümöründe, Bcl-2 ve/veya Bcl-XL ekspresyonunun artarak, kanserin ilerlemesine ve tedavilere karşı dirence yardımcı olabilmektedir. p53 apoptozu uyarıcı bir proteindir. Birçok anti-tümör ilaç, hedef olarak hücre DNA'sını seçer ve p53 seviyesini artırır. Bu aktivasyon ya hasarın tamirine ya da apoptoza yol açar. p53, genomun içeriğini sürdürerek görev yapar.

Glutasyon S-Transferaz (GST) enzim ailesi, ksenobiyotiklerin zararlı etkilerini zararsız hale getirerek vücuttan elimine edilmesini sağlayan Faz II reaksiyonlarını oluşturan detoksifikasyon metabolizmasında bir enzim sistemini oluşturur. GST enzimleri, elektrofilik substratların glutasyon ile konjugasyonunu katalize eder, bu da genellikle reaktif ara maddelerin detoksifikasyonuna yol açar. GST'ler böbrekte belirgin bir aktiviteye sahiptir ve eksprese edilir. Böbrek tümöründe, GST ekspresyonları literatürde az sayıda çalışmada gösterilmiştir. Böbrek kanseri en ölümcül ürolojik kanserlerden biridir. Hem radyoterapiye hem de kemoterapiye karşı oldukça dirençlidir. Hastaların çoğu tanı anında böbreğin ötesinde metastaz geliştirdiğinden sağkalım oranları çok düşüktür. Oksidatif stres böbrek tümörünün büyümesinde ve ilerlemesinde kilit bir rol oynar ve insanlar bazı ksenobiyotiklerin ve kanserojenlerin neden olduğu hasarı belirlemek için bir dizi antioksidan enzime sahiptir. Glutasyon S-transferazlar (GST'ler) bu detoksifikasyon sürecinde önemli bir rol oynamaktadır. GST'nin önemi birçok ksenobiyotiğin biyotransformasyonu ve detoksifikasyonunda yatmaktadır. Bununla birlikte, işlevi ayrıca güçlü kanserojenlerin aktivasyonuna, böbrek tümörlerinin indüklenmesine ve kemoterapötik ilaçlara direnç geliştirilmesine de yol açabilir. Glutasyon S-transferazlar (GST) si ve -pi, toksik metabolitlerin renal biyoaktivasyonunda rol oynarlar.

Bu amaçla; 2013-2020 yıllarında Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Patoloji bölümünde 38 ayrı böbrek tümörü vakasına ait parafine gömülü doku örneklerine Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Patoloji bölümü laboratuvarında Immunohistokimyasal yöntem uygulanarak GST-Pi, GST-Si ve p38 proteinlerinin tayin edilmesine yönelik çalışma yapılarak sonuçlar değerlendirilecektir. Elde edilen veriler ShapiroWilk ve Kolmogorov-Smirnovtestleri ile analiz edilecektir (SPSS V.25.0). Gerekli klinik bilgileri olmayan hastalar çalışma dışı bırakılacaktır.

## 2. MATERYAL VE METOD

### 2.1. Materyal

#### 2.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Primer Antikor (GSTA, GSTM4, GSTP, GSTT1, P53)
- Sekonder Antikor (Biotinylatedsecondary antikor), (Dako)
- TBS buffer (Thermo, USA)
- %30' luk H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Solusyonu (Sigma)
- Ksilol (Merck)
- Etanol (Merck, Almanya)
- Metanol (Merck, Almanya)
- Sodyum sitrat (Sigma)
- Sitrik asit (Sigma)
- Protein Blokajı (Normal Swine Serum, Normal GoatSerum) (Dako)
- ABC HRP (AvidinBiotinComplexHorseRadishPeroxidase), (Dako)
- Hematoksilen (Shandon)
- DAB (Diaminobenzidin) (Dako)

#### 2.1.1.1. Solüsyonların Hazırlanışı

##### I. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Blokajı Solüsyonunun Hazırlanışı:

30 ml %30'luk H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üzerine 470 ml metanol ilave edilerek hazırlandı.

##### II. Antijen Retrieval Solüsyonunun Hazırlanışı (0,01 M, pH: 6.0):

2,101 gr sitrik asit (A) 100ml distile suda; 0,1 M 14,7 gr. sodyumsitrat (B) 500ml distile suda; çözüldü. 9 ml A solusyonundan, 41 ml B solusyonundan alınarak 500 ml'ye distile su ile tamamlandı.

##### III. 0,005 M Tris Tamponunun Hazırlanışı:

60,55 gr trisbase, 85,20 gr NaCl 500 ml distile suda çözülür. 370 ml 1 M HCl eklenerek pH: 7,6' ya getirilip 1lt'ye tamamlanır. (1 ml TBS 100ml distile suyla seyreltilerek kullanılır.)

## 2.1.2 Kullanılan Cihazlar

- Etüv
- -20'lik derin dondurucu ve buzdolabı
- pH-metre
- Vortex
- Rotatör
- Düdüklü tencere
- Isıtıcı
- Fotoğraf makinesi
- Terazı
- Işık mikroskop

## 2.2. Kullanılan Yöntemler

### 2.2.1. Materyal Kazanımı

Çalışma kapsamında Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurulu tarafından 2012-KAEK-15/2272 numaralı etik kurul onayı doğrultusunda, yine Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji arşivinden alınan formalinle fikse edilmiş, parafine gömülmüş renal hücreli karsinom numunesinde 2013-2020 yılları arasında Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesine başvuran ve böbrek kanseri tanısı konmuş 25 erkek ve 13 kadın olmak üzere 38 hastadan alınan böbrek tümörlü ve normal doku (tümöre uzak) örnekleri yer almaktadır.

Hastalara ait yaş, cinsiyet, evre, grade, alkol ve sigara kullanım durumu, mesleki maruziyet ilgili hasta bilgileri **Çizelge 2.1**'de verilmiştir.

**Çizelge 2.1.** Hastalara ait klinik ve demografik veriler

Yaş	Cinsiyet	Evre	Grade	Alkol	Sigara	Mesleki Maruziyet
55	KADIN	I	1	YOK	YOK	YOK
76	KADIN	I	1	YOK	YOK	YOK
67	ERKEK	I	3	VAR	VAR	YOK
68	KADIN	I	3	YOK	YOK	YOK
43	ERKEK	I	1	YOK	VAR	YOK
55	KADIN	II	2	YOK	YOK	YOK
69	ERKEK	I	1	YOK	YOK	YOK
44	ERKEK	I	2	VAR	YOK	YOK
77	ERKEK	II	2	YOK	YOK	YOK
53	ERKEK	I	2	YOK	VAR	YOK
51	KADIN	I	2	YOK	YOK	YOK
55	KADIN	I	2	YOK	YOK	YOK
29	KADIN	I	2	YOK	YOK	YOK
29	KADIN	II	2	YOK	YOK	YOK
55	ERKEK	I	1	YOK	YOK	YOK
60	ERKEK	I	1	YOK	YOK	YOK
79	ERKEK	I	2	YOK	YOK	YOK
45	ERKEK	I	2	YOK	VAR	YOK
55	ERKEK	I	2	YOK	YOK	YOK
55	ERKEK	II	2	YOK	YOK	YOK
73	KADIN	I	1	YOK	VAR	YOK
74	ERKEK	I	1	YOK	YOK	YOK
57	KADIN	I	1	YOK	YOK	YOK
51	ERKEK	başkamerk'e gönderilmiş		YOK	YOK	YOK
53	ERKEK	I	1	VAR	VAR	YOK
53	KADIN	I	1	YOK	YOK	YOK
53	ERKEK	I	1	YOK	VAR	YOK
71	ERKEK	II	2	YOK	YOK	YOK
71	ERKEK	IV	4	YOK	VAR	YOK
63	ERKEK	I	2	YOK	VAR	YOK
65	ERKEK	I	2	YOK	YOK	YOK
70	ERKEK	III	2	YOK	VAR	YOK
58	ERKEK	I	2	VAR	VAR	YOK
43	ERKEK	I	2	VAR	VAR	YOK
60	ERKEK	I	1	YOK	YOK	VAR
52	KADIN	I	2	YOK	YOK	YOK
66	KADIN	III	4	YOK	YOK	YOK
71	ERKEK	II	2	VAR	VAR	YOK

## 2.2.2. İmmünohistokimya Prosedürü [146]

### I. Dokuların Deparafinizasyonu

- 1] Etüvde 70C'de 1 saat bekletildi.
- 2] Isınmış ksilolde 10 dakika bekletildi.
- 3] Etüvden çıkarıldıktan sonra oda sıcaklığında soğuma işlemi için 10 dakika bekletildi.
- 4] -Absolü alkolde 1dakika
  - Absolü alkolde 1dakika
  - Absolü alkolde 1 dakika
  - Distile suda 1-2 dakika bekletildi.

### I. Basamak

- 1] H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> blokajı ile endojen peroksidoz aktivitesinin inhibisyonu(10 dakika)
- 2] Çeşme suyunda 5 dakika bekletildi.
- 3] TBS'e batırılıp, çıkarıldı.
- 4] Antigen Retrieval Solusyonu içinde düdüklü tencerede 3 dakika kaynatıldı.
- 5] "Protein Blocking Solution" ile non spesifik boyanma inhibisyonu için uygulandı (30 dakika)
- 6] Primer antikor uygulandı (60 dakika)
- 7] TBS ile 3defa yıkama yapıldı ve her yıkamada 5 dakika bekletildi.
- 8] Sekonder antikor uygulandı (60 dakika)
- 9] TBS ile yıkandı (3x5 dakika)
- 10] Streptavidin-peroksidaz kompleksi uygulandı (30 dakika)
- 11] TBS ile yıkandı (3x5dakika)
- 12] DAB (10 dakika uygulandı)
- 13] Distile H<sub>2</sub>O (1 dakika)



## **II. Basamak: Hematoksilen Boyaması**

- 1] Hemotoksilen 1dakika
- 2] Distile H<sub>2</sub>O 1 dakika
- 3] Absolü Alkol1 dakika
- 4] Absolü Alkol 1 dakika
- 5] Absolü Alkol 1 dakika
- 6] Absolü Alkol-ksilol 1dakika
- 7] Ksilol 1 dakika

Poly-L-lysin kaplı lamlara alınan doku kesitleri deparafinizasyon işleminden sonra immünohistokimya (IHC) yöntemi ile GSTP (1:750), GSTS(1:100) ve P38(1:50) antiserumları (antikorları) bölüm 2.2.2.'de ayrıntılı olarak açıklanan prosedüre göre boyandı. IHC uygulanan preparatlar ışık mikroskobunda boyanma şiddetine ve boyanma yüzdelere bakılarak patolojla birlikte değerlendirmeleri yapıldı ve fotoğrafları çekildi.

Değerlendirmede boyanma şiddeti için; boyanma olmaması durumu (-), zayıf boyanma (1+), orta şiddette boyanma (2+), şiddetli boyanma (3+) olarak; boyanma yüzdesi için hücrelerin, %0 için boyanma yok, %0-10 için (1+), %11-50 için (2+) ve >%50 için (3+) olarak değerlendirme yapıldı.

### **2.2.3. İstatistiksel Analiz**

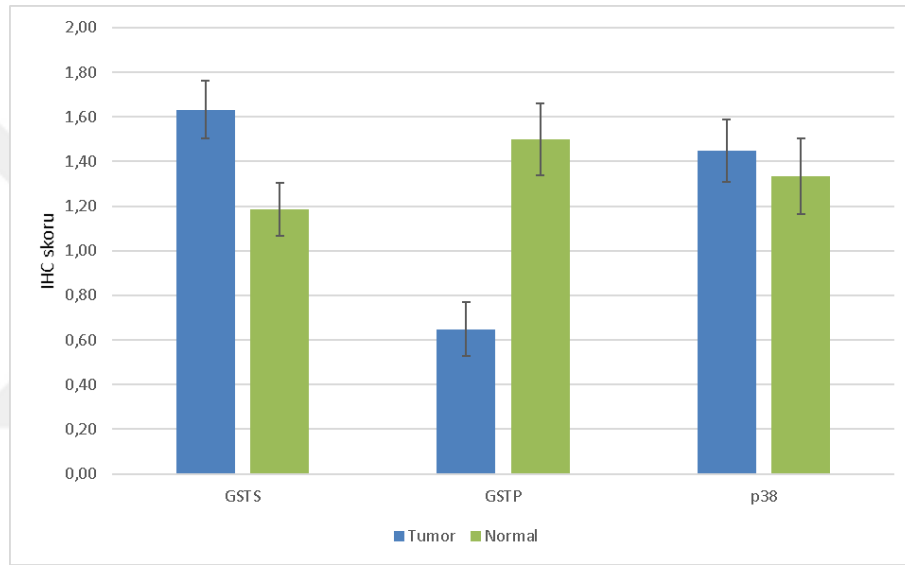
İstatistiksel analizler SPSS V.25.0 programı ile yapılmıştır. Çalışma grubumuza ait sayısal değişkenler ortalama±standart hata olarak, kategorize edilen değişkenler ise betimleyici istatistiklerle hasta sayısı (n) ve yüzde (%) olarak ifade edilmiştir. Sayısal değişkenlerin dağılımlarını incelemek amacıyla ShapiroWilk ve Kolmogorov-Smirnov testleri kullanıldı. Varyansların homojenliği Levene testi ile değerlendirilmiştir. Parametrik test varsayımlarının sağlanmadığı ikili bağımsız değişkenler için Man-Whitney U testi kullanıldı. Parametrik test varsayımlarının sağlanmadığı ikiden fazla bağımsız değişken arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi amacıyla Kruskal Wallis testi kullanıldı. Nonparametrik sürekli sayısal değişkenlerin arasındaki ilişki Spearman'ın sıra korelasyonları testiyle değerlendirildi.  $p < 0.05$  düzeyindeki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



### 3. ARAŞTIRMA BULGULARI

#### 3.1. P38 ve GST İzozimlerinin Normal ve Kanserli Böbrek Dokularındaki Dağılımı

Tümör ve normal dokuların GSTS, GSTP ve p38 ekspresyonları **Grafik 3.1**'de şematize edilmiştir. Tümör dokularında GSTS ve p38 ekspresyonlarının normal dokulardan yüksek olduğu görülmüştür. GSTP ekspresyonu ise normal dokularda tümör dokulardan yüksek bulunmuştur.



**Grafik 3.1.** Tümör ve normal dokuların GSTS, GSTP ve p38 ekspresyonları

Tümör ve normal dokularının GST-S, GST-P ve p38 ekspresyonları arasında korelasyon analizi yapıldı (**Tablo 3.1.**). Tümör dokularının GST-S ekspresyonları p38 ekspresyonları arasında pozitif yönlü ve anlamlı bir korelasyon bulundu ( $p<0.05$ ). Tümör dokularının GST-S ekspresyonları ile normal dokuların GST-P ekspresyonları arasında pozitif yönlü ve anlamlı bir korelasyon bulundu ( $p<0.05$ ). Tümör ve normal dokuların GST-P ekspresyonları arasında da pozitif yönlü ve anlamlı bir korelasyon bulundu ( $p<0.05$ ). Ayrıca yaş artışıyla normal ve tumor dokularının GST-S, GST-P ve p38 ekspresyonları arasında korelasyon analizi yapıldı. Yaş ile normal ve tumor dokularının GST-S, GST-P ve p38 ekspresyonları arasında anlamlı bir korelasyon bulunmadı ( $p>0.05$ ).

**Tablo 3.1.** Tümör ve normal dokuların GST-S, GST-P ve p38 ekspresyonları arasındaki korelasyon analizleri

Özellik	GST-S Normal	GST-S tumor	GST-P normal	GST-P tumor	P38 normal	p38 tumor
<b>GST-S Tumor</b>						
Korelasyon katsayısı	,181	1,000	,439*	,300	,304	,360*
p-değeri	,367	.	,025	,071	,124	,027
N	27	38	26	37	27	38
<b>GST-P Tumor</b>						
Korelasyon katsayısı	-,222	,300	,407*	1,000	,084	,137
p-değeri	,276	,071	,044	.	,685	,419
N	26	37	25	37	26	37
<b>p38 tumor</b>						
Korelasyon katsayısı	-,105	,360*	,251	,137	,084	1,000
p-değeri	,601	,027	,216	,419	,678	.
N	27	38	26	37	27	38
<b>Yaş</b>						
Korelasyon katsayısı	-,370	-,090	-,034	,266	-,167	-,154
p-değeri	,057	,591	,870	,111	,404	,357
N	27	38	26	37	27	38

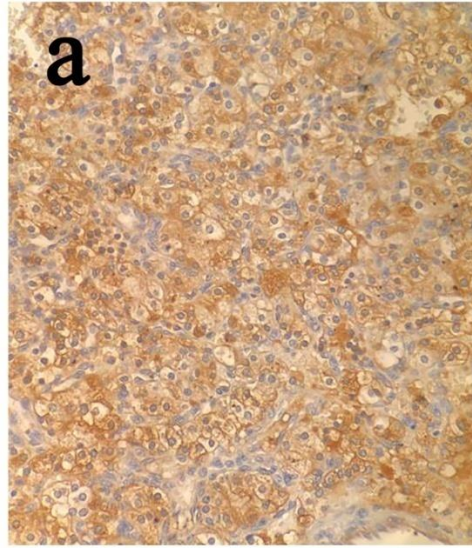
### 3.1.1. GST İzozimlerinin Dağılımları

Tümör ve normal dokuların immünohistokimyasal GST-S ekspresyon düzeyleri **Tablo 3.2'de** gösterildi. Tümör dokularının %39,5'inde zayıf, %42,1'inde orta, %13,2'sinde güçlü pozitif ekspresyon görüldü. Tümör dokularının GST-S ekspresyonu normal dokulardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu ( $p=0.022$ ;  $p<0.05$ ).

**Tablo 3.2.** Tümör ve normal dokuların GST-S ekspresyon düzeyleri

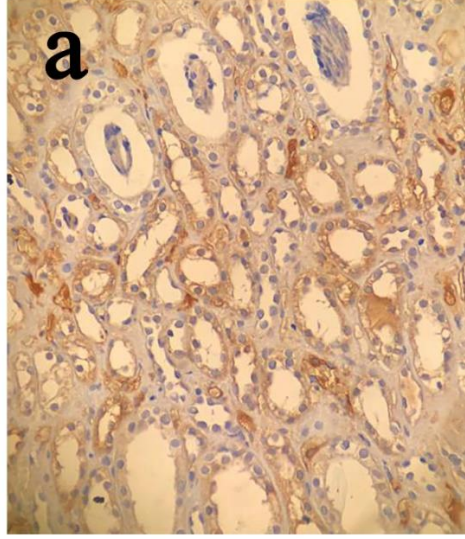
Boyama Skoru	GST-S	
	Tumor (n=38)	Normal (n=27)
0	2/38 <sup>a</sup>	3/27 <sup>a</sup>
1	15/38 <sup>a</sup>	16/27 <sup>a</sup>
2	16/38 <sup>a</sup>	8/27 <sup>a</sup>
3	5/38	-
Ortalama	1.63 ± 0.13 <sup>b</sup> (0-3) <sup>c</sup>	1.19 ± 0.12 <sup>b</sup> (0-2) <sup>c</sup>
p-değeri	<b>0,022</b>	
T/N değeri	1.37	

Boyama skorları dokuların boyanma yoğunluğuna göre belirlendi. 0: negatif boyanma, 1: zayıf pozitif boyanma, 2: orta pozitif boyanma, 3: güçlü pozitif boyanma.  
(\*). İstatistiksel olarak anlamlı farklılık ( $p < 0.05$ ), a: Belirtilen düzeyde boyanan numune sayısı /Gruptaki toplam numune sayısı, b: Ortalama boyanma düzeyi ± SEM, c: En düşük boyanma düzeyi - En yüksek boyanma düzeyi



**Şekil 3.1.** Böbrek tümör dokularında immünohistokimyasal GSTSi proteini.

a. Güçlü şiddette (+3) GSTSi proteinin ifadesi.



**Şekil 3.2.** Böbrek normal dokularında immünohistokimyasal GSTSi proteini.

a. Orta şiddette (+2) GSTSi proteinin ifadesi

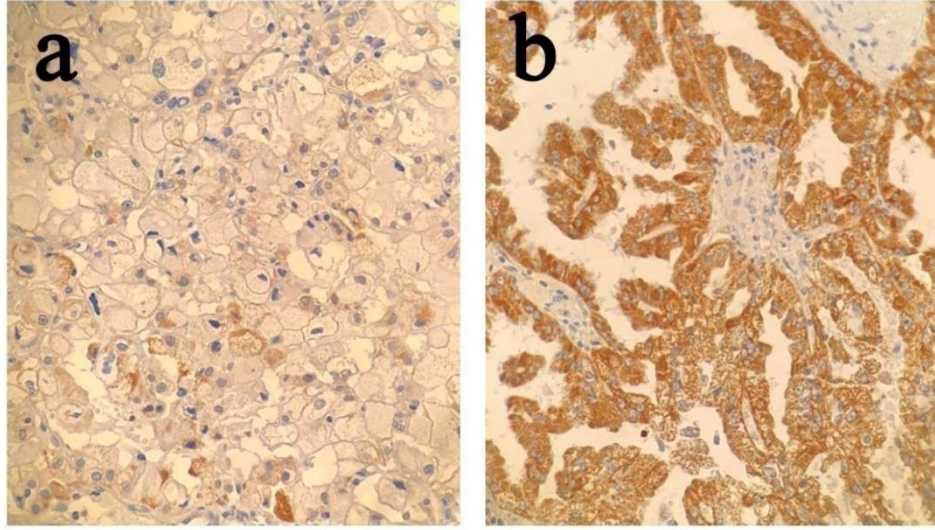
Tümör ve normal dokuların immünohistokimyasal GST-P ekspresyon düzeyleri **Tablo 3.3'de** gösterildi. Tümör dokularının %45,9'unda zayıf, %5,4'ünde orta, %2,7'sinde güçlü pozitif ekspresyon görüldü. Normal dokuların GST-P ekspresyonu tümör dokulardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu ( $p < 0.001$ ).

**Tablo 3.3.** Tümör ve normal dokuların GST-P ekspresyon düzeyleri

Boyama Skoru	GST-P	
	Tümör (n=37)	Normal (n=26)
0	17/37 <sup>a</sup>	3/26 <sup>a</sup>
1	17/37 <sup>a</sup>	9/26 <sup>a</sup>
2	2/37 <sup>a</sup>	12/26 <sup>a</sup>
3	1/37 <sup>a</sup>	2/26 <sup>a</sup>
<b>Ortalama</b>	0.65 ± 0.12 <sup>b</sup> (0-3) <sup>c</sup>	1.50 ± 0.16 <sup>b</sup> (0-3) <sup>c</sup>
<b>p-değeri</b>	<b>0,000</b>	
<b>N/T değeri</b>	2.31	

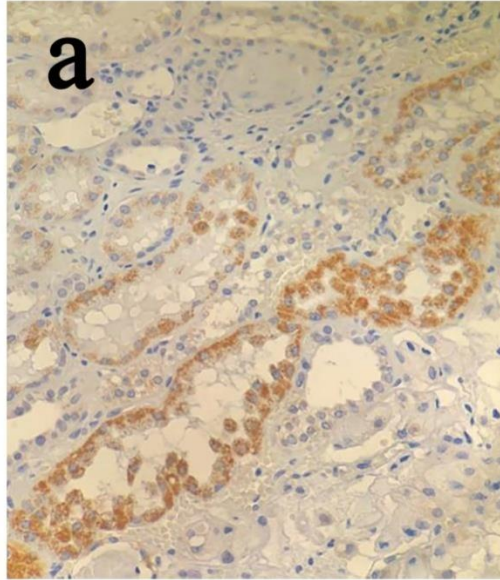
Boyama skorları dokuların boyanma yoğunluğuna göre belirlendi. 0: negatif boyanma, 1: zayıf pozitif boyanma, 2: orta pozitif boyanma, 3: güçlü pozitif boyanma.

(\*) İstatistiksel olarak anlamlı farklılık ( $p < 0.05$ ), a: Belirtilen düzeyde boyanan numune sayısı /Gruptaki toplam numune sayısı, b: Ortalama boyanma düzeyi ± SEM, c: En düşük boyanma düzeyi- En yüksek boyanma düzeyi



**Şekil 3.3.** Böbrek tümör dokularında immünohistokimyasal GSTP1 proteini.

- a. Zayıf şiddette (+1) GSTP1 proteinin ifadesi
- b. Güçlü şiddette (+3) GSTP1 proteinin ifadesi



**Şekil 3.4.** Böbrek normal dokularında immünohistokimyasal GSTP1 proteini.

- a. Orta şiddette (+2) GSTP1 proteinin ifadesi

### 3.1.2. P38 Doku Dağılımı

Tümör ve normal dokuların immünohistokimyasal p38 ekspresyon düzeyleri **Tablo 3.4.’te** gösterildi. Tümör dokularının %50’sinde zayıf, %23.7’sinde orta, %15.8’inde güçlü pozitif ekspresyon görüldü. Tümör dokularının p38 ekspresyonu normal

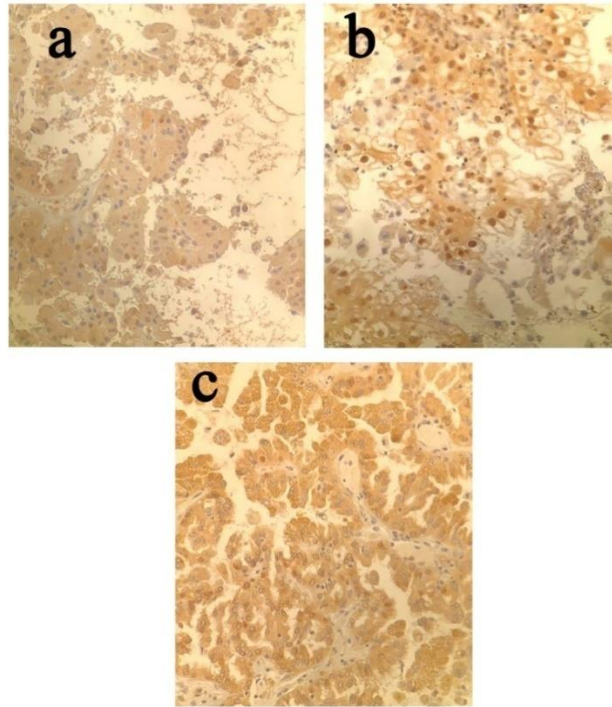
dokulardan yüksek bulundu. Ancak gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0.05$ ).

**Tablo 3.4.** Tümör ve normal dokuların p38 ekspresyon düzeyleri

Boyama Skoru	p38	
	Tumor (n=38)	Normal (n=27)
0	4/38 <sup>a</sup>	5/27 <sup>a</sup>
1	19/38 <sup>a</sup>	10/27 <sup>a</sup>
2	9/38 <sup>a</sup>	10/27 <sup>a</sup>
3	6/38 <sup>a</sup>	2/27 <sup>a</sup>
Ortalama	1.45 ± 0.14 <sup>b</sup> (0-3) <sup>c</sup>	1.33 ± 0.17 <sup>b</sup> (0-3) <sup>c</sup>
p-değeri	0,744	

Boyama skorları dokuların boyanma yoğunluğuna göre belirlendi. 0: negatif boyanma, 1: zayıf pozitif boyanma, 2: orta pozitif boyanma, 3: güçlü pozitif boyanma.

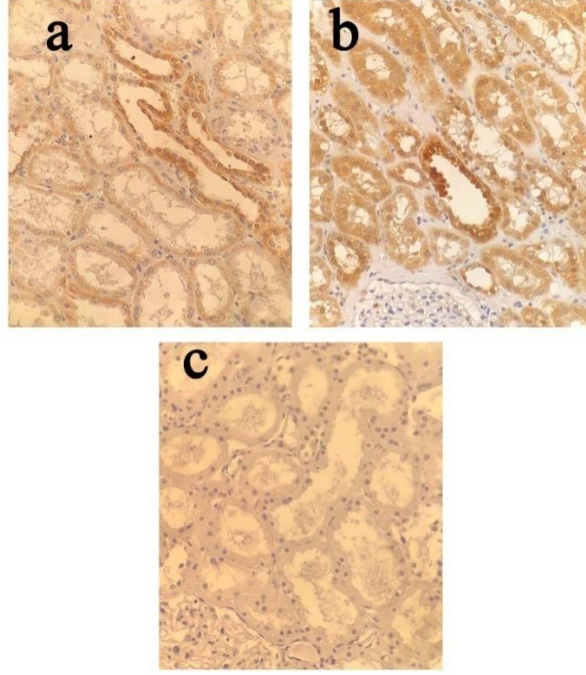
(\*) İstatistiksel olarak anlamlı farklılık ( $p<0.05$ ), a: Belirtilen düzeyde boyanan numune sayısı /Gruptaki toplam numune sayısı, b: Ortalama boyanma düzeyi ± SEM, c: En düşük boyanma düzeyi - En yüksek boyanma düzeyi



**Şekil 3.5.** Böbrek tümör dokularında immünohistokimyasal p38 proteini.

- Zayıf şiddette (+1) p38 proteinin ifadesi
- Orta şiddette (+2) p38 proteinin ifadesi
- Güçlü şiddette (+3) p38 proteinin ifadesi





**Şekil 3.6.** Böbrek normal dokularında immünohistokimyasal p38 proteini.

- a. Zayıf şiddette (+1) p38 proteinin ifadesi
- b. Güçlü şiddette (+3) p38 proteinin ifadesi
- c. Negatif (0) p38 proteinin ifadesi

### **3.2. P38 ve GST İzozimlerinin Klinik Verilerle Karşılaştırılması**

Hastaların klinik verileri **Tablo 3.5'de** özetlendi. Patolojiler değerlendirildiğinde dokuların %57,9'unun berrak hücreli RCC, %15,8'inin Papiller RCC, %7,9'unun Kromofob RCC olduğu görüldü. Evreler incelendiğinde dokuların %73,7'ünün Evre I, %15,8'inin Evre II olduğu belirlendi. Grade açısından değerlendirilme yapıldığında dokuların %52,6'sının Grade 2, %34,2'sinin Grade 1 olduğu tespit edildi.

**Tablo 3.5.** Hastaların klinik verileri

Değişken	Kategori	Sayı (%)
Patoloji	Anjiyomiyolipon	1 (%2.6)
	Berrak hücreli RCC	22 (%57.9)
	Kromofob RCC	3 (%7.9)
	Papiller hücreli RCC	2 (%5.3)
	Papiller RCC	6 (%15.8)
	RCC	2 (%5.3)
	Şeffaf hücreli RCC	2 (%5.3)
	Toplam	38 (%100)
Evre	I	28 (%73.7)
	II	6 (%15.8)
	III	2 (%5.3)
	IV	1 (%2.6)
	Veri yok (missing)	1 (%2.6)
	Toplam	38 (%100)
Grade	1	13 (%34.2)
	2	20 (%52.6)
	3	2 (%5.3)
	4	2 (%5.3)
	Veri yok (missing)	1 (%2.6)
	Toplam	38 (%100)

Dokuların evresi, gradesi ve tümör çapı ile GST-S, GST-P ve p38 ekspresyonları arasında korelasyon analizi yapıldı. Ayrıca doku özellikleriyle hastaların yaşı arasında korelasyon analizi yapıldı (**Tablo 3.6.**). Tümör özellikleri ile ekspresyonlar arasında anlamlı bir korelasyon bulunmadı ( $p>0.05$ ). Tümörün evresiyle, grade'i arasında pozitif yönlü ve anlamlı bir korelasyon bulundu ( $p<0.01$ ). Tümörün evresiyle çapı arasında pozitif yönlü ve anlamlı bir korelasyon olduğu görüldü ( $p<0.01$ ). Hastaların yaşı ile tümör çapı arasında pozitif yönlü ve anlamlı bir korelasyon olduğu görüldü ( $p<0.05$ ).

**Tablo 3.6.** Tümör dokularının özellikleri ile GST-S, GST-P ve p38 ekspresyonları arasındaki korelasyon analizleri

Özellik	GST-S	GST-P	p38	Evre	Grade	Yaş
<b>Evre</b>						
Korelasyon katsayısı	-,171	-,048	-,182	1,000	,465**	,281
p-değeri	,312	,781	,282	.	,004	,092
N	37	36	37	37	37	37
<b>Grade</b>						
Korelasyon katsayısı	,105	-,053	-,223	,465**	1,000	,058
p-değeri	,535	,760	,184	,004	.	,734
N	37	36	37	37	37	37
<b>Tumor çapı</b>						
Korelasyon katsayısı	,018	,190	-,136	,421**	,193	,343*
p-değeri	,916	,266	,421	,009	,253	,038
N	37	36	37	37	37	37

(\* ) İstatistiksel olarak anlamlı farklılık (p<0.05)

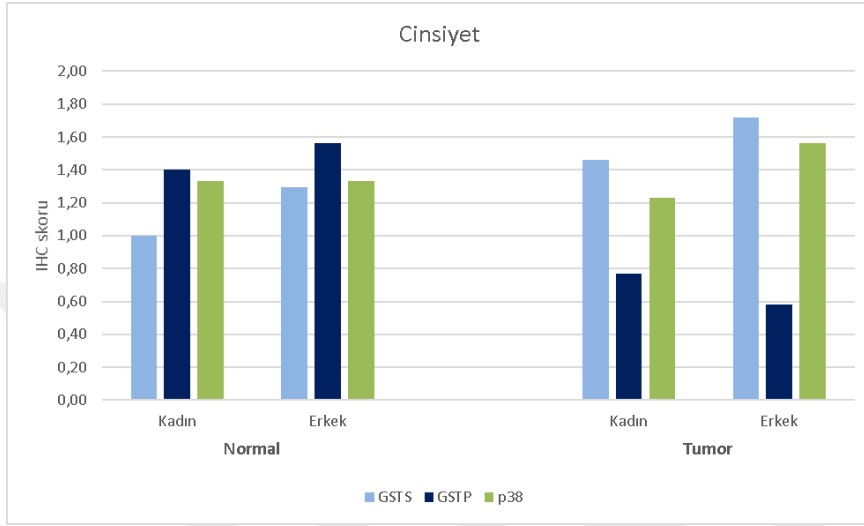
(\*\* ) İstatistiksel olarak anlamlı farklılık (p<0.01)

### 3.3. P38 ve GST İzozimlerinin Demografik Verilerle Karşılaştırılması

**Tablo 3.7.** Hastaların demografik verileri

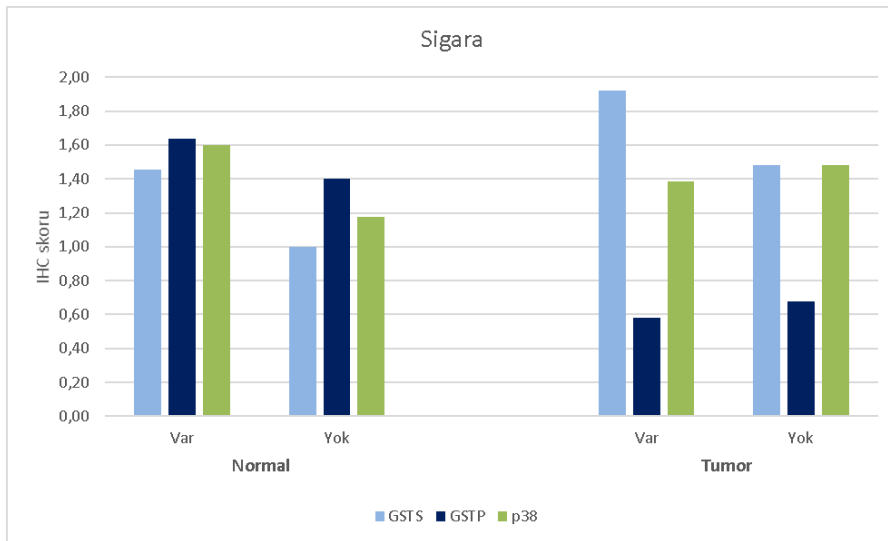
Değişken	Kategori	Sayı (%)
Yaş (yıl)	<55	13 (%34.2)
	≥55	25 (%65.8)
	Toplam	38 (%100)
Cinsiyet	Kadın	13 (%34.2)
	Erkek	25 (%65.8)
	Toplam	38 (%100)
Sigara	Var	13 (%34.2)
	Yok	25 (%65.8)
	Toplam	38 (%100)
Alkol	Var	6 (%15.8)
	Yok	32 (%84.2)
	Toplam	38 (%100)
Mesleki maruziyet	Var	1 (%2.6)
	Yok	37 (%97.4)
	Toplam	38 (%100)

Hastaların demografik verileri **Tablo 3.7.’de** özetlendi. Hastaların ortalama yaşı  $58.53 \pm 1,97$  yıl olarak bulundu. Hastaların %34,2’si 55 yaşından küçük, %65,8’i 55 yaşına eşit ya da büyük olduğu görüldü. Hastaların %34,2’si kadın, %65,8’i erkektir. Hastaların %34,2’si sigara, %15,8’i alkol kullandığını bildirdi. Mesleki maruziyetin yalnızca 1 hastada mevcut olduğu belirlendi (%2,6).



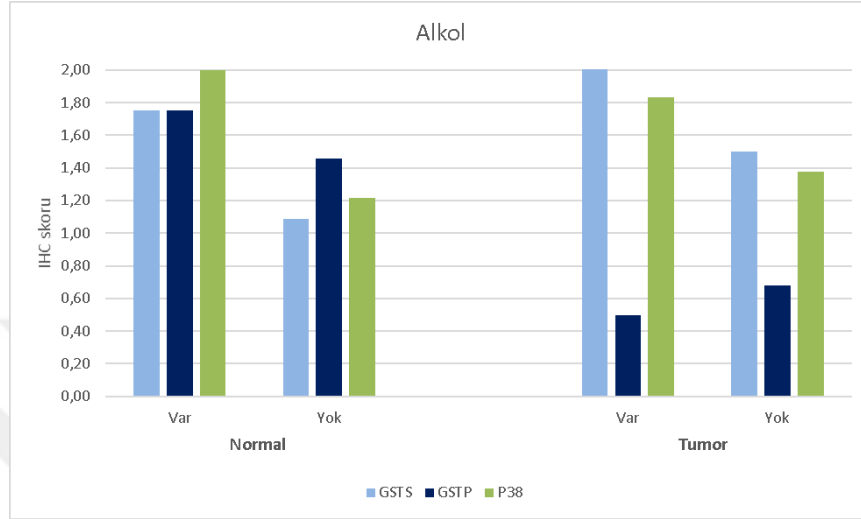
**Grafik 3.2.** Tümör ve normal dokuların cinsiyete göre GSTS, GSTP ve p38 ekspresyonları

Tümör ve normal dokuların cinsiyete göre GSTS, GSTP ve p38 ekspresyonları **Grafik 3.2’de** gösterilmiştir. Normal dokularda GSTS ve GSTP ekspresyonlarının, tümör dokularında ise GSTS ve p38 ekspresyonlarının erkeklerde daha yüksek olduğu görülmüştür.



**Grafik 3.3.** Sigara kullanımına göre tümör ve normal dokuların GSTS, GSTP ve p38 ekspresyonları

Tümör ve normal dokuların sigara kullanımına göre GSTS, GSTP ve p38 ekspresyonları **Grafik 3.3'de** gösterilmiştir. Sigara kullananlardan alınan normal dokularda GSTS, GSTP ve p38 ekspresyonlarının, sigara kullanmayanlara göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Sigara kullanan hastaların tümör dokularında GSTS ekspresyonlarının sigara kullanmayanlara göre daha yüksek olduğu görülmüştür.



**Grafik 3.4.** Alkol kullanımına göre tümör ve normal dokuların GSTS, GSTP ve p38 ekspresyonları Alkol kullanımına göre tümör ve normal dokuların GSTS, GSTP ve p38 ekspresyonları **Grafik 3.4'de** gösterilmiştir. Alkol kullananlardan alınan normal dokularda GSTS, GSTP ve p38 ekspresyonlarının, alkol kullanmayanlara göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Alkol kullanan hastaların tümör dokularında GSTS ve p38 ekspresyonlarının, alkol kullanmayanlara göre daha yüksek olduğu görülmüştür.



## 4. TARTIŞMA VE SONUÇ

En yaygın yetişkin renal neoplazmı olan renal hücreli karsinom (RHK), kanserlerin yaklaşık % 3'ünü ve kansere bağlı tüm ölümlerin % 2'sini oluşturur. RHK hastalarının % 50-60'ının metastaz göstereceği veya geliştireceği bildirilmiştir, çünkü RHK'nin asemptomatik olması nedeniyle erken evrelerde tanı konması zordur [122]. Renal hücreli karsinom (RHK) en ölümcül ürolojik kanserlerden biridir ve hem radyoterapiye hem de kemoterapiye karşı oldukça dirençlidir. Hastaların çoğu tanı anında böbreğin ötesinde metastaz geliştirdiğinden sağkalım oranları çok düşüktür [123]. Renal kanser oranları erkekler arasında daha yüksektir ve Afrika kökenli Amerikalılar arasında Beyazlardan daha hızlı artmaktadır (Chow ve ark. 1999) [124]. Oksidatif ve elektrofilik stres RHK büyümesinde ve ilerlemesinde önemli bir rol oynamaktadır. Ksenobiyotiklerin ve kanserojenlerin neden olduğu hasarı azaltmak için çeşitli hücre savunma sistemleri bulunmaktadır [122]. GST proteinleri, stress kaynaklı sinyal yollarını düzenleyen önemli antioksidan enzimlerdir. İlginç bir şekilde, insanlarda birçok kanser türünde bazı GST proteinlerinin ekspresyon düzeylerinde artış gözlenmektedir [125]. Tütün kullanımı, obezite ve hipertansiyon renal hücreli karsinom (RHK) için risk faktörüdür ve ABD'de teşhis edilen vakaların yaklaşık yarısını oluşturmaktadır [126]. Glutasyon S-transferazlar (GST'ler), ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunu kolaylaştıran ve aynı zamanda antioksidan savunmasında önemli roller oynayan faz II enzimleridir [123]. Son zamanlardaki kanıtlar, çoğu GST proteininin biyolojisinin karmaşık ve çok yönlü olduğunu ve bu proteinlerin hücre hayatta kalması, çoğalması ve ilaç direnci gibi tümörjenik süreçlere aktif olarak katıldığını ortaya koymuştur [125]. Normal insan böbreği, yüksek seviyelerde sitozolik GSTs ifade eder. GST alfa (GST-A), proksimal konvolüsyonlu tübülde ağırlıklı olarak eksprese edilirken, GST pi (GST-P), distal konvolüsyon tüpünde ve toplama kanalında eksprese edilir [122]. Berrak hücreli karsinomun % 87'sinde ve papiller alt tiplerinin % 50'sinde belirgin bir şekilde yüksek GST-P ekspresyonu gözlenmiştir. Bazı çalışmalar GST-P'nin RHK'de azaldığını göstermektedir. Aksine, bazı çalışmalar RHK'de daha yüksek GST-P ifadesi olduğunu bildirmiştir [127]. P53 fonksiyon kaybı, tumor evriminde kritik bir olaydır [128]. Literatürde, GST protein biyolojisindeki son bulgular ve kanser gelişimindeki rolleri, kemorezistansa katkıları ve kanser tedavisi için GST

inhibitörlerinin gelişimi tartışılmaktadır [125]. Renal hücreli karsinom (RHK) nadiren p53 tümör baskılayıcı geninde mutasyonlar kazanır, bu da bu tumor tipindeki p53 sinyallemesinin başka bir mekanizma tarafından bastırılabilceğini düşündürür [129]. Literatürde Bcl-2 gen ailesinin önemi, apoptoz düzeyleri ve böbrek hücreli karsinomun gelişiminde ve ilerlemesinde hücre proliferasyonu ile ilgili yayınlanmış farklı sonuçlar vardır. 22 kişilik küçük bir grupta anti-apoptotik (Bcl-2, Bcl-XL) veya pro-apoptotik (Bax) Bcl-2 proteinleri, apoptoz insidansı ve mitoz temsilcilerinin ekspresyonu arasındaki ilişki analiz edilmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, Bcl-2 ve / veya Bcl-XL ekspresyonunun yüksek olduğu RCC'lerin yaklaşık % 50'sinde apoptoz saptanmadığı ve bu proteinlerin ekspresyonunun düşük olduğunda veya bulunmadığında artan apoptoz seviyelerinin görüldüğü gösterilmiştir. Kalan% 50 numunenin çoğunda, yüksek Bcl-XL seviyeleri düşük apoptoz seviyeleri ile negative korelasyon göstermiştir. Aynı örnek grup için, apoptoz ile ilişkili olarak yüksek Bax ekspresyonu bulunmuştur [131].

Sonuç olarak, tümör dokularında GSTS ve p38 ekspresyonlarının normal dokulardan yüksek olduğu, GSTP ekspresyonunun ise normal dokulardan düşük olduğu bulunmuştur. Tümör dokularının GST-S ekspresyonları p38 ekspresyonları arasında pozitif yönlü ve anlamlı bir korelasyon bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

Normal dokularda GSTS ve GSTP ekspresyonlarının, tumor dokularında ise GSTS ve p38 ekspresyonlarının erkeklerde daha yüksek olduğu görülmüştür. Sigara kullananlardan alınan normal dokularda GSTS, GSTP ve p38 ekspresyonlarının, sigara kullanmayanlara göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Sigara kullanan hastaların tumor dokularında GSTS ekspresyonlarının sigara kullanmayanlara göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Alkol kullananlardan alınan normal dokularda GSTS, GSTP ve p38 ekspresyonlarının, alkol kullanmayanlara göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Alkol kullanan hastaların tumor dokularında GSTS ve p38 ekspresyonlarının, alkol kullanmayanlara göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Böbrek tumor dokusundaki GSTP ve GSTS ifade düzeyleri farklılıklarının hastalığın prognozuna katkısının değerlendirilebilmesi için daha ileri çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.



## KAYNAKLAR

1. Kovacs, G. Molecular differential pathology of renal cell tumors. *Histopathology*; 22: 1-8, 1993.
2. Eble, J.N., Sauter, G., Epstein, J.I., Sesterhenn, I.A. (Eds.) World Health Organization classification of tumours. Pathology and genetics of tumours of the urinary system and male genital organs. IARC Press, Lyon, 2004.
3. Chow WH, Devesa SS, Warren JL, Fraumeni JF Jr. Rising incidence of renal cell cancer in the United States. *JAMA*, 281: 1628-1631, 1999.
4. Zhou, M. (2009). Molecular targets in renal tumors: pathologic assessment. Bukowski, R.M., Figlin, R.A., Motzer, R.J. (Editörler). *Renal Cell Carcinoma*. 2. Baskı, New York: Humana Press, 35-49, 2009.
5. Bozdağ PG. Çok Kesitli Bilgisayarlı Tomografi Ürografide Farklı Hazırlık Protokollerinin Tanıya Katkısı. Uzmanlık Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Radyodiagnostik Bölümü, 2011.
6. Aytekin Y. (editör). *Temel Histoloji*. Barış Kitapçılık, İstanbul, 359-374, 1988.
7. Kayalı H. *Özel Histoloji*. İstanbul Üniv. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, İstanbul, 199-215, 1989.
8. Erek E. *Nefroloji*. İstanbul Üniversitesi Basımevi ve Film Merkezi, 38-148, 1995.
9. Uluoğlu Ö, çeviri editörü. *Robins and Kumar Basic Pathology*. Güneş kitapevi, Ankara, 593-639, 1990.
10. Nagata M, Tomari S, Kanemoto K, Usui J, Lemley KV. Podocytes, parietal cells, and glomerul pathology: the role of cell cycle proteins. *Pediatr Nephrol*, 18(1): 3-8, 2003.

11. Meyer TW, Bennett PH, Nelson RG. Podocyte number predicts long-term urinary albumin excretion in Pima Indians with Type II diabetes and microalbuminuria. *Diabetologia*, 42: 1341-1344, 1999.
12. Pagtalunan ME, Miller PL, Jumping-Eagle S, Nelson RG, Myers BD, Rennke H.G., et. al. Podocyte loss and progressive glomerular injury in type II diabetes. *J Clin Inves*, 99: 342-348, 1997.
13. Petermann AT, Krofft R, Blonski M, Hiromura K, Vaughn M, Pichler R et. al. Podocytes that detach in experimental membranous nephropathy are viable. *Kidney Int*, 64(4): 1222-1231, 2003.
14. Demir R, editör. Di Fiore Histoloji Atlası Fonksiyonel İlişkiler. Palme yayınları, Ankara, 251-259, 2001.
15. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer*. 127(12): 2893-917, 2010. doi: 10.1002/ijc.25516. PMID: 21351269.
16. Aron M, Nguyen MM, Stein RJ, et al. Impact of gender in renal cell carcinoma: An analysis of SEER database. *Eur Urol*, 54:133-140, 2008.
17. Lipworth L, Tarone RE, McLaughlin JK. The epidemiology of renal cell carcinoma. *J Urol*, 176: 2353-2358, 2006.
18. Clague J, Lin J, Cassidy A, et al. Family history and risk of renal cell carcinoma: results from a case-control study and systematic metaanalysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 18: 801-807, 2009.
19. Hunt JD, van der Hel OL, McMillan GP, et al. Renal cell carcinoma in relation to cigarette smoking: meta-analysis of 24 studies. *Int J Cancer*. 114: 101-108, 2005.
20. Bozlu M. Renal Hücreli Karsinom epidemiyolojisi ve risk faktörleri. Özen H, Türker L (Editörler). *Üroonkoloji*. 1. Baskı, 2. cilt Ankara: Ertem Basım Yayın, 909-911, 2007.

21. Bergstrom A, Hsieh CC, Lindblad P, et al. Obesity and renal cell cancer-a quantitative review. *Br J Cancer*. 85: 984-990, 2001.
22. Sawada N, Inoue M, Sasazuki S, et al. Body mass index and subsequent risk of kidney cancer: a prospective cohort study in Japan. *Ann Epidemiol*. 20: 466-472, 2010.
23. Calle EE, Kaaks R. Overweight, obesity and cancer: epidemiological evidence and proposed mechanisms. *Nat Rev Cancer*, 4: 579-591, 2004.
24. Renehan AG, Tyson M, Egger M, et al. Body-mass index and incidence of cancer: a systematic review and meta-analysis of prospective observational studies. *Lancet*, 371: 569-578, 2008.
25. McLaughlin JK, Chow WH, Mandel JS, et al. International renal cell cancer study. VIII. Role of diuretics, other anti-hypertensive medications and hypertension. *Int J Cancer*, 63: 216-221, 1995.
26. Fryzek JP, Poulsen AH, Johnsen SP, et al. A cohort study of antihypertensive treatments and risk of renal cell cancer. *Br J Cancer*, 92: 1302-1306, 2005.
27. Weikert S, Boeing H, Pischon T, et al. Blood pressure and risk of renal cell carcinoma in the European prospective investigation into cancer and nutrition. *Am J Epidemiol*, 167: 438-446, 2008.
28. Chow WH, Gridley G, Fraumeni JF Jr, et al. Obesity, hypertension, and the risk of kidney cancer in men. *N Engl J Med*, 343: 1305-1311, 2000.
29. McLaughlin JK, Lipworth L. Epidemiologic aspects of renal cell cancer. *Semin Oncol*, 27: 115-123, 2000.
30. Lee JE, Männistö S, Spiegelman D, et al. Intakes of fruit, vegetables, and carotenoids and renal cell cancer risk: a pooled analysis of 13 prospective studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 18: 1730-1739, 2009.

31. Bertoia M, Albanes D, Mayne ST, et al. No association between fruit, vegetables, antioxidant nutrients and risk of renal cell carcinoma. *Int J Cancer* 126: 1504-1512, 2010.
32. Galeone C, Pelucchi C, Maso LD, et al. Glycemic index, glycemic load and renal cell carcinoma risk. *Ann Oncol* 2009; 20: 1881-1885.
33. Kovacs G. Molecular differential pathology of renal cell tumors. *Histopathology*, 22: 1-8, 1993.
34. Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn In: World Health Organization Classification of Tumors. Pathology and Genetics of Tumors of the Urinary System and male Genital Organs. IARC Press: Lyon, 2004.
35. Novick AC, Campbell SC. Retik AB, Vaughan ED, Wein AJ, Kavoussi LR, Novick AC, Partin AW, Peters CA. In: Renal Tumors. Campbell's Urology. 8th edition. New York: WB Saunders Co Ltd., 672- 731, 2002.
36. Lopez-Beltran A, Scarpelli M, Montironi R, Kirkali Z. 2004 WHO classification of the renal tumors of the adults. *Eur Urol*, 49(5): 798- 805, 2006.
37. Alpers CE. The kidney. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC (Editörler). Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease. 8. Baskı, Philadelphia: Saunders Elsevier, 963-969, 2010.
38. Ordonez NG, Rosai J. Urinary tract. Kidney, renal pelvis and ureter. Rosai J (Editör). Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. 9. Baskı, 2. cilt, Philadelphia: Mosby Elsevier, 1163-316, 2004.
39. Altınok G. Renal hücreli karsinom patolojisi ve moleküler biyolojik temeli. Özen H, Türker L (Editörler). Üroonkoloji. 1. Baskı, 2. cilt Ankara: Ertem Basım Yayın, 913-924, 2007.
40. MacLennan GT, Cheng L. Neoplasms of the kidney. Bostwick DG, Eble JN (Editörler) Urologic Surgical Pathology. 3. Baskı, Philadelphia: Saunders Elsevier, 76-156, 2014.

41. Gurel S, Narra V, Elsayes KM, Siegel CL, Chen ZE, Brown JJ. Subtypes of renal cell carcinoma: MRI and pathological features. *Diagn Interv Radiol*, 19: 304-311,2013.
42. Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn IA. Tumors of the urinary system and male genital organs. Lyon: IARCPress, 9-44, 2004.
43. Reuter V.E. & Tickoo S.K. Adult Renal Tumors. Mills SE, Carter D, Reuter V.E., Greenson JK, Stoler Mh (Editörler). Steinberg's Diagnostic Surgical Pathology. 5. Baskı, 2. cilt Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins, 1766-1769, 2010.
44. Störkel S, Eble JN, Adlakha K, Amin M, Blute ML, Bostwick DG, et al. Classification of renal cell carcinoma: workgroup no.1 Union Internationale Contre le Cancer (UICC) and the American Joint Committee on Cancer (AJCC). *Cancer*, 80: 987-989, 1997.
45. Zhou M. Molecular targets in renal tumors: pathologic assessment. Bukowski RM, Figlin RA, Motzer RJ (Editörler). *Renal Cell Carcinoma*. 2. Baskı, New York: Humana Press, 35-49, 2009.
46. Cüreklibatır, İ.K. & Ekren, F. Böbrek kanserinde tanı, evreleme, tümör belirteçleri ve doğal seyir. Özen H, Türker L (Editörler). *Üroonkoloji*. 1. Baskı, 2. cilt Ankara: Ertem Basım Yayın, 933-942, 2007.
47. Flocks RH, Kadesky M. Malignant neoplasms of the kidney; an analysis of 353 patients followed five years or more. *J Urol*. 79(2): 196-201, 1958.
48. Fuhrman SA, Lasky LC and Limas C. Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 6: 655-63, 1982.
49. Okoń K. Pathology of renal tumors in adults. Molecular biology, histopathological diagnosis and prognosis. *Pol J Pathol*, 59: 129-176, 2008.
50. Yörükođlu K. Böbrek hücreli kanserlerde sınıflama, sitogenetik ve patolojik prognostik faktörler. *Türk Üroloji Dergisi*, 31: 305-317, 2005.

51. Bretheau D, Lechevallier E, Fromont M, Sault MC, Rampal M, Coulange C. Prognostic value of grade of renal cell carcinoma. *Cancer* 15; 76: 2543- 2549, 1995.
52. Patard JJ, Leray E, Rioux-Leclercq N, Cindolo L, Ficarra V, Zisman A, et al. Prognostic value of histologic subtypes in renal cell carcinoma: a multicenter experience. *J Clin Oncol* 23: 2763-2771, 2005.
53. Gelb AB. Renal cell carcinoma: current prognostic factors. Union Internationale Contre le Cancer (UICC) and the American Joint Committee on Cancer (AJCC). *Cancer*, 80: 981-986, 1997.
54. Cohen RJ. Clear cell renal cell carcinoma. Updated: Apr 13, 2009, <http://emedicine.medscape.com/article/1612043-overview>
55. Gettman MT, Blute ML, Spotts B, Bryant SC, Zincke H. Pathologic staging of renal cell carcinoma significance of tumors classification with the 1997 TNM staging system. *Cancer*; 91: 354-361, 2001.
56. Mejean A, Oudard S, Thiounn N. Prognostic factors of renal cell J Urol. 169: 821-827, 2003.
57. Rosai J. Urinary tract. In: Ordonez NG, Rosai J. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology, Ninth Edition. China. Mosby, 1251- 63, 2004.
58. Budia AA, Gomez PL, Bango V. Prognostic factors for disease progression in patients with renal cell carcinoma. *Actas Urol Esp*, 31(8): 831- 44, 2007.
59. Takahashi M, Kahnoski R, Gross D, et al. Familial adult renal neoplasia. *J Med Genet*. 39(1): 1-5, 2002.
60. Delahunt B, Eble JN, McCredie MR, et al. Morphologic typing of papillary renal cell carcinoma: comparison of growth kinetics and patient survival in 66 cases. *Hum Pathol*, 32: 590-5, 2001.
61. Amin MB, Tamboli P, et al. Prognostic impact of histologic subtyping of adult renal epithelial neoplasms: an experience of 405 cases. *Am J Surg Pathol*, 26: 281-91, 2002.

62. Moch H, Gasser T, Amin MB, et al. Prognostic utility of the recently recommended histologic classification and revised TNM staging system of renal cell carcinoma: a Swiss experience with 588 tumors. *Cancer*, 89: 604-14, 2000.
63. Elson PJ, Witte RS and Trump D L. Prognostic factors for survival in patients with recurrent or metastatic renal cell carcinoma. *Cancer Res.* 48: 7310-3, 1988.
64. Fossa SD, Kramar A and Droz JP. Prognostic factors and survival in patients with metastatic renal cell carcinoma treated with chemotherapy or interferon-alpha. *Eur J Cancer*, 30: 1310-4, 1994.
65. Steinner T, Knels R, Schubert J. Prognostic significance of tumour size in patients after tumour nephrectomy for localised renal cell carcinoma. *Eur Urol* 46(3): 327-30, 2004.
66. Monge JM, Val-Bernal JF, Buelta L, et al. Selective nuclear morphometry as a prognostic factor of survival in renal cell carcinoma. *Histol Histopathol.* 14: 119-123, 1999.
67. Nativ O, Sabo E, Bejar J, et al. A comparison between histological grade and nuclear morphometry for predicting the clinical outcome of localized renal cell carcinoma. *Br J Urol.* 78: 33-38, 1996.
68. Bhattacharyya NK, Chatterjee U, Sarkar S, Kundu AK. A study of proliferative activity, angiogenesis and nuclear grading in renal cell carcinoma. *Indian J of pathol microbiol*, 51(1): 17-21, 2008.
69. Bretheau D, Lechevallier E, Eghazarian C, et al. Prognostic significance of incidental renal cell carcinoma. *Eur Urol.* 27: 319-23, 1995.
70. Tsui KH, Shvarts O, Smith RB, et al. Renal cell carcinoma: prognostic significance of incidentally detected tumors. *J Urol.* 163: 426-30, 2000.
71. Yaman M. Akciger Kanseri. In: Erk M, ed. *Göğüs Hastalıkları* 11. Cilt, İstanbul: Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayın No: 237, 753 805, 2001.

72. Shimada, T., Hayes, C.L., Yamazaki, H., Amin, S., Hecht, S.S., Guengerich, F.P., Sutter, T.R., Activation of chemically diverse procarcinogens by human cytochrome P-450 1B1. *Cancer Res* 56: 2979-2984, 1996.
73. Kushida, H., Fujita, K., Suzuki, A., Yamada, M., Endo, T., Nohmi, T., Kamataki, T., Metabolic activation of N-alkylnitrosamines in genetically engineered *Salmonella typhimurium* expressing CYP2E1 or CYP2A6 together with human NADPH-cytochrome P450 reductase. *Carcinogenesis*, 21: 1227-1232, 2000.
74. Hecht, S.S., Tobacco smoke carcinogens and lung cancer. *J Natl. Cancer Inst.* 91: 1194-1210, 1999.
75. Thummel, K.E., Wilkinson, G.R., In vitro and in vivo drug interactions involving human CYP3A. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 38: 389-430, 1998.
76. Orhan H., Şahin G.; Clinical and Toxicological Importance of Glutathione STransferases. *T Klin Tıp Bilimleri*, 15-1995.
77. Lucente G, Luisi G, Pinnen F. Design and Synthesis of Glutathione Analogues. *Il Farmaco*, 53: 721-735, 1998.
78. Sies H. Glutathione and Its Role in Cellular Functions. *Free Radical Biology and Medicine*; 27: 916-921,1999.
79. G. M. Pacifici, G. N. Fracchia. Human Glutathione Transferase In *Advances in Drug Metabolism in Man*. Off. Pub of the Eur. Comm. Luxemburg,1995.
80. N Vural, Toksik maddelerin metabolizması. *Toksikoloji*, Ankara Üniv. Yayınevi, 73, 2005.
81. Figen HANÇER, Akciğer Kanserinde Metabolik Polimorfizmin (GSTP1 Ala114Val) İlaç Rezistansındaki Rolü, Ankara Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi. Ankara, 2006.
82. Hayes J. D., Flanagan J.U., Jowsey, I. R. Glutathione Transferases, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 45: 51-88, 2005.



83. Oakley A. Glutathione transferases: a structural perspective. *Drug Metab. Rev.* 43 (2): 138–51, 2011. Doi:10.3109/03602532.2011.558093.
84. F. F. Parl, Glutathione s transferase Genotypes and cancer risk. *Cancer Letters*, 221: 123, 2005.
85. 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.
86. Granja F., Morari J., Morari E.C., Correa L.A.C., Assumpção L.V.M., Ward L.S., GST profiling may be useful in the screening for thyroid nodule malignancy. *Cancer Lett.* 209: 129-137, 2004.
87. Eaton, D.L. And Bammler, T.K. Concise review of glutathione Stransferase and their significance to toxicology. *Toxicological sciences*, 49: 156-164., 1999.
88. Etseller, M., Corn, P.G., Urena, J.M., Gabrielson, E., Baylin, S.B., Herman, J.G., Inactivation of glutathione S-transferase P1 gene by promoter hypermethylation in human neoplasia, *Cancer Research*, 58, 4515–4518 p., 1998.
89. A Özyaydın, Glutasyon S-Transferaz GST-M1 ve GST T-1 polimorfizmlerinin glutasyonla ilişkili detoksifikasyon sistemlerine etkisi, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi; İstanbul, 2000.
90. P. K. Stocman, LI Mclellen, J. D. Hayes. Characterization of the basic glutathione s transferase B1 and B2 subunits from human liver. *Biochem J.* 244, 55, 1987.
91. H. Amad, S. S. Singhal, M Saxena, T.C. Awasthi. Characterisation of two novel subunits of the alpha class glutathione s transferase of human liver. *Biochem Biophys Acta.* 116, 333, 1993.
92. Seidgard J., Ekstöm G., The role of human GST's and epoxide hydrolases in metabolism of xenobiotics. *Environ Health Perspect.* 105 (4): 791, 1997.

93. Hayes, John D., and David J. Pulford. The Glutathione S-Transferase Supergene Family: Regulation of GST and the Contribution of the Isoenzymes to Cancer Chemoprotection and Drug Resistance Part I. *Critical reviews in biochemistry and molecular biology*, 445-520, 1995.
94. 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.
95. Hayes J.D., Pulford D.J., The glutathione S-transferase super gene family: regulation of GST and the contribution of isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 30: 445-600, 1995.
96. Strange R.C., Fyer A.A., Matterro B., Zhao L., Broome J., Campfle D., Jones P., Pastor I., Singh R., The glutathione S-transferase: comparison of isoenzymes expression in normal and astrocytoma brain. *Biochem. Biophys. Acta.* 1139: 222, 1992.
97. Takahashi Y., Champbel E.A., Hirida Y., Takayama T., Listowsky I., The basis of differentiating among the multiple human mu-glutathione S-transferase and molecular cloning of brain GST M5. *J. Biol. Chem.* 268: 8893, 1993.
98. Eaton DL, Bammer TK. Concise review of the glutathione S-transferases and their significance to toxicology. *Toxicol Sci*, 49: 156–64, 1999.
99. Board PG, Menon D. Glutathione transferases, regulators of cellular metabolism and physiology. *Biochim Biophys Acta*, 1830: 3267–88, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbagen.2012.11.019>.
100. Tew KD, Townsend DM. Glutathione-s-transferases as determinants of cell survival and death. *Antioxid Redox Signal*, 17: 1728–37, 2012. <http://dx.doi.org/10.1089/ars.2012.4640>.
101. Asakura T, Imai A, Ohkubo-Uraoka N et al. Relationship between expression of drug-resistance factors and drug sensitivity in normal human renal proximal

- tubular epithelial cells in comparison with renal cell carcinoma. *Oncol. Rep.* 14: 601–607, 2005.
102. Peters WHM, Roelofs HMJ. Biochemical characterization of resistance to mitoxantrone and adriamycin in Caco-2 human colon adenocarcinoma cells: a possible role for glutathione S-transferases. *Cancer Res.* 52: 1886–1890, 1992.
  103. Sweeney, C. et al. Glutathione S-transferase M1, T1, and P1 polymorphisms as risk factors for renal cell carcinoma: a case-control study. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 9: 449–454, 2000.
  104. Buzio, L. et al. (2002) Occupational risk factors for renal cell cancer. An Italian case-control study. *Med Lav*, 93, 303–309.
  105. Lusini L, Tripodi SA, Rossi R et al. Altered glutathione antioxidant metabolism during tumor progression in human renal cell carcinoma. *Int. J. Cancer*; 91: 55–59, 2001.
  106. Pljesa-Ercegovac M, Mimic-Oka J, Dragicevic D et al. Altered antioxidant capacity in renal cell carcinoma: role of glutathione associated enzymes. *Urol. Oncol.* 26: 175–181, 2008.
  107. Zhu H, Zhang L, Amin AR, Li Y. Coordinated upregulation of a series of endogenous antioxidants and phase 2 enzymes as a novel strategy for protecting renal tubular cells from oxidative and electrophilic stress. *Exp. Biol. Med.* 233: 753–765, 2008.
  108. Thier, R., Wiebel, F. A., Schulz, T. G., Hinke, A., Bruning, T., and Bolt, H. M. Comparison of GST u activity in liver and kidney of four species. *Arch. Toxicol. Suppl.*, 20: 471–474, 1998.
  109. Rodilla, V., Benzie, A. A., Veitgch, J. M., Murray, G. I., Rowe, J. D., and Hawksworth, G. M. Glutathione S-transferases in human renal cortex and neoplastic tissue: enzymatic activity, isoenzyme profile and immunohistochemical localization. *Xenobiotica*, 28: 443–456, 1998.

110. Buzio, L. et al. Glutathione S-transferases M1-1 and T1-1 as risk modifiers for renal cell cancer associated with occupational exposure to chemicals. *Occup. Environ. Med.*, 60: 789–793, 2003.
111. Van den Berg E, Stoörkel S. Kidney: clear cell renal cell carcinoma. *Atlas Genet. Cytogenet. Oncol. Haematol.* 2004. Erişim Yeri: <http://AtlasGeneticsOncology.org/Tumors/ClearCellRenalCC5020.html>. Erişim Tarihi: 25.11.2021.
112. Simic T, Mimic-Oka J, Ille K, Savic-Radojevic A, Reljic Z. Isoenzyme profile of glutathione S-transferases in human kidney. *Urol. Res.* 29; 38–44, 2001.
113. Simic´ T, Mimic´-Oka J, Ille K, Dragicevic´ D, Savic´-Radojevic´ A. Glutathione S-transferase isoenzyme profile in non-tumor and tumor human kidney tissue. *World J. Urol.* 20: 385–391, 2003.
114. Sa´rva´ry E, Bla´zovics A, Varga M et al. Diagnostic value of glutathione-S-transferase. *Orv. Hetil.* 139: 1531–1537, 1998.
115. *Journal of Kidney Cancer and VHL* 2(1): 25-29, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.15586/jkcvhl.2015.22>
116. Lenassi, M. & Plemenitas, A. The role of p38 MAP kinase in cancer cell apoptosis, *Radiol Oncol* 40(1): 51-6, 2006.
117. Shi Y, Gaestel M. In the cellular garden of forking paths: How p38 MAPKs signal for downstream assistance. *Biol Chem.*, 383:1519-36, 2002.
118. Ono K, Han J. The p38 signal transduction pathway: Activation and function. *Cell Signal*, 12: 1-13, 2000.
119. Lee JC, Laydon JT, McDonnell PC, Gallagher TF, Kumar S, Green D, McNulty D, Blumenthal MJ, Heys JR, Landvatter SW, et al. A protein kinase involved in the regulation of inflammatory cytokine biosynthesis. *Nature* 1994; 372:739-46

120. Chuang, S.T., Chu, P., Sugimura, J. Overexpression of glutathione S-transferase  $\alpha$  in clearcellrenalcellcarcinoma. *Am J ClinPathol.*, 123, 421-429, 2005.
121. Aguirre-Ghiso JA, Ossowski L, Rosenbaum SK. Green fluorescent protein tagging of extracellular signal-regulated kinase and p38 pathways reveals novel dynamics of pathway activation during primary and metastatic growth. *Cancer Res*, 64: 7336-45, 2004.
122. Searchfield, L., Price, S.A, Betton, G., Jasani, B., Riccardi, D., Griffiths, D.FR (2011). Glutathione S-transferases as molecular markers of tumour progression and prognosis in renal cell carcinoma, *Histopathology*, 58: 180–190.
123. Cheng, H.Y., You, H.Y., Zhou, T.B. Relationship between GSTM1/GSTT1 null genotypes and renal cell carcinoma risk: a meta-analysis, *Renal Failure*; 34(8): 1052–1057, 2012.
124. Pirinççi, N., Kaba, M., Geçit, İ., Güneş, M. (2016). Serum prolidase activity, oxidative stress, and antioxidant enzyme levels in patients with renal cell carcinoma. *Toxicology and Industrial Health*, 32(2): 193–199.
125. Singh, R.R., Reindl, K.M. Glutathione S-Transferases in Cancer. *Antioxidants*, 10 (5): 701, 2021.
126. Karami, S., Boffetta, P., Rothman, N., Hung, R.J., Stewart, T., Zaridze, D., Navritalova, M., Mates, D., Janout, V., Kollarova, H. Renal cell carcinoma, occupational pesticide exposure and modification by glutathione S-transferase polymorphisms, *Carcinogenesis*, 29(8): 1567–1571, 2008.
127. Kaprilian, C., Horti, M., Kandilaris, K., Skolarikos, A., Trakas, N., Kastriotis, I., and Deliveliotis, C. Glutathione-S-transferase-pi (GST-pi) expression in renal cell carcinoma *Journal of Kidney Cancer and VHL*; 2(1): 25-29, 2008.
128. Warburton HE, Brady M, Vlatković N, Linehan WM, Parsons K, Boyd MT. p53 regulation and function in renal cell carcinoma. *Cancer Res*. 1;65(15):6498-503, 2005. Doi: 10.1158/0008-5472.

129. Gurova, K.V., Hill, J.E., Razorenova, O.V., Chumakov, P.M. (2004). p53 pathway in renal cell carcinoma is repressed by a dominant mechanism. *Cancer Research* 64: 1951–1958.
130. Gobé, G., Rubin, M., Williams, G., Sawczuk, I., Buttyan, R. (2002). Apoptosis and Expression of Bcl-2, Bcl-XL, and Bax in Renal Cell Carcinomas. *Cancer Investigation*, 20(3): 324-332.
131. Hayes JD, Flanagan JU, Jowsey IR. Glutathione transferases. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*; 45: 51-88, 2005.
132. Jamieson D., BCM1.2 Molecular Toxicology Xenobiotic metabolism. [http://web.sls.hw.ac.uk/teaching/Derek\\_J/mol\\_tox/lectures/files/xenobiotic\\_metalabolism/index.html](http://web.sls.hw.ac.uk/teaching/Derek_J/mol_tox/lectures/files/xenobiotic_metalabolism/index.html), Erişim Tarihi: 21.12.2021.
133. Wittekind C, Asamura H, Sobin LH. *TNM Atlas*. 6. Baskı, New York: WileyBlackwell, 337-346, 2014.
134. Lam JS, Shyarts O, Leppert JT, et al. Renal cell carcinoma 2005: New frontiers in staging, prognostication and targeted molecular therapy *J Urol.*, 173: 1853-1862, 2005.
135. Konukoğlu, D. & Akçay, T. Glutatyon Metabolizması ve Klinik Önemi *T Klin Tıp Bilimleri*, 15: 214-218, 1995.
136. Klaassen CD, Amdur MO, Doull J; 3rd Ed, 1986] Macmillan Publishing; *Principles of Toxicology Chapter Casserett And Doull's Toxicology*, 2005.
137. Thier, R., Bruning, T., Roos, P.H., Rihs, H.P., Golka, K., KO, Y., Bolt, H.M., Markers of genetic susceptibility in human environmental hygiene and toxicology: The role of selected CYP, NAT and GST genes, *Int. J. Hyg. Environ. Health*, 206,149-171.
138. Jamieson D., BCM1.2 Molecular Toxicology Xenobiotic metabolism. [http://web.sls.hw.ac.uk/teaching/Derek\\_J/mol\\_tox/lectures/files/xenobiotic\\_metalabolism/index.html](http://web.sls.hw.ac.uk/teaching/Derek_J/mol_tox/lectures/files/xenobiotic_metalabolism/index.html), Erişim Tarihi: 15.04.2021.

139. Hayes J.D., Flanagan, J.U., Jowsey, I.R. Glutathione Transferases, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 45: 51–88, 2005.
140. Dulik DM, Fenselau C, Hilton J. Characterization of melphalan– glutathione adducts whose formation is catalysed by glutathione transferases. *Biochem. Pharmacol.* 35: 3405–3409, 1986.
141. Rowe, J. K., Nieves, E., and Listowsky, I. Subunit diversity and tissue distribution of human glutathione S-transferases: interpretations based on electrospray ionization-MS and peptide sequence-specific antisera. *Biochem. J.*, 325: 481–486, 1997.
142. Hollman A, Tchounwou P, Huang H-C. The association between gene-environment interactions and diseases involving the human GST superfamily with SNP variants. *Int J Environ Res Public Health*, 13: 379, 2016. <http://dx.doi.org/10.3390/ijerph13040379>.
143. Wu B, Dong D. Human cytosolic glutathione transferases: structure, function, and drug discovery. *Trends Pharmacol Sci*, 33: 656–68, 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tips.2012.09.007>.
144. Hayes JD, Flanagan JU, Jowsey IR. Glutathione transferases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 45: 51–88, 2005. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.45.120403.095857>.
145. Abid, A., Ajaz S., Khan A.R., Zehra F., Hasan A.S., Sultan G., et al. Analysis of the glutathione S-transferase genes polymorphisms in the risk and prognosis of renal cell carcinomas. Case-control and meta-analysis. *Urol Oncol*, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.urolonc.2016.04.005>.
146. Oğuztüzün, S. Immunohistochemical localization of glutathione stransferases in normal and carcinoma human human breast tissue, Doktora tezi, Ortadoğu Teknik Üniversitesi, Ankara, 2000.

147. Toffoli, G., Viel, A., Tumiotti, L., Giannini, F., Volpe, R., Quaia, M. and Boichi, M. (1992). Expression of glutathione S-transferases in human tumors. *Eur J Cancer* 28A: 1441–1446, 1992.
148. Volm, M., Kastel, M., Mattern Jefferth, T. Expression of resistance factors (P-glycoprotein, glutathione S-transferase pi, and topoisomerase II) and their relationship to proto-oncogene products in renal cell carcinomas. *Cancer* 71: 3981–3987, 1993.
149. Cuenda, A.; Sanz-Ezquerro, J.J. p38gamma and p38delta: From Spectators to Key Physiological Players. *Trends Biochem. Sci.* 2017, 42, 431–442.
150. Bonney, E.A. Mapping out p38MAPK. *Am. J. Reprod. Immunol.* 77, 2017.
151. Aguirre-Ghiso JA, Ossowski L, Rosenbaum SK. Green fluorescent protein tagging of extracellular signal-regulated kinase and p38 pathways reveals novel dynamics of pathway activation during primary and metastatic growth. *Cancer Res* 2004; 64:7336-45.
152. Üroonkoloji Bülteni 2014;13:135-138



## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Balgüzar Esra BEDİR

Doğum Tarihi :

Yabancı Dil : İngilizce

### Eğitim Durumu

Lisans : Cumhuriyet Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü -2011

Yüksek Lisans : Kırıkkale Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü -2022)

Çalıştığı Kurum ve Yıl :

Yayımları (SCI) :

Yayımları (Diğer) : 5. Uluslararası Sağlık Bilimleri ve İnovasyon Kongresi – Sözlü Bildiri (18-21 Aralık 2021) – Böbrek Kanserinde Apoptozun ve GST İzozimlerinin Ekspresyonlarının Rolü

Araştırma Alanları : Moleküler Biyoloji

# EKLER

## EK-1: Etik Kurul Onay Belgesi



T.C.  
ANKARA VALİLİĞİ  
İL SAĞLIK MÜDÜRLÜĞÜ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ  
Ankara Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Baştabipliği  
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 2012-KAEK-15/2272  
Konu: Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi  
Etik Kurul Kararı

11.05.2021

### KEÇİÖREN EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ KLİNİK ARAŞTIRMA ETİK KURULU

“Böbrek tümörü dokularında GST izozimleri ile apoptotik belirteçlerin ekspresyonlarının incelenmesi “ adlı klinik araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına ve kurulumuz kararının başvuru sahibi tarafından Sağlık Bakanlığı’na arzına gerek olmadığına toplantıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.

Doç.Dr. Osman KÖRUCÜ  
Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi  
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu, Başkan

---

Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi  
Klinik Araştırmalar Etik Kurul  
Pınarbaşı Mahallesi Sanatoryum Cad.  
Ardahan Sokak No:25Keçiören / ANKARA  
Web: [www.akeah.gov.tr](http://www.akeah.gov.tr)

## KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Böbrek tümörü dokularında GST izozimleri ile apoptotik belirteçlerin ekspresyonlarının incelenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu 2012-KAEK-15
	AÇIK ADRESİ:	Pınarbaşı Mah. Sanatoryum Cad. Ardahan Sok. No:25 06380 Keçiören / Ankara
	TELEFON	0312 256 00 00 / 0312 256 00 00
	FAKS	
	E-POSTA	

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof.Dr. Ömer Faruk BOZKURT			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI				
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	SBÜ Keçiören Eğitim Ve Araştırma Hastanesi			
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI				
	DESTEKLEYİCİ	Kırıkkale Üniversitesi BAP			
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)	Prof. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
FAZ 4		<input type="checkbox"/>			
Gözlemsel ilaç çalışması		<input type="checkbox"/>			
Tıbbi cihaz klinik araştırması		<input type="checkbox"/>			
İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		<input type="checkbox"/>			
İlaç dışı klinik araştırma	<input checked="" type="checkbox"/> Akademik Amaçlı				
Diğer ise belirtiniz					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	26.04.2021	1.0	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>

ASLI GİTİR

Etik Kurul Başkanı Unvanı/Adı/Soyadı: Doç.Dr. Osman KORUCU  
İmza:

Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

Hasta Bilgi Formu

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		Böbrek tümörü dokularında GST izozimleri ile apoptotik belirteçlerin ekspresyonlarının incelenmesi	
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU			
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı		Açıklama
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>	
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input type="checkbox"/>	23.808.86 TL 26.04.2021/Versiyon 2
	BIYOLOJİK MATERİYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>	
	İLAN	<input type="checkbox"/>	
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>	
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>	
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>	
DİĞER:	<input type="checkbox"/>		
KARAR BİLGİLERİ	Karar No:2272	Tarih:11.05.2021	
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.		

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU									
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI		İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu							
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:		Doç.Dr. Osman KORUCU							
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişkisi		Katılım *	İmza	
Doç.Dr. Osman KORUCU (Etik Kurul Başkanı)	Nöroloji	Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Op. Dr. S. Ş. Erkmen GÜLHAN (Etik Kurul Bşk. Yard.)	Göğüs Cerrahisi	Atatürk Göğüs Hst. Ve Göğüs Cer.E.A.H.	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Uzm Dr Didem ARDIÇLI (Bildirimden Sorumlu Üye)	Çocuk Nöroloji	Ankara Şehir Hastanesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. İsmet Faruk ÖZGÜNER	Çocuk Cerrahisi	Dr. Sani Ulus Kadın Doğum, Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları E. A. H	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç Dr Işıl ÖZAKCA	Farmakoloji (PhD)	Ankara Üniv. Ecz. Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Selma UYSAL RAMADAN	Radyodiagnostik	Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr Gülçin GÜLER ŞİMŞEK	Patoloji	Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Dr Öğr.Üyesi Ayşe Şebnem İLHAN	Fizyoloji	Gülhane Dış Hekimliği Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Öğr. Gör. Dr. Volkan MEDENİ	Halk Sağlığı	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç Dr Rahime BEDİR FİNDİK	Kadın Hastalıkları ve Doğum	Ankara Şehir Hastanesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç Dr Alper YAVUZ	Genel Cerrahi	Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Av. Abdullah Emin TEKİN	Avukat	Serbest	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Cafer TATLILIOĞLU	Din Görevlisi	Diyanet İşleri Başkanlığı Ankara Müftülüğü	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

ASLI GİBİDİR

Etik Kurul Başkanı Unvanı/Adı/Soyadı: Doç.Dr. Osman KORUCU  
İmza:

Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

HACER SELAMOĞLU