ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ÇEŞİTLİ KANSER HASTALARINDA GLUTATYON S TRANSFERAZ GEN POLİMERFİZMİ

Manar Hasan Mahdi ALCHAABAWI

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇANKIRI
2021

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Manar Hasan Mahdi ALCHAABAWI tarafından hazırlanan **"Çeşitli Kanser Hastalarında Glutatyon S-transferiz Gen Polimerfizmi"** adlı tez çalışması 14/12/2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman **:** Dr. Öğr. Üyesi İlkay ÇORAK ÖCAL

Eş Danışman **:** Dr. Maher Mohammed KHADAİRİ

Jüri Üyeleri **:**

Başkan **:** Dr. Öğr. Üyesi İlkay ÇORAK ÖCAL
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye **:** Dr. Öğr. Üyesi Aysel Sarı
Kimya Anabilim Dalı
Fırat Üniversitesi

Üye **:** Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. İbrahim ÇİFTÇİ

Enstitü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum "**Çeşitli Kanser Hastalarında Glutatyon S-transferiz Gen Polimerfizmi**" konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan "Bilimsel İntihal Tespit Programı"yla tarandığını, "intihal içermediğini" beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim (14/12/2021).

Manar Hasan Mahdi ALCHAABAWI

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ÇEŞİTLİ KANSER HASTALARINDA GLUTATYON S-TRANSFERİZ GEN POLİMERFİZMİ

Manar Hasan Mahdi ALCHAABAWI

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi İlkay ÇORAK ÖCAL
Eş Danışman: Dr. Maher Mohammed KHADAİRİ

Glutatyon S-transferazların (GST'ler) ailesi, fonksiyonel polimorfik varyasyonun önemli kanıtlarına sahip çoklu izozimlerden oluşur. Son otuz yılda, kanser çalışmalarından elde edilen veriler, GST izozimlerinin anormal ekspresyonunu, kanser ilaçları da dahil olmak üzere çeşitli kimyasallara karşı direnç gelişimi ve ekspresyonu ile ilişkilendirmiştir. Bu çalışma, insan GST izozim ekspresyon modellerindeki farklılıkların kanser duyarlılığını, prognozunu ve tedavisini nasıl etkilediğini ele almaya çalışılmıştır. Bu çalışmada, meme kanseri duyarlılığında üç GST geninin, GSTM1, GSTP1 ve GSTT1'in her birinden bir polimorfizmi incelemek için PZR tabanlı bir genotipleme modeli kullanılmıştır. GSTM1'in null genotipi, hem kontrol hem de vaka popülasyonlarındaki bireylerin yaklaşık yarısında (%56 ve %57) görülmüştür. Mevcut sonuçlar, tek başına GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 genotiplerinin meme kanseri gelişiminde yer almadığını göstermiştir. Ancak bu genler ve olası genotip kombinasyonları arasındaki etkileşimleri dışlamaz. Bununla birlikte, genotipik analiz bu çalışmada test edilen genlerin kombinasyonları, meme kanseri ile predispozan genotipik kombinasyon korelasyonlarını belirleyememiştir. Sonuçlar çalışma popülasyonunda sporadik meme kanseri duyarlılığında bu üç glutatyon S-transferaz geni için bağımsız veya etkileşimli bir rolü desteklememektedir.

2021, 66 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: Polimeraz zincir reaksiyonu, Glutatyon, Meme kanseri, İzozim, Irak

ABSTRACT

Master of Science Thesis

GLUTATHIONE S-TRANSPHERUS GENE POLYMERPHISM IN VARIOUS CANCER PATIENTS

Manar Hasan Mahdi ALCHAABAWI

Çankırı Karatekin University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Advisor: Asst. Prof. Dr. İlkay ÇORAK ÖCAL
Co-Advisor: Dr. Maher Mohammed KHADAİRİ

The superfamily of glutathione S-transferases (GSTs) consists of multiple isozymes with substantial evidence of functional polymorphic variation. Over the past three decades, data from cancer studies have linked aberrant expression of GST isozymes with the development and expression of resistance to a variety of chemicals, including cancer drugs. This study attempted to address how differences in human GST isozyme expression patterns affect cancer susceptibility, prognosis and treatment. This study attempted to address how differences in human GST isozyme expression patterns affect cancer susceptibility, prognosis and treatment. In this study, we used a PCR-based genotyping model to examine a polymorphism from each of the three GST genes, GSTM1, GSTP1 and GSTT1 in breast cancer susceptibility. The null genotype of GSTM1 was seen in approximately half (56% and 57%) of individuals in both the control and case populations. Our current results showed that GSTM1, GSTT1 and GSTP1 genotypes alone are not involved in breast cancer development, but this does not exclude interactions between genes and possible genotype combinations. However, genotypic analysis was not able to identify the combinations of genes tested in this study and predisposing genotypic combination correlations with breast cancer. Overall, our results do not support an independent or interacting role for these three glutathione S-transferase genes in sporadic breast cancer susceptibility in the study population.

2021, 66 pages

Keywords: Polymerase chain reaction, Glutathione, Breast cancer, Isozyme, Iraq

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Bu bilimsel çalışmayı babamın ruhuna adamak istiyorum. Yanımda olan ve beni destekleyen tüm aile üyelerime de teşekkür ediyorum. Danışmanım Dr. Öğr. Üyesi İlkay ÇORAK ÖCAL'a teşekkürlerimi, sevgilerimi ve saygılarımı sunarım. Destekleri için ikinci danışmanım Dr. Maher Mohammed KHADAİRİ'ye de teşekkürlerimi, sevgilerimi ve saygılarımı sunarım.

Manar Hasan Mahdi ALCHAABAWI
Çankırı, Aralık 2021

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **i**
ABSTRACT ..... **ii**
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR ..... **iii**
İÇİNDEKİLER ..... **iv**
SİMGELER DİZİNİ ..... **vi**
KISALTMALAR DİZİNİ ..... **vii**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **viii**
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **ix**
1. GİRİŞ **1**
2. LİTERATÜR ÖZETİ **4**
2.1 Glutatyon S-Transferazlar (GST'ler) **4**
2.2 GST Ailesi: Genetik Varyantlar **9**
2.2.1 GST alfa sınıfı **9**
2.2.2 GST mü sınıfı **10**
2.2.3 GST pi sınıfı **11**
2.2.4 GST teta sınıfı **12**
2.2.5 GST zeta sınıfı **13**
2.3 Etnik Köken ve GST Polimorfizmleri **13**
2.4 GST Polimorfizmleri ve Kansere Yatkınlık **15**
2.4.1 Baş ve boyun kanseri **18**
2.4.2 Meme kanseri **21**
2.4.3 Hepatoselüler karsinoma **22**
2.4.4 Gastrik kanseri **23**
2.4.5 Akciğer kanseri **24**
2.4.6 Böbrek ve idrar kesesi hücreli karsinomu **27**
2.4.7 Prostat kanseri **28**
2.5 GST Null Fenotipi ve Kanser Prognozu **30**
2.6 Epidemiyolojik Değerlendirme **30**
2.7 GST'ler ve Kinaz Düzenlenmesi **31**
2.8 Farmakogenetik ve GST'ler **34**

2.9 Terapötik Ajanlar Olarak GST'ler 38
3. MATERYAL VE METOT 42
3.1 Materyal 42
3.1.1 Kimyasal ve reaktifler 42
3.1.2 PZR malzemeleri 43
3.2 Yöntem 44
3.2.1 DNA izolasyonu 44
3.2.2 Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) 45
3.2.3 Restriksiyon endonükleaz kesimi 46
3.2.4 Agaroz jel elektroforezi 46
3.2.5 Bireylerin genotiplenmesi 47
3.2.6 İstatiksel analiz 48
3.2.7 Odds oranı hesaplama 49
3.2.8 Gen-çevre, gen-gen etkileşim analizleri 50
4. BULGULAR 51
5. SONUÇ VE TARTIŞMA 54
KAYNAKLAR 57
ÖZGEÇMİŞ 66

SİMGELER DİZİNİ

bp	Baz çifti
°C	Santigrat derece
gr	Gram
Kb	Kilobaz
mg	Miligram
mL	Mililitre
mM	Milimolar
p	Olasılık
pmol	Pikomol
rpm	Dakikada devir
µL	Mikrolitre

KISALTMALAR DİZİNİ

AML	Akut miyelojenöz lösemi
BC	Meme kanseri
EA	Etakrinik asit
ERK	Hücre dışı düzenlenmiş kinaz
GC	Mide kanseri
GSH	Glutatyon
GST	Glutatyon S-transferaz
HCC	Hepatoselüler karsinom
HNSCC	Baş ve boyun skuamöz hücreli karsinom
JNK	Jun kinaz
LC	Akciğer kanseri
MAPK	Mitojenle aktifleştirilen protein kinaz
PAH	Polisiklik aromatik hidrokarbon
PC	Prostat kanseri
PZR	Polimeraz zincir reaksiyonu
RCC	Renal hücreli karsinom
TCC	Transizyonel hücreli karsinom

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Enzimatik detoksifikasyona genel bakış (Sheehan *et al.* 2001).....5
Şekil 2.2 Glutatyon S-transferaz süper gen ailesi (Strange *et al.* 2001) 6
Şekil 2.3 Glutatyon konjugasyonu ve eliminasyonu (Coleman *et al.* 1997).....7
Şekil 2.4 Risk dengesi (Marques *et al.* 2006). 20
Şekil 2.5 Glutatyon S-transferaz ve kanser duyarlılığını içeren yayınlar (Di Pietro *et al.* 2010).....22
Şekil 2.6 GST'ler ve kinaz düzenlemesi (Di Pietro *et al.* 2010).....32
Şekil 2.7 Stres ve antikanser ilacı ile reaktif oksijen türlerinin üretilmesi ve glutatyon transferaz yolu ile düzenlenmesi (Di Pietro *et al.* 2010). 33
Şekil 2.8 Nitrozatif stres ve glutatyon ile ortadan kaldırılması (Di Pietro *et al.* 2010). .38
Şekil 2.9 İlaç direncinde GST'ler (Di Pietro *et al.* 2010) 40
Şekil 3.1 Standart DNA markerları (Lan *et al.* 2012).....44
Şekil 3.2 GSTM1, GSTT1 ve GSTP1'in genotip dağılımını gösteren agaroz jel görüntüsü 47
Şekil 4.1 GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 polimorfik PZR ürünlernin agaroz jel elektroforezi ile çözülmesi 52

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 İnsan hastalıklarında sitozolik GST'lerin en alakalı polimorfizmleri (Di Pietro *et al.* 2010). 11
Çizelge 2.2 Dünya çapındaki popülasyonlarda GSTM1, GSTT1 ve GSTP1'in genotip ve alel frekansları (Di Pietro *et al.* 2010) 16
Çizelge 3.1 Kullanılan primerler ve dizileri 46
Çizelge 4.1 Etkilenen meme kanseri ve kontrol popülasyonları arasındaki genotip sıklıklarının karşılaştırılması 51
Çizelge 4.2 Genotip dağılımı ve genotip kombinasyonları ile ilişkili risk 53

1. GİRİŞ

Birçok çalışma, Glutatyon S-transferaz (GST) polimorfik ekspresyonunun kanser insidansı ve prognozu ile epidemiyolojik bağlantısını sağlamıştır. Ancak bazen veriler parçalanmış ve tutarsızdır. Bu tutarsızlıklar, kesin sonuçlar çıkarmaya çalışırken her çalışmanın sınırlamalarını ve değişkenlerini dikkate almanın önemini vurgulamaya hizmet eder. GST'lerin kinaz sinyallemesinde ve glutatyonilasyonda kritik rol oynadığı gösterilmiştir. Bu da işlevlerinin endojen katalitik özelliklerinin ötesine uzandığını gösterir (Axarli *et al.* 2004).

Glutatyon S-transferazların (GST'ler) süper ailesi, fonksiyonel polimorfik varyasyonun önemli kanıtlarına sahip çoklu izozimlerden oluşur. Son otuz yılda, kanser çalışmalarından elde edilen veriler, GST izozimlerinin anormal ekspresyonunu, kanser ilaçları da dâhil olmak üzere çeşitli kimyasallara karşı direnç gelişimi ve ekspresyonu ile ilişkilendirmiştir. Bu çalışma, insan GST izozim ekspresyon modellerindeki farklılıkların kanser duyarlılığını, prognozunu ve tedavisini nasıl etkilediğini ele almaya çalışacaktır. İyi karakterize edilmiş katalitik aktiviteye ek olarak, son kanıtlar bazı GST izoenzimlerinin mitojenle aktifleştirilen protein kinazları düzenleyebildiğini veya hedef proteinlerde (S-glutatyonilleme) sistein kalıntılarına glutatyon eklenmesini kolaylaştırabildiğini göstermiştir. Bu çoklu işlevler, GST'leri yeni küçük molekül terapötikleri ile hedefleme çabalarına katkıda bulunmuştur. GST'nin gelişen işlevleri ve bireylerdeki farklı ifade kalıpları, onları ilaç keşfi için çekici bir hedef haline getirmiştir. (Ekhart *et al.* 2009)

Kanser tedavisinde başarısızlığın ve hastalığın tekrarlamasinin birincil nedeni, antikanser tedavilerine edinilmiş içsel bir dirençtir. İlaç direncinin elde edilmesi, apoptotik hücre ölümünün önlenmesi, çoklu ilaç direnci ile ilişkili proteinlerin değiştirilmiş ifadesi, değiştirilmiş ilaç metabolizması veya alımı veya glutatyon Stransferazların (GST'ler) aşırı ekspresyonunu içeren çeşitli faktörlere bağlanabilir. GST'ler, glutatyonun (GSH) çok çeşitli ksenobiyotiklere konjügasyonunu katalize eden Faz II detoksifikasyon enzimleri ailesidir. Bu detoksifikasyon yeteneği, çevresel ve oksidatif strese karşı hücresel

korumada rol oynar, ancak aynı zamanda ilaçlara karşı hücresel direnç ile de ilgilidir (Ekhart *et al.* 2009).

Kemoterapiye dirençli tümör hücre dizilerinin GST izozimlerini aşırı eksprese ettiği gösterilmiştir. Bu aşırı ifade, ilaç substratlarının hızlandırılmış bir detoksifikasyonuna ve dolayısıyla kazanılmış bir dirence yol açar. Bununla birlikte, spesifik dirençli ilaç bir enzim substratı olmasa bile, ilaç direnci, belirli GST izoformlarını eksprese eden hücrelerde sergilenir. Bu anomali, GST'lerin mitojenle aktifleştirilen protein kinazlar (MAPK) ve hücre dışı düzenlenmiş kinazlar (ERK) gibi hücre döngüsü bileşenlerinin düzenlenmesinde ligand bağlayıcı proteinler olarak hareket etme kabiliyeti ile açıklanabilir (Ali-Osman *et al.* 2002).

Diğer birçok hastalık ile ortak olan kanser, etiyolojisinin hem genetik hem de çevresel bileşenlerine sahiptir. Önleyici stratejilerin geliştirilmesi için, kanser geliştirmenin bireysel risklerini değiştiren kalıtsal ve edinilmiş konakçı faktörleri tanımlamak önemlidir. Ksenobiyotik metabolize edici enzimlerde genetik polimorfizm sonucu olarak çevresel kanserojenleri metabolize etme kapasitesindeki kalıtsal farklılıklar kansere karşı bireysel duyarlılığı değiştirmesi önerilmiştir (Ali-Osman *et al.* 2002).

Glutatyon S-transferazları (GST'ler), glutatyonun (GSH) çok çeşitli endojen ve ekzojen elektrofilik bileşiklere konjugasyonunu katalize eden Faz II detoksifikasyon enzimleri ailesidir. Bugüne kadar insan sitosolik GST süper ailesi, Alfa, Mu, Pi, Theta, Zeta, Sigma ve Omega olarak adlandırılan sekiz ayrı sınıfa bölünmüş en az 16 gen içerirken, GST Kappa mitokondride bulunur, peroksizomlarda olduğu gibi aynı atalardan türetilmiş olmalarına rağmen yapısal olarak farklı olan diğer çözünür sitozolik GST'leri oluştururlar. Diğer GST'lerin aksine, glutatyon S-transferaz Omega (GSTO), GSH ile bir disülfür bağı oluşturabilen ve glutatyona bağlı tiyol transferaz ve dehidroaskorbat redüktaz aktiviteleri sergileyen ve tioredoksin ve glutaredoksin enzimlerini anımsatan aktif bölgesinde bir sisteine sahiptir (Ali-Osman *et al.* 2002).

Enzim aktivitesinde değişikliklere neden olan polimorfik glutatyon S-transferaz (GST) genleri, kansere karşı bireysel duyarlılığı etkileyebilir. Her ne kadar GSTO1 ve

GSTO2'de polimorfizmler rapor edilmiş olsa da, kanser riskine yatkınlıkları henüz araştırılmamıştır (Ali-Osman *et al.* 2002).

Çalışmada, glutatyon S transferaz gen polimorfizminin, hepatosellüler karsinom, kolanjiyokarsinom ve meme kanseri gelişimi için bir risk faktörü olarak önemli bir rol oynadığını görülmüştür (Ali-Osman *et al.* 2002).

2. LİTERATÜR ÖZETİ

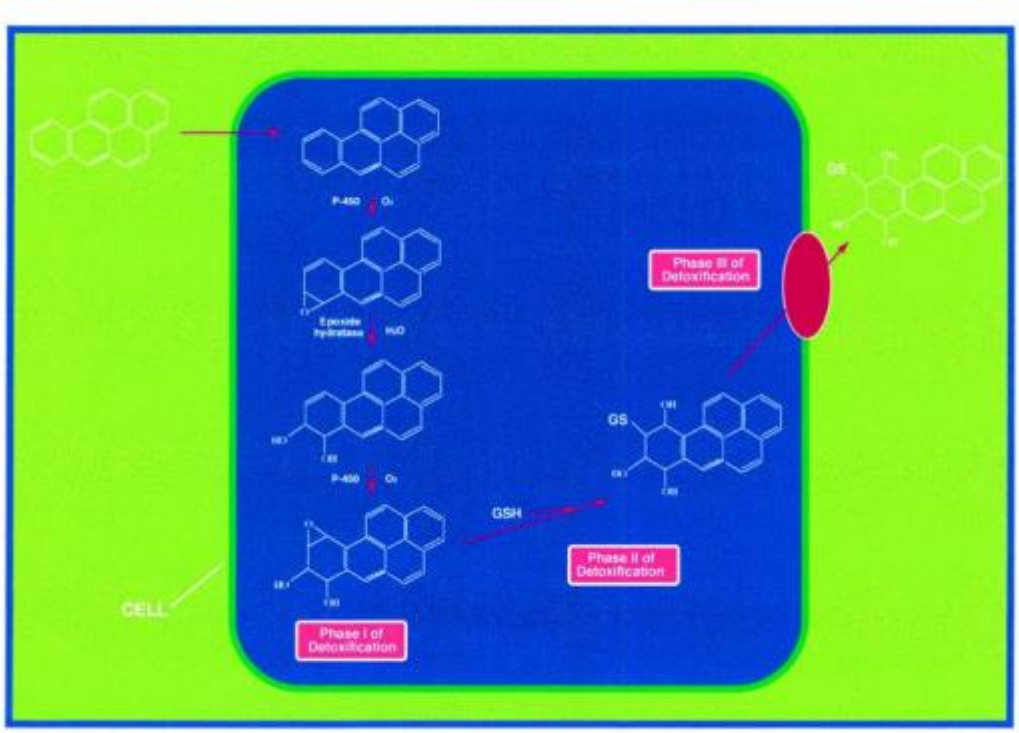
GST ailesinden genetik varyantlar, Etnik köken ve GST polimorfizmleri, çeşitli kanser türlerine yatkınlık, GST null fenotipi ve kanser prognozu, kinaz düzenlenmesi, farmakogenetik ve terapötik ajanlar olarak GST'ler konuları açıklanacaktır.

2.1 Glutatyon S-Transferazlar (GST'ler)

Canlı organizmalar sürekli olarak yabancı maddelere maruz kalırlar. Bu ksenobiyotikler organizmaya zarar vererek toksik ve bazen kanserojen etkilere neden olabilir. Doğal olarak oluşan toksik bileşikler arasında bitki ve mantar toksinleri (bitki fenolleri ve aflatoksinler) ve reaktif oksijen türleri (süperoksit radikali ve hidrojen peroksit) bulunur. Şekil 2.1'de görüldüğü üzere polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH) gibi ksenobiyotiklerin enzimatik detoksifikasyonu üç farklı fazda sınıflandırılmıştır. Faz I ve II, lipofilik, polar olmayan bir ksenobiyotiğin daha suda çözünür ve dolayısıyla daha sonra faz III'de hücreden daha kolay elimine edilebilen daha az toksik bir metabolite dönüştürülmesini içerir (Sheehan *et al.* 2001).

Faz I, esas olarak sitokrom P450 sistemi tarafından katalize edilir. Faz II enzimleri, aktive edilmiş ksenobiyotiklerin indirgenmiş glutatyon (GSH), UDP-glukuronik asit veya glisin gibi endojen suda çözünür substratlara konjugasyonunu katalize eder. Birçok türde, GST'ler tarafından katalize edilen indirgenmiş glutatyona konjugasyon, ana faz II reaksiyonudur. GST'ler, α, β-doymamış ketonlar, nükleofilik aromatik ikameler ve epoksit halka açma reaksiyonlarına konjugat bir şekilde bir enolat iyonunun eklenmesini içeren Micheal ekleme reaksiyonları gibi GSH konjugatlarının oluşumuyla sonuçlanan reaksiyonları katalize edebilir. Hidroperoksitlerin indirgenmesi de GST'ler tarafından katalize edilir ve oksitlenmiş glutatyon (GSSG) oluşumu ile sonuçlanır. GSH-ksenobiyotik konjugatı, hücreden serbestçe yayılmak için fazla hidrofiliktir ve GS-X pompası gibi bir transmembran ATPaz tarafından aktif olarak dışarı pompalanmalıdır.

GST'ler dimeriktir ve esas olarak sitozoliktir. Detoksifikasyondaki katalitik rollerine ek olarak, geniş ligand bağlama özelliklerine sahiptirler. Sitosolik enzimlerden oldukça farklı olarak, ayrı bir mikrozomal GST sınıfı mevcuttur. GST'lerin mikrozomal sınıfı, "eikosanoid ve glutatyon" metabolizmasında zarla ilişkili protein (MAPEG) olarak tanımlanır.

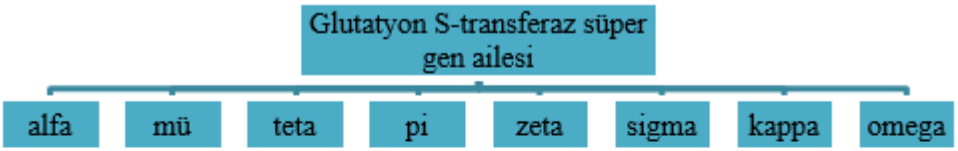


Şekil 2.1.1 Enzimatik detoksifikasyona genel bakış (Sheehan *et al.* 2001)

GST'ler, amino asit dizisi ve immünolojik kinetik ve üçüncül yapısal özellikler bakımından bir dizi sınıfa ayrılan karmaşık ve yaygın bir enzim süper ailesi içerir. Şekil 2.2'de görüldüğü üzere insan GST'leri, en az sekiz farklı sınıf içeren bir izozim ailesidir; alfa (A), mu (M), pi (P), sigma (S), teta (T), kappa (K), zeta (Z), ve omega (O) (Strange *et al.* 2001).

Antioksidan enzim grubunun üyeleri olan GST'ler, oksidan stres tarafından da düzenlenir. Dimerikteki GST gen ailesi enzim yapısının çeşitli dokularda ifade edildiği bilinmektedir. GST sınıfı enzimler, azaltılmış glutatyon (GSH) seviyesi sayesinde, çeşitli elektrofilleri

yeniden etkinleştirir. Ayrıca bir sorumlu seviyelerini azaltarak hücresel savunmada temel işlev görür. Genetik GSTM1 ve GSTT1 genlerindeki homozigot delesyonlar gibi belirli GST sınıfı enzimleri kodlayan genlerdeki polimorfizmler, GSTM1 veya GSTT1 protein ürünlerinin tamamen kaybına neden olur (Strange *et al.* 2000). Önceki meta analiz çalışmaları yoluyla, boş GSTT1 genotipinin olabileceğine dair kanıtlar vardır. Meme kanseri, akciğer kanseri, mide kanseri ve karaciğer kanseri gibi farklı kanserlerin riskinin artmasıyla ilişkilidir (Coleman *et al.* 1997, Board *et al.* 2000).



Kromozom	6p	1p	22q	11q	14q	4q	ND	10q
Genler	A1-A4	M1-M5	T1,T2	P1	Z1	S1	K1	O1
Alelik	evet	evet	evet	evet	evet	?	?	?

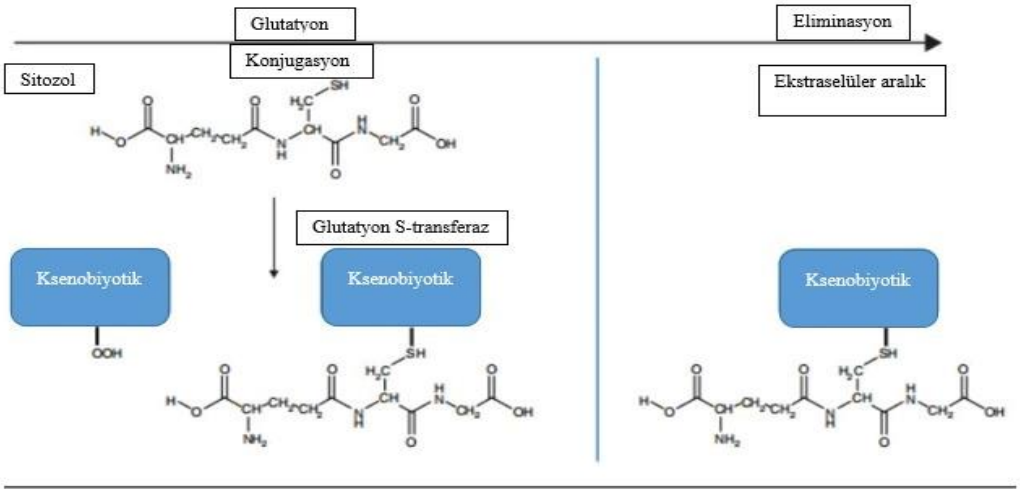
Şekil 2.12 Glutatyon S-transferaz süper gen ailesi (Strange *et al.* 2001)

Kanser tedavisi başarısızlığının ve hastalığın tekrarlamasının birincil nedeni, kanser tedavilerine karşı kazanılmış içsel dirençtir. İlaç direncinin kazanılması, apoptotik hücre ölümünün önlenmesi, çoklu ilaç direnci ile ilişkili proteinlerin değiştirilmiş ekspresyonu, değiştirilmiş ilaç metabolizması veya alımı, glutatyon S transferazların (GST'ler) aşırı ekspresyonunu içeren çeşitli faktörlere bağlanabilir. GST'ler, glutatyonun (GSH) çok çeşitli ksenobiyotiklere konjugasyonunu katalize eden bir Faz II detoksifikasyon enzimleri ailesidir. Bu detoksifikasyon yeteneği, çevresel ve oksidatif strese karşı hücresel korumada rol oynar, ancak aynı zamanda ilaçlara karşı hücresel dirençle de ilişkilendirilir.

Kemoterapötiklere dirençli tümör hücre hatlarının GST izozimlerini aşırı ifade ettiği gösterilmiştir. Bu aşırı ekspresyon, ilaç substratlarının hızlandırılmış bir detoksifikasyonuna ve dolayısıyla kazanılmış bir dirence yol açar. Bununla birlikte, belirli seçici ilaç bir enzim substratı olmadığında bile, GST'lerin belirli izoformlarını eksprese eden hücrelerde ilaç direnci sergilenir. Bu anomali, GST'lerin, mitojenle aktive

olan protein kinazlar (MAPK) ve hücre dışı düzenlenmiş kinazlar (ERK) gibi hücre döngüsü bileşenlerinin düzenlenmesinde ligand bağlayıcı proteinler olarak hareket etme yeteneği ile açıklanabilir. Glutatyon S-transferazları (GST'ler), hücresel detoksifikasyonda kilit bir rol oynayan, makromolekülleri çevresel kanserojenler, reaktif oksijen türleri ve kemoterapötik ajanlar olmak üzere reaktif elektrofillerin saldırısından koruyan, her yerde bulunan, çok işlevli enzimlerin bir üst ailesini oluşturur (Strange *et al.* 2000).

Şekil 2.3 glutatyon konjugasyonu ve eliminasyonunu göstermektedir. Tüm GST'lerin ortak bir özelliği, tripeptid glutatyonun (GSH; g-Glu-Cys-Gly) elektrofilik fonksiyonel gruplara sahip çok çeşitli eksojen ve endojen kimyasallara (çevresel kirleticiler ve kanserojenler), böylece elektrofilik bölgelerini nötralize ederek ve ürünleri suda daha çözünür hale getirerek Faz III enzimler tarafından hücreden eliminasyonunu kolaylaştırır (Coleman *et al.* 1997). Ek olarak, GST'ler peroksidazlar, izomerazlar ve tiyol transferazlar olarak hizmet edebilir (Board *et al.* 2000). Ayrıca substrat olmayan ligand bağlanması ve sinyal süreçlerinin modülasyonu gibi katalitik olmayan fonksiyonlara da sahip olabilirler (Axarli *et al.* 2004).



Şekil 2.13 Glutatyon konjugasyonu ve eliminasyonu (Coleman *et al.* 1997)

GST'ler doğada yaygın olarak dağılmıştır ve hem ökaryotlarda hem de prokaryotlarda metabolik detoksifikasyon süreçlerinde temel Faz II enzimleri olarak bulunur (Hayes *et*

al. 2005). İnsanlarda GST'ler, sitozolik veya çözünür GST'ler, mitokondriyal ve peroksizomal (k sınıfı) ve mikrozomal GST'ler (şimdi MAPEG olarak adlandırılır, eikosanoid ve glutatyon metabolizmasında yer alan zarla ilişkili proteinler) olmak üzere en az üç ana protein ailesine ayrılır (Morel *et al.* 2004). İnsan sitozolik GST ailesi, hastalık araştırmaları için en karmaşık ve alakalı olanıdır. Amino asit dizisi benzerliklerine, genlerin fiziksel yapısına (yani intron sayısı ve pozisyonu) ve immünolojik çapraz reaktiviteye dayalı olarak sitozolik GST'ler, alfa, mü, kappa, pi, sigma, teta ve zeta olarak adlandırılan yedi ayrı sınıfa ayrılır. Sadece N-terminal bölgesi düşünüldüğünde özdeşlik artar. Bu bölge, GSH ile etkileşime giren kalıntılarla birlikte aktif sitenin bir kısmını içerdiğinde, özdeşlik, dizi özdeşliğinin %90'ına ulaşabilir. Bununla birlikte, belirli bir memeli GST'leri sınıfına üyelik için bir kriter olarak %50 sekans özdeşliği sınırı belirlenmiştir (Ji *et al.* 1995). Hemen hemen tüm çözünür GST'ler, 23 - 30 kDa'lık alt birimlerin dimmerleri olarak aktiftir ve 199 - 244 amino asit uzunluğundaki (aynı, homodimerler veya farklı, heterodimerler) alt birimleridir ve her bir dimer bağımsız genler tarafından kodlanır (Frova 2006). Hem bitki hem de hayvan türlerinin genomlarında GST gen kümelerinin sistematik varlığı, bu gen ailesi içindeki ortak bir organizasyonel temanın göstergesidir ve evrimsel geçmişlerini yansıtır.

GST genotipleri ve hastalık fenotipi arasındaki ilişkiler, hedef genlerdeki spesifik mutasyonlar ve sitogenetik hasar arasındaki bir bağlantıyı yansıtabilir. Muhtemelen genotipler, tek başına veya kombinasyon halinde, detoksikasyon eksikliği olan ve sonuç olarak kanserojen-DNA eklentileri ve/veya mutasyonlardan muzdarip olma olasılığı daha yüksek olan denekleri tanımlamalıdır. Bu bozuklukların çoğunluğunun genetik belirleyicileri şu anda tam olarak anlaşılamamıştır, ancak var olan birkaç örnek, gen frekansında (genetik ve çevresel faktörler) klinik olarak önemli ırksal ve etnik farklılıklar göstermektedir.

2.2 GST Ailesi: Genetik Varyantlar

2.2.1 GST alfa sınıfı

İnsan alfa sınıfı GST, kromozom 6p12 içinde kümelenmiş genler tarafından kodlanır. Küme beş genden oluşur: GSTA1, GSTA2, GSTA3, GSTA4 ve GSTA5 ve yedi psödogen. Karaciğerin başlıca GST'leri olan GSTA1 ve GSTA2'nin ekspresyonunun değişkenliğinin, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunun etkinliğini etkilediği düşünülmektedir. GSTA sınıfı, insan dokularında, ağırlıklı olarak karaciğerde yaygın olarak eksprese edilir. Hem GSTA1 hem de GSTA2 genlerinin polimorfik olduğu gösterilmiştir (Hayes *et al.* 2005).

GSTA1 düzenleyici sekansının polimorfizmi, hepatik GSTA1 ekspresyonunun bazı varyasyonlarını belirler. İki insan GSTA1 aleli GSTA1*A ve GSTA1*B'dir ve proksimal promotör bölgesinde -567, -69 ve -52 pozisyonlarında ikame edilmiş üç bağlantılı baz içerir. GSTA* 1, sırasıyla -567, -69 ve -52 konumlarında T, C ve G'ye sahiptir ve GSTA*B'li bireylerde G, T ve A bulunur. Bu varyantlar, normal koşullar altında, daha yüksek transkripsiyonel aktivite ile sonuçlanır. GSTA1*A geni (vahşi tip) ve in vitro olarak GSTA1*B (varyant) aleli ile daha düşük transkripsiyonel aktivasyon (Morel *et al.* 2002). GSTA1*B varyantını taşıyan bireylerden alınan karaciğer, düşük GSTA1 enzim seviyeleri göstermiştir (Coles *et al.* 2001).

GSTA2 lokusu beş GSTA2 alelik varyantı, GSTA2*A – E içerir, ancak GSTA2 polimorfizmlerinin (ekson 5 ve 7) GSTA2 aktivitesini etkilediği düşünülmemiştir. Ning *et al.* (2004), bir dizi insan karaciğer numunesi için GST protein ekspresyonunun analizi ile Ser112 varyantlarının (GSTA2*A, *B, *D veya *E alellerinde) hepatik ekspresyonunun Thr112 varyantınınkinden yaklaşık dört kat daha yüksek olduğunu ileri sürmüştür (GSTA2*C) (Ning *et al.* 2004).

GST yoluyla genetik bir ksenobiyotiğe GSH konjugasyonu, bir GSH-S konjugatının oluşumuyla sonuçlanır. GST'ler, glutamin, sistein ve glisin aminoasitlerinden oluşan suda

çözünür bir tripeptit olan indirgenmiş GSH'yi ve sülfhidril grubu aracılığıyla elektrofilik merkezlere konjugasyonu katalize eder. GST etkinliği, bir yandan GSH sağlamak için glutamat sistein ligaz ve GSH sentazın birleşik eylemlerine, diğer yandan da taşıyıcıların hücreden GSH konjugatlarını uzaklaştırma eylemlerine bağlıdır. (Di Pietro *et al.* 2010).

2.2.2 GST mü sınıfı

İnsan μ sınıfı GST, kromozom 1p13.3 üzerinde bulunan 5¢ GSTM4-GSTM2-GSTM1-GSTM5-GSTM3 3¢ sıralı 100 kb'lik bir gen kümesi tarafından kodlanır (Xu and Wang 1998). GSTM1, μ sınıfını kodlayan genlerden biridir ve üç polimorfizm tanımlanmıştır. Bir polimorfizm, fonksiyonel gen ürünü (GSTM1 null) eksikliği ile sonuçlanan bir silmedir. Diğer ikisi, GSTM1*A ve GSTM1*B, bir C519G ikamesi ile farklılık gösterir. Bu da amino asit 173'te asparajin (Asn) ile Lys ikamesi ile sonuçlanır (Rebbeck 1997). Karşılaştırma testleri için kullanılan substrat tiplerinin sınırlı sayıda olmasına rağmen, GSTM1*A ve GSTM1*B varyantları arasında herhangi bir fonksiyonel farklılık kanıtı bulunmamıştır. Bu nedenle, bu aleller tipik olarak tek bir fonksiyonel fenotip olarak birlikte kategorize edilir (Widersten *et al.* 1991).

Homozigot silme (GSTM1 null) epidemiyolojik çalışmalarda kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. GSTM1 null, sol ve sağ 4,2 kb tekrarları içeren homolog bir rekombinasyondan kaynaklanır (Xu and Wang 1998). GSTM1 lokusunun homozigot delesyonu olan denekler, enzimatik fonksiyonel aktiviteye sahip değildir. Birkaç çalışma, GSTM1 boş genotipinin ilaca ve kanserojen detoksifikasyonuna müdahale edebileceğini göstermektedir. Bu iddiayı destekleyen bazı çalışmalar, GSTM1 boş genotipinin çocukluk çağı akut lenfoblastik lösemisinde kemoterapiye başarılı yanıtın önemli bir belirleyicisi olduğunu öne sürmektedir (Rocha *et al.* 2005). Inskip *et al.* (1995), YY1 (Yin Yang 1) transkripsiyon faktörü için bir intronik tanıma motifinin varlığı ile farklılık gösteren iki GSTM3 aleli (GSTM3*A, GSTM3*B) tanımlamıştır (bunun normal biyolojik süreçlerde temel bir rolü olduğu bilinmektedir). Embriyogenez, farklılaşma, replikasyon ve hücresel proliferasyon gibi GSTM3*B'nin gen ekspresyonunu düzenlediği varsayılmıştır (Inskip *et al.* 1995).

2.2.3 GST pi sınıfı

İnsan hastalıklarında sitozolik GST'lerin en alakalı polimorfizmleri Çizelge 2.1'de verilmiştir.

Çizelge 2.11 İnsan hastalıklarında sitozolik GST'lerin en alakalı polimorfizmleri (Di Pietro *et al.* 2010).

Sınıf	Kromozom	Gen_Erişim no.	Aleller	Polimorfizmin konumu	Protein değişimi
α	6p12	GSTA1_2938 GSTA1_2939	GSTA1*A GSTA1*B GSTA2*A GSTA2*B GSTA2*C GSTA2*D GSTA2*E	-567T, -69C, -52G -567G, -69T, -52A 328C, 335G, 588G, 629A 328C, 335G, 588G, 629C 328C, 335C, 588G, 629A 328C, 335G, 588T, 629C 328T, 335G, 588G, 629A	Referans Düşük protein seviyeleri Pro^{110}, Ser^{112}, Lys^{196}, Glu^{210} Pro^{110}, Ser^{112}, Lys^{196}, Ala^{210} Pro^{110}, Thr^{112}, Lys^{196}, Glu^{210} Pro^{110}, Ser^{112}, Asn^{196}, Ala^{210} Ser^{110}, Ser^{112}, Lys^{196}, Glu^{210}
μ	6p12	GSTM1_2944 GSTM3_2947	GSTM1*A GSTM1*B GSTM1-geçersiz GSTM3*A GSTM3*B	519G 519C Gen silme Doğal fenotip İntron 6'da 3 bp silme	Lys^{173} Asn^{173} Protein yok Referans Protein değişmedi
π	11q13.3	GSTP1_2950	GSTP1*A GSTP1*B GSTP1*C GSTP1*D	313A, 341C 313G, 341C 313G, 341T 313A, 341T	Ile^{105}, Ala^{114} Val^{105}, Ala^{114} $Val1^{05}$, Val^{114} Ile^{105}, Val^{114}
Θ	22q11.23	GSTT1_2952	GSTT1*A GSTT1-geçersiz GSTT1*B	310A Gen silme 310C	Thr^{104} Protein yok Pro^{104}
ω	10q24.3	GSTO1_9446 GSTO2_119391	GSTO1*A GSTO1*C GSTO2*A GSTO2*B	419C 419A 424A 424G	Ala^{140} Asp^{140} Asn^{142} Asp^{142}

GSTP1, en çok çalışılan GST genlerinden biridir. Kromozom 11q13 üzerinde bulunan ve dokuz ekzon içeren bu gen, enzimlerin p sınıfını kodlar. GSTP1, izolösin (Ile) ila Valin (Val) ve 114, Alanin (Ala) ila Val amino asitlerindeki ikamelere dayanan iki ortak fonksiyonel varyanta sahip polimorfiktir ve aktifteki değişikliklerden dolayı farklı katalitik verimlilikler gösterir (Hu *et al.* 1997, Ali-Osman *et al.* 2002). Böylece dört haplotip tanımlanmıştır: doğal tip GSTP1*A (Ile105 + Ala114) ve üç varyant haplotip, GSTP1*B (Val105 + Ala114), GSTP1*C (Val105 + Val114) ve GSTP1*D (Ile105 +

Val114) (Watson *et al.* 1998). GSTP1*B'de, en kapsamlı şekilde çalışılan GSTP1 genetik varyantı, 313 baz çiftinde bir A1404G (ekson 5) ikamesinde meydana gelir, bu da kodon 105'te Ile'den Val'e bir amino asit farkıyla sonuçlanır. GSTP1*D'nin taşıyıcıları bir nükleotit ikamesine sahiptir. Kodon 114'te Ala ila Val ikamesi ile sonuçlanan C2294T (ekson 6). GSTP1*C bu geçişlerin her ikisini de içerir (Val105 + Val114).

Ile105, 1-kloro-2,4-dinitrobenzen için Val105 varyantından (Ali-Osman *et al.* 2002) daha yüksek bir katalitik etkinliğe sahip olsa da, ikincisi polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH) diol epoksit detoksifikasyonuna (Hu *et al.* 1997) daha yüksek katalitik etkinlik kazandırıyor gibi görünmektedir. Birçok çalışma, GSTP1*B'nin tümörlerde sıklıkla yüksek oranda eksprese edildiğini ve hem kanserojen süreçte hem de ilaç direncinin gelişmesinde rol oynadığını göstermiştir (Henderson and Wolf 2005). Bu nedenle, yüksek GSTP1*B ekspresyonu, agresif tümörler ve kemoterapi ile kötü bir prognoz ile ilişkilendirilmiştir.

2.2.4 GST teta sınıfı

GST'lerin teta sınıfı, 22q11.2'de bulunan ve yaklaşık 50 kb (Landi 2000) ile ayrılan iki gen, GSTT1 ve GSTT2'den oluşur. q GST'lerin en eskisi olarak kabul edilir ve q-benzeri GST'ler incelenen hemen hemen tüm organizmalarda bulunur (Pemble and Taylor 1992). GSTT substratları arasında, yanma ürünleri, diyet ve tütün dumanında bulunan PAH'lar gibi gıda, hava veya ilaçlarda bulunan çeşitli çevresel kanserojenler vardır (Meyer *et al.* 1991). GSTM1'e benzer şekilde, GSTT1'deki en yaygın genetik varyant, aktif enzim eksikliği ile sonuçlanan tüm genin silinmesidir (Sprenger *et al.* 2000). GSTT1 lokusunda tam delesyon, insan eritrositleri tarafından halometanların glutatyon ile ilişkili detoksifikasyonundaki fenotipik varyasyon gözlemlenerek, 'pozitif' (GSTT1+) ve 'negatif' (GSTT1 null) konjugatör fenotipleri ile sonuçlanan varsayımda bulunulmuştur (Bruhn *et al.* 1998). Aminoasit 104'te bir treonin-prolin ikamesi ile sonuçlanan daha az yaygın bir başka polimorfizmin (rs11550605) aynı zamanda bir konjugatör olmayan fenotip ile sonuçlandığı açıklanmıştır (Alexandrie *et al.* 2002).

2.2.5 GST zeta sınıfı

GSTO, GST üst ailesinin diğer üyelerinden yapı ve işlev olarak bazı farklı özelliklere sahip olan yeni tanımlanmış bir GST alt ailesidir. Diğer alt ailelerin aktif bölgelerinde bulunan serin veya tirozinin aksine aktif bölgelerinde bir sistein kalıntısı vardır (Board *et al.* 2000). Bu GST'ler, yaygın GST substratları (1-kloro-2,4-dinitrobenzen gibi) ile zayıf aktiviteye sahiptir, ancak yeni GSH'ye bağlı tiyoltransferaz, dehidroaskorbat redüktaz ve monometilarsonat redüktaz aktiviteleri sergiler ve ryanodin reseptörleri tarafından Ca2+ salınımını modüle eder (Whitbread *et al.* 2003). GSTO1 ekspresyonu, karaciğer, kolon, kalp, yumurtalık, pankreas, prostat ve dalak dahil olmak üzere çok çeşitli normal dokularda bol miktarda bulunur (Yim *et al.* 2002). GSTO1'in yaygın dağılımı, önemli biyolojik fonksiyonlara sahip olduğunu düşündürmektedir.

İnsanlarda w sınıfı GST, iki eksprese edilmiş gen GSTO1 ve GSTO2 ve bir psödo gen GSTO3p içerir (Whitbread *et al.* 2003). Hem GSTO1 hem de GSTO2 genleri altı ekzondan oluşur ve 10q24.3 kromozomu üzerinde 7,5 kb ile ayrılır. İnsan GSTO genlerindeki iki polimorfizmin etnik gruplarda en sık görüldüğü gösterilmiştir. GSTO1*C (rs4925) ve GSTO2*B (rs156697). GSTO1*C aminoasit 140'ta bir Ala ila asit aspartik (Asp) ikamesi ile sonuçlanır, bu da hidrofobikten hidrofilik tortuya koruyucu olmayan bir amino asit değişimi yaratır. Tanaka-Kagawa *et al.* (2003), GSTO1*C'nin tiyol transferaz aktivitesinin, hücresel oksidasyon streslerine karşı kusurlu koruma ile sonuçlanabileceğini yansıtarak, doğal türün %75'i olduğunu bildirmiştir (Tanaka-Kagawa *et al.* 2003). GSTO2 geninde ekson 4'te nükleotid pozisyonunda A424G'nin (GSTO2*C) geçişi rapor edilmiştir. Bu da kodon 142'de Asn'den Asp'ye bir aminoasit farkı ile sonuçlanır. GSTO2 Asp142 varyant alloziminin gösterdiği bildirilmektedir. GSTO2 doğali tip (Asn142) allozim düzeyi ile kıyaslandığında ifade düzeyinde %20 azalma olmuştur (Mukherjee *et al.* 2006).

2.3 Etnik Köken ve GST Polimorfizmleri

Çevresel veya genetik faktörler hastalık riskinde temel öneme sahiptir ve etnik çeşitlilikten etkilenebilir. En son çalışmalar, etnik bileşenin GST genetik

polimorfizmlerinin dağılımındaki etkisini göstermiştir (Bolt *et al.* 2006). Bu alellerin dağılımının bilinmesi, bu varyantların bu gruplar arasında risk etkisi açısından farklılık gösterip göstermediğini belirlemek için önemlidir.

Çizelge 2.2'de dünya çapındaki popülasyonlarda GSTM1, GSTT1 ve GSTP1'in genotip ve alel frekansları verilmektedir. Genel olarak, GSTM1 (GSTM1 null) ve GSTT1 (GSTT1 null) genlerinin homozigot delesyonu nedeniyle enzim aktivitesinin eksikliğiyle sonuçlanan genetik polimorfizmler en çok çalışılanlardır. GSTM1 boş genotipi için, frekanslar Kafkasyalılar, Asyalılar ve Araplarda Afrikalılardan daha yüksektir. GSTM1 boş genotipi, beyaz popülasyonda %34 ile %58,3 arasında meydana gelir. Asyalılar arasında %47,6 ve %56,2; Araplarda %44 ve %56,3; siyahlar arasında %17 ve %46,7; ve yerli Latin Amerika popülasyonlarında %0'dan %43 olarak meydana gelmektedir. Paradoksal olarak, Negroid kökenli Güney Pasifik bireyleri arasında yürütülen çalışmalarda GSTM1 null'un en yüksek frekansları (%64-100) bildirilmiştir (Cotton *et al.* 1999). Bunun nedeni muhtemelen bu popülasyonların endogami ve genetik sürüklenme etkisi altında uzun bir süre izole kalmış olmalarıdır (Leichsenring *et al.* 2006).

GSTT1 null genotipi, Kafkasyalılarda daha düşüktür ve Asya popülasyonlarında önemli ölçüde artar. GSTT1 boş genotipi, Somalililer gibi bazı istisnalar dışında, Arap ve Afrikalı bireyler arasında benzer frekanslar gösterir (Buchard *et al.* 2007). En yüksek GSTT1 delesyon frekansları Asya popülasyonlarında (%64,4) mevcutken, şaşırtıcı bir şekilde en düşük frekanslar Asya kökenli olmalarına rağmen Güney Amerika yerlilerinde (%0 – 38,2) görülmektedir (Klautau-Guimaraes *et al.* 2005). Etnisite ile ilişkili GSTP1 polimorfizmlerini ele alan az sayıda çalışma vardır. Daha az katalitik aktiviteye sahip protein ekspresyonundan sorumlu olan GSTP1*BB genotipi, Kafkasyalılarda %5 ile %11,3, Asyalılarda %3,1-8 arasında değişebilir (Çin'deki Han etnik kökeni hariç %37,3), Araplarda %13, siyahlarda %8 – 23 ve Güney Amerika yerlileri arasında %13,8'lik bir sıklıktadır (Millikan *et al.* 2000).

GST'ler gibi ksenobiyotik metabolize edici enzimler, çeşitli kanserojenlere karşı önemli bir savunma hattı oluşturur. Bu bağlamda, bazı popülasyonların kimyasal kaynaklı karsinojeneze daha duyarlı olabileceğini varsayabiliriz. Aslında, GSTM1 ve GSTT1 boş

genotiplerinin çifte seçimi, Kafkasyalılarda %6,3 ile 13,8, Asyalılarda %24,6 – 29,1; Araplarda %8,8 – 17,2; siyahlarda %4,5 – 19 ve ayrıca Tupinamba Kızılderililerinde %14,7 kanser gibi çok sayıda hastalığın gelişme riskini artırmaktadır. Hastalık ilişkilerinin yanı sıra, etnik gruplar arasındaki farklı alel sıklığı paternleri, popülasyon dinamiği çalışmaları için ilginçtir (Garte *et al.* 2001, Magno *et al.* 2009).

2.4 GST Polimorfizmleri ve Kansere Yatkınlık

İnsan Genom Projesi, karmaşık hastalık riskini artıran veya azaltan kalıtsal genetik varyantların tanımlanmasını kolaylaştırmıştır. Ortak varyant hastalık hipotezi tarafından yönlendirilen birkaç genetik varyant, insanların fizyolojik özellikleri, yaygın kronik hastalıklar ve ilaca yanıttaki bireysel farklılıklar ile ilişkileri açısından değerlendirilmektedir.

Kanserojenlerin metabolize edilmesinde çeşitli genetik varyantlar rol oynar. Metabolize edilen substrata bağlı olarak, bireysel hastalık duyarlılığına katkıda bulunabilecek az ya da çok metabolik süreç verimliliği olabilir. Bu nedenle, popülasyon genetik çalışmalarının çoğu, ırksal veya etnik alt popülasyonlardaki metabolik genlerde geniş bir genetik varyasyon ortaya çıkarmıştır. Ancak hastalık riskindeki etki hakkında bir fikir birliği yoktur. Ayrıca, bu bozuklukların ve özelliklerin altında yatan genetik faktörlerin belirlenmesi, birçok genetik varyanttan etkilenmeleri ve hastalık fenotipinin de çevresel faktörlerden etkilenmesi nedeniyle sorunlu olmuştur. Aynı mutasyonlara sahip hastalar arasında bile, diğer değiştirici genler, spesifik çevresel etkiler, diğer hastalıklar ve yaşam tarzı güçlü etkiler gösterir. Kanserin genetik belirleyicileri şu anda yeterince anlaşılmamış olsa da, son yıllarda yapılan birkaç çalışma, kanserojenlerin biyolojik etkilerinin modülasyonundaki önemli rolleri nedeniyle GST polimorfizmlerinin kanser duyarlılığında bir etkisi olduğunu göstermiştir. Bu nedenle, GST genetik varyantlarının kanser riski ile ilişkisini değerlendirmek için yapılan bazı ilişkilendirme çalışmaları Çizelge 2.2'de tartışılmaktadır.

Çizelge 2.12 Dünya çapındaki popülasyonlarda GSTM1, GSTT1 ve GSTP1'in genotip ve alel frekansları (Di Pietro *et al.* 2010)

Etnik gruplar\ülkeler	n	GSTM1	GSTT1	GSTP1*B			GSTM1 null + Ref GSTT1 null	
		null	null	Ile/Ile	Ile/Val	Val/Val		
Kafkasyalılar								
Portekizce	501	58,3	-	-	-	-	-	(33)
İngiliz	1122	57,8	20,5	-	-	-	-	(33)
İsveçliler	544	55,9	13	-	-	-	-	(33)
Beyaz Brezilyalılar: Güneydoğu	1214	48-55,4	20-26	51,4	34,2	14,4	9,9-13	(34-38)
Beyaz Brezilyalılar: Kuzeydoğu	32	37,9	27,6	30	65	5	13,8	(39)
Beyaz Brezilyalılar: Orta batı	91	34	22	-	-	-	11	(40)
Kuzey Amerikalılar	2303	51-54,3	15-27,6	42	51	7	6,3	(33,41-43)
Danimarkalılar	537	53,6	12,9	-	-	-	-	(33)
Fransızca	1184	53,4	16,8	-	-	-	-	(33)
Danimarka	100	52	14	37	53	9	-	(44)
Almanlar	1618	44,9-51,6	13,4-19,5	47,9-55,1	36,2-40,8	8,7-11,3	-	(33,45,46)
Kanadalılar	591	51,3	17,2	42	51	7	-	(33,43)
Norveçliler	423	50,6	-	-	-	-	-	(33)
Hollandalı	419	50,4	22,9	-	-	-	-	(33)
İspanyol	312	49,7	27,6	-	-	-	-	(33)
İtalyan	810	49,4	16,3	-	-	-	-	(33)
Grönland	100	47	46*	42	52	6	-	(44)
Finlandalılar	482	46,9	13	-	-	-	-	(33)
Toplam n\aralık	12,383	34-58,3	12,9-27,6	30-55,1	34,2-65	5-14,4	6,3-13,8	
Asyalılar								
Singapurlular	244	56,2	51,9	-	-	-	-	(33)
Koreliler	2017	52,1-53,8	51,5-60,2	61-68,4	29,1-37	2,5-3,9	29,1	(29,33,41, 47,48)
Asyalılar	1511	52,9	47	-	-	-	24,6	(33)
Çinliler: Han	102	54,9	52	62,7	37,3*	-	(49)	
Çinliler	119	50,4	45,4-64,4	70,6	28,6	8	-	(41,50)
Japonlar	896	47,6	35,3	71,6	25,3	3,1	-	(33,51)
Hindistanlılar: kuzey	370	33*	18,4	44,3	50,3	5,4	-	(52)
Hindistanlılar: Güney	225	22,4*	17,6	58,4	38,4	3,1	-	(53)
Toplam n\aralık	5484	47,6-56,2	17,6-64,4	44,3-71,6	25,3-50,3	2,5-8	24,6-29,1	
Araplar								
Sudi Arabistanlılar	1405	55-56,3	25	33,5	53,5	13	17,2	(33,54)
Mısırlılar	255	44-55,5	15-30	-	-	-	8,8	(42,55)
Toplam n\aralık	1660	44-56,3	15-30	33,5	53,5	13	-	

Çizelge 2.2 (devamı)

Etnik guruplar/ülkeler	n	GSTM1	GSTT1	GSTP1*B			GSTM1 null+ Ref GSTT1 null	
		null	null	lle/lle	lle/Val	Val/Val	13	(40)
Siyahiler								
Amerikalı Afrikalılar	1603	28-46,7	17-26,7	6,7-22	55,80	13,3-23	-	(41,56,57)
Afrikalılar ve Amerikalı Afrikalılar	479	-	26,7	-	-	-	-	(33)
Somaliler	100	40	44	53	39	8	4,5-19	(44)
Siyahi Brezililer: güneydoğu	469	28-35	26-36	46,2	45,5	8,3	8	(34,35, 37,38)
Siyahi Brezililer: orta batı	106	34	22	-	-	-	11,3	(36)
Siyahi Brezililer: kuzey doğu	140	33,8	28,9	36,4	49,5	14,1		(39)
Kilom Bolu Brezililer: kuzeydoğu	206	17-35	25-44	-	-	-	6-9	(40)
Kilom Bolu k, Brezililer: Orta batı	68	26	33	-	-	-	-	(58)
Zimbabveliler	148	24	26	-	-	-	-	(58)
Kuzey Afrikalılar	96	23	20	-	-	-	4,5-19	
Toplam n\aralık	3415	17-46,7	17-44	6,7-53	39-80	8-23		
Yerli Güney Amerikalılar							-	
Meksikalı Amerikalılar	-	-	9,7	-	-	-	-	(41)
Yerli Brezilyalılar: kuzey	157	0-43	0-27	-	-	-	-	(59,60)
Yerli Brezilyalılar: orta batı	153	3,9-27	11,8-30,3	-	-	-	14,7	(59,60)
Yerli tupinamba Brezilyalılar: kuzeydoğu	31	26,5	38,2	62,1	24,1	13,8	-	(39)
Yerli Ağrı Paraguaylılar	67	35,8	17,9	-	-	-	14,7	(59)
Toplam n\aralık	408	0-43	0-38,2	62,1	24,1	13-8		

2.4.1 Baş ve boyun kanseri

GST polimorfizmleri ile en çok çalışılan kanser arasında baş ve boyun skuamöz hücreli karsinom (HNSCC) yer almaktadır. Bu kanser dünyadaki en yaygın kanserlerden biridir. Tercihen GST'ler tarafından devre dışı bırakılan diğer çevresel kirleticilerle ilişkisinin yanı sıra, PAH'lar gibi tütünde bulunan karsinojenler ve pro-karsinojenler ile güçlü bir ilişkisi vardır. Tütün alışkanlığı HNSCC için en önemli risk faktörüdür.

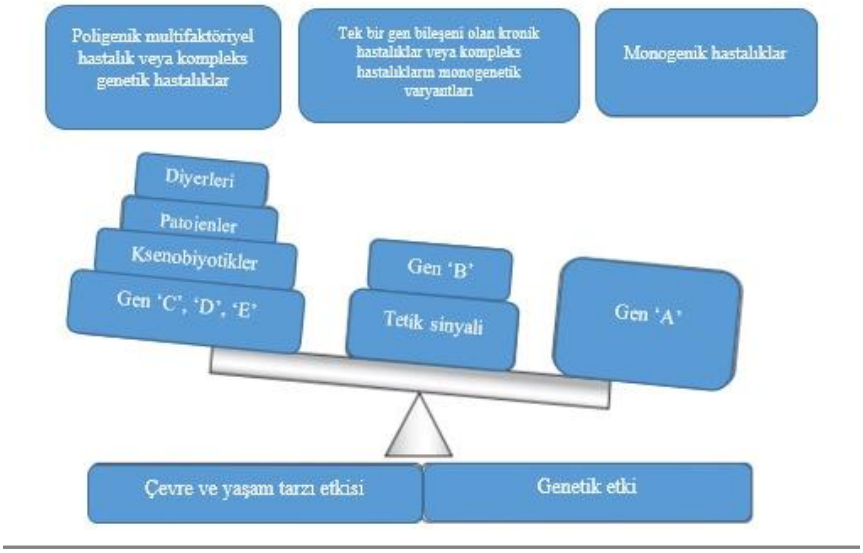
Örneğin, laringeal skuamöz hücreli karsinomdan ölüm, daha yoğun sigara içenlerde içmeyenlere göre 13,56 kat daha fazladır (Bosetti *et al.* 2002). Bu nedenle, kalıtsal genetik polimorfizmlere bağlı olarak GST'lerin ekspresyonundaki varyasyonlar, muhtemelen tütün kaynaklı karsinojenezin maruz kalma seviyelerini değiştirerek karsinojenez sürecini modüle eder. Bununla birlikte, GST polimorfizmleri ile HNSCC arasındaki ilişkiyi değerlendiren birçok çalışma oldukça farklıdır ve genin ana etkisi için riskte zayıf-orta ilişkiler bildirmektedir (Geisler and Olshan 2001). 4635 vaka ve 5770 kontrol içeren 31 çalışmada ve HNSCC hastalarında 2334 vaka ve 2766 kontrol içeren dokuz çalışmanın bir havuzlanmış analizinde bir OR (olasılık oranı) 1,23, %95 GA = 1,06 – 1,42 ve 1,32 (95 % GA = 1,07 – 1,62) GSTM1 null için, 1,17 (%95 GA = 0,98 – 1,40) ve 1,25 (%95 GA = 1 – 1,57) GSTT1 null için ve 1,10 (%95 GA = 0,92 – 1,31) ve 1,15 (GSTP1*B aleli için sırasıyla %95 CI = 0.86 – 1,53) şeklindedir. Analiz üç gen arasında birleştirildiğinde, OR'de 2,06'ya (%95 CI = 1,11 – 3,81) bir artış bulunmuştur. Bu nedenle, GSTM1 ve GSTT1 boş genotiplerinin ve GSTP1*B'nin HNSCC'de karsinogenez için sinerjik bir risk ile sonuçlanma olasılığı yüksektir (Rebbeck 1997).

Aynı şekilde GSTM1 null için, histolojik olarak doğrulanmış primer ağız kanseri olan 63 Afrikalı-Amerikalı ve 101 beyaz hasta ile 133 Afrikalı-Amerikalı ve 213 Kafkasyalı eşleştirilmiş kontrol deneğini içeren bir çalışma OR = 3,1 (%95 GA = 1,1 – 8,5) ve oral kanser riski ağır sigara içenlerde daha yüksekti OR = 5,4 (%95 GA = 1,2 – 24) (Park *et al.* 2000). 294 HNSCC vakasını ve 333 kontrolü içeren bir çalışmada, GSTP1*B ve NQO1 (kinon oksidoredüktaz 1) Arg139 aleli için homozigot bireyler arasında pozitif bir ilişki bulunmuştur. Çalışmada, tütünün doza bağımlı bir şekilde HNSCC riskini artırdığını bildirmiştir (Cho *et al.* 2006).

Öte yandan, bazı çalışmalar GST polimorfizmleri ile HNSCC arasında pozitif bir ilişki bulamamıştır. GSTM1'i HNSCC ile ilişkilendiren yeni 11 çalışmanın gözden geçirilmesinde, değerlendirilen çalışmaların beşi pozitif bir ilişki göstermemiştir. Benzer şekilde, diğer altı çalışmadan, analiz edilenlerden dördü bu ilişkiyi elde edememiştir (Ruiz *et al.* 2006). Başka bir çalışma, GSTT1 null'un da anlamlı bir ilişkisi olmadığını öne sürmektedir (Minard *et al.* 2006). Bu bilgilere ek olarak, kanserin anatomik yerleşimine yönelik birçok çalışma, GST'lerin çeşitli dokulardaki rollerini önerebilir. Bu varyasyonların açıklığa kavuşturulmasındaki ana zorluklar, dokuların kanserojene maruz kalma düzeyinin ve lokal detoksifikasyon makineleriyle entegrasyon yoluyla tepkinin değerlendirilmesindedir. Ağız boşluğu ve faringeal kanserler için, Fransa'da yürütülen bir çalışmada, GSTP1*BB veya AB genotipi için OR = 1,6 (%95 CI = 1 – 2,8) ve GSTT1 null genotipi için OR = 2 (%95 CI = 1 – 4) bulunmuştur. 30 yıldan fazla sigara içme öyküsü olan hastalarda, ilgili OR'ler 2 (%95 GA = 1 – 3,9) ve 3,3 (%95 GA = 1,3 – 8,1) olmuştur (Jourenkova-Mironova *et al.* 1999). Almanya'da, GSTM1*AB heterozigotlarının ve GSTM3*BB homozigotlarının frekansları, vakalarda kontrollere göre önemli ölçüde daha düşüktür (Jahnke *et al.* 1996). Oral skuamöz hücreli karsinom (OSCC) için, iki çalışma GSTT1 null ile pozitif bir ilişki bulmuştur (Katoh *et al.* 1999). GSTM1 null için ise bazı araştırmalar herhangi bir ilişki gözlemlenememiştir (Jourenkova-Mironova *et al.* 1999). Brezilya'da yürütülen bir çalışma, NAT2 heterozigotları ile GSTM3*B'de OSCC için OR = 1,94 (%95 CI = 1,04 – 3,66) göstermiştir (Marques *et al.* 2006).

Şekil 2.4 risk dengesini göstermektedir. Genetik profil ve çevresel faktörler bir hastalık riskini belirler. Her bir bozukluk için risk faktörü olarak farklı ağırlıklar verilebilir (Di Pietro *et al.* 2010). Nazofaringeal skuamöz hücreli karsinom analiz edildiğinde, gösterilen risk GSTM1 null için 1,9 kattı (Nazar-Stewart *et al.* 1999). GSTM1 null, GSTT1 null ve HNSCC arasındaki ilişkiyi de analiz eden bazı çalışmalara rağmen, Cheng vd. (1999), 162 vakanın %53,1'inin ve 315 sağlıklı kontrolün %42,9'unun GSTM1 null taşıyıcısı olduğunu, oysa vakaların %32,7'sinin ve kontrollerin %17,5'inin GSTT1 null taşıyıcısı olduğunu göstermiştir ($p < 0,05$ ve $< 0,001$). Ayrıca, vakaların %19,8'i ve kontrollerin %7,9'u her iki gen için delesyon taşıyıcılarıdır ($p < 0,001$) (Cheng *et al.* 1999). Araştırmacılar lojistik regresyon modellerini kullanarak çok değişkenli analiz (yaş,

cinsiyet, etnik köken, sigara içme durumu, alkol durumu ve GST genotipleri) yaptıklarında, bu genotiplerin her ikisinin de hastalık için bağımsız risk faktörleri olarak kaldığını bulmuşlardır (OR = 1,50 ve 2,27 (%95) CI = 1,01 – 2,23 ve 1,43 – 3,60). 149 özofagus kanseri hastası ve 200 malign olmayan kontrol ile yapılan başka bir çalışmada, araştırmacılar GSTM3*AB genotipinin heterozigot taşıyıcıları olan hastaların özofagus kanseri geliştirme riskinin arttığını bulmuşlardır, OR = 2,1 (%95 CI = 1,1 – 3,7; p = 0,01). Erkeklerde, GSTM3*AB genotipine bağlı risk daha yüksekti, OR = 3,4 (%95 GA = 1,7 – 6,8; p < 0,001). Ek olarak, GSTM3*AB + BB ve GSTM1 boş genotiplerinin etkileşimi OR = 2,3 (%95 CI = 1,1 – 3,7; p = 0,01) elde edilmiştir (Jain *et al.* 2007).



Şekil 2.14 Risk dengesi (Marques *et al.* 2006).

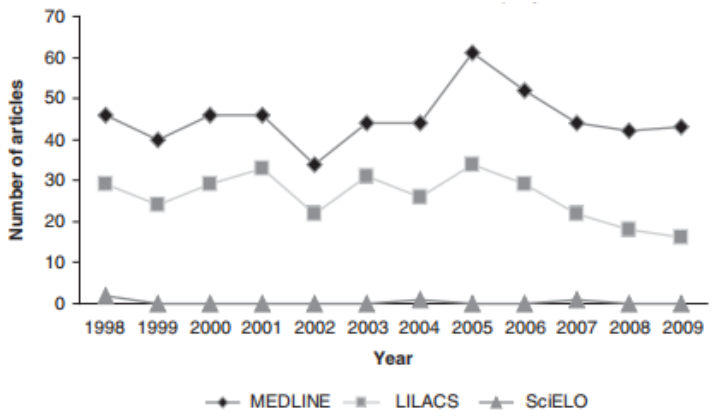
Etnisitenin ve GST polimorfizmlerinin varlığının farklı HNSCC riskleri verebileceğine dair kanıtlar vardır. Park *et al.* (2000), aşağıdaki genotipik kombinasyonlarla Afrikalı-Amerikalılarda ağız kanseri riskinin arttığını bildirmiştir: GSTM1+ ve GSTM3*AA veya AB, OR = 2,2 (%95 CI = 0,82 – 6); GSTM1 boş ve GSTM3*BB, VEYA = 4,3 (%95 GA = 1,1 – 16); ve GSTM1 null ve GSTM3*AA veya AB, OR = 6,6 (%95 CI = 1,2 – 38). Japonlar arasında, GSTM1 boş genotipinin sıklığı, kanser hastalarında (%58,7) kontrollere (%46,3) kıyasla önemli ölçüde daha yüksektir (Katoh *et al.* 1999). Başka bir çalışmada, CYP1A1*C ve GSTM1 null genotipleri olan hastalar, diğer genotiplere sahip olanlardan daha az sigara içtikten sonra oral karsinomaya yakalanmıştır (Sato *et al.* 1999). HNSCC, gen-çevre etkileşimi çalışması için ideal bir model olarak kabul edildiğinden,

farklılıklar, araştırmacıların, özellikle kültürel olarak etkilenenler arasında, bireylerin çevresel maruziyetini kontrol etmede sahip oldukları zorluklara bağlanabilir.

2.4.2 Meme kanseri

Meme kanseri (BC), bazı tetikleyici genetik faktörleri aydınlatmaya çalışan birçok çalışmanın da hedefidir. Birçok araştırmacı, GST polimorfizmlerini dünya çapında binlerce kadını etkileyen bu hastalığı geliştirme riskiyle ilişkilendirmiştir. BRCA1, BRCA2 ve p53 genlerindeki iyi çalışılmış mutasyonlar, BC gelişimi için yüksek riskler sunarken, bu risk alellerinin sıklığı oldukça düşüktür. Tersine, ksenobiyotik metabolizma genlerindeki (GST'leri kodlayan genler dahil) mutasyonlar, genel popülasyonda yüksek alelik frekanslara sahiptir.

Şekil 2.5 Glutatyon S-transferaz ve kanser duyarlılığını içeren yayınları yıllara göre göstermektedir. Carolina Meme Kanseri Çalışmasında 278 vaka ve 271 Afrikalı-Amerikalı kontrol ve 410 vaka ve 392 beyaz kontrol incelenmiştir. Araştırmacılar bazı pozitif genetik ilişkiler gösterdiler ve GSTM1 null olan kadınlar OR = 2,1 (%95 CI = 1 – 4,2) elde ederken, GSTT1 null taşıyıcıları arasında OR 1,9 (%95 CI = 0,8 – 4,6)'dur. Mitrunen *et al.* (2001), 483 hastada GSTM1, GSTM3, GSTP1 ve GSTT1 polimorfizmlerini BC gelişme riski ile ilişkilendirmiş ve GSTM1 null, OR = 1,49 (%95 CI = 1,03 – 2,15) ve GSTM3*B alleli ile pozitif bir ilişki gözlemlemiştir. GSTP1 Ile105/Ile105 genotipi için, gözlenen OR 2,07 (%95 GA = 1,02 – 4,18) idi, GSTT1 null olan kadınlarda anlamlı olarak daha yüksektir, burada risk güçlü bir şekilde artmıştır, (OR = 9,93 (%95 GA = 1,10 – 90)). Bu anlamda, yeni kombinasyonları değerlendirmek amacıyla bu çalışmada, GSTM1 null-GSTT1 null-GSTP1 Ile105/Ile105 kombinasyonunda OR'nin 3,96 (%95 CI = 0,99 – 15,8) olduğunu bulmuşlardır (Mitrunen *et al.* 2001). Gudmundsdottir *et al.* (2001), vakalar ve kontroller arasında p53 mutasyonları ile GSTT1*A taşıyan hastalarda pozitif bir ilişki gözlemleyerek 388 BC hastasını ve 395 kontrolü araştırmıştır (%24,6'ya karşı %12,4; p = 0,019) (Gudmundsdottir *et al.* 2001).



Şekil 2.15 Glutatyon S-transferaz ve kanser duyarlılığını içeren yayınlar (Di Pietro *et al.* 2010).

Vogl *et al.* (2004), Çevresel Karsinojenlere Genetik Duyarlılık Üzerine Uluslararası İşbirliği çalışmasında, GSTM1, GSTT1 ve GSTP1*B polimorfizmlerini ilişkilendiren yedi çalışmayı, 2048 BC hastası ve 1969 kontrolü ile revize etmiştir. Çalışmada, GSTM1 null için OR = 0,98 (%95 GA = 0,86 – 1,12), GSTT1 null için OR = 1,11 (%95 GA = 0,87 – 1,41) ve OR = 1,01 ve 0,93 (%95 GA = 0,79 – 1,28 ve 0,62 elde etti) – 1,38), sırasıyla GSTP1*B heterozigoz ve homozigot mutantlar belirlenmiştir (Vogl *et al.* 2004).

Diğer kanser türleri gibi, bu çalışmaların çoğu GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 genleri üzerinde yoğunlaşmıştır. GSTA1 geni için, GSTA1*B polimorfizmine ilişkin kanıtların çoğu, GSTO2*B'nin yanı sıra BC ile de negatif bir ilişkiye sahiptir (McCarty *et al.* 2007). Öte yandan, GSTO1*BB genotipi, GSTO1*AA genotipinin taşıyıcıları ile karşılaştırıldığında, insidans oranı oranı = 1,62 (%95 CI = 1,01 – 2,61) ile daha yüksek BC riskine sahiptir. Bu ilişki östrojen reseptörü pozitif BC ile ilgili olarak en güçlü olanıdır (insidans oranı = 2,16, %95 GA = 1,21 – 3,84) (Olsen *et al.* 2008).

2.4.3 Hepatoselüler karsinoma

Hepatoselüler karsinom (HCC) birincil bir malignitedir ve tüm karaciğer kanserlerinin %80-90'ını oluşturur (El-Serag and Rudolph 2007). İlginç bir şekilde, karaciğer ve böbrek, insan vücudundaki en yüksek GSTT seviyesini ifade eden iki organdır. Açıkça GSTT1*A taşıyıcılarında yüksek GSTT1 proteini seviyeleri, halojenli solventlere maruz

kalma için HCC gelişimi için yüksek bir risk gösterir (Simic *et al.* 2009). Bu nedenle, GSTT1 genotipi, ksenobiyotik maruziyetin kaynağı göz önüne alındığında, karaciğer kanseri riskini modüle ediyor gibi görünmektedir.

Asya, Afrika ve Avrupa popülasyonlarında HCC riskini GSTA1, GSTA4, GSTM1, GSTM2, GSTM3, GSTT1, GSTP1, GSTO1 ve GSTO2 polimorfizmleriyle ilişkilendiren 15 çalışmanın meta analizinde yalnızca GSTT1 ve GSTM1 boş taşıyıcıların pozitif bir ilişki gösterdiğini, bununla birlikte zayıf risk, OR = 1,19 ve 1,16 (%95 CI = 0,99 – 1,44 ve 0,89 – 1,53) olduğunu gözlemlenmiştir (White *et al.* 2008). Hindistan'da yapılan bir araştırma, GSTT1 boş bireylerin HCC için kontrol grubuna kıyasla 2,23 kat ($p < 0,05$) bir risk artışı, GSTM1 boş genotipinin ise koruyucu bir etki gösterdiğini bulmuştur. Gen-gen etkileşimi analizinde, GSTM1-GSTT1 ve mikrozomal epoksit hidrolaz polimorfizmleri, HCC gelişimi için sinerjik bir ilişki göstermiştir (Kiran *et al.* 2008).

Çoğu çalışma, çevresel risk faktörlerinin yokluğunda HCC ve GST polimorfizmleri arasında zayıf bir ilişki olduğunu tahmin etse de özellikle farklı popülasyonlarda daha büyük örneklemlerle ek çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu, HCC vakalarının dünyada homojen bir şekilde dağılmadığı gerçeğinden dolayı pekiştirilmektedir (HCC vakalarının> %80'i Sahra Altı Afrika'da veya Doğu Asya'da meydana gelmektedir).

2.4.4 Gastrik kanseri

Helicobacter pylori enfeksiyonunun çoğu mide kanserinin (GC) nedeni olduğunu gösteren birçok çalışmaya rağmen, çeşitli genetik faktörler artan risk seviyeleri ile ilişkilidir. GSTM1 ve GSTT1 genleriyle ilgili olarak, yayınların çoğu, ilgili delesyonlar ile GC riskindeki artış arasında bir ilişki göstermemektedir (Al-Moundhri *et al.* 2009). Bununla birlikte, 304 GC hastası ve 427 kontrol deneğiyle yapılan bir çalışma, GSTT1 boş genotipli hastalarda, ancak GSTM1, GSTM3 veya GSTP1 geno tipli hastalarda riskin 1,48 kat arttığını (%95 CI = 0,97 – 2,25) göstermiştir. Ayrıca, GSTT1 null genotipli hastaları yaşa göre sınıflandırdıklarında, daha genç hastaların (<50 yaş) artan bir GC riski (OR = 3,85) elde ettiği gözlemlenmiştir (Lan *et al.* 2001). Ek olarak, 108 GC hastası ve 195 sağlıklı kontrolde gerçekleştirilen bir vaka kontrol çalışması, GSTM1 boş

genotiplerinin taşıyıcılarının artan bir GC riski elde ettiğini göstermiştir, OR = 1,98 (%95 GA = 1,22 – 3,21; p = 0,006). İlginç bir şekilde, sigara içenler ve yüksek tuzlu çay tüketicileri OR = 8,98 (%95 GA = 5,16 – 15,62; p = 0,0001) ile daha yüksek risk altındaydı (Malik *et al.* 2009). Ancak bazı çalışmalar, GSTM1 ve GSTT1 boş genotiplerinin (GSTP1*B ve GSTO2*B alellerinin varlığına ek olarak) GC'ye duyarlılıkta bir azalma sağladığını göstermektedir (Martinez *et al.* 2006).

GC'ye genetik yatkınlığı değerlendirme girişiminde, Al-Moundhri *et al.* (2009), GSTM1 null ile ayrı ayrı pozitif bir ilişki bulamamasına rağmen, IL-1RN* 2 (IL-1 reseptör antagonisti) polimorfizmi taşıyıcıları ile birlikte GSTM1 null taşıyıcılarında pozitif bir etkileşim ve GC riskinde bir artış göstermiştir. Hem hücresel inflamatuar modülatördeki (IL-1RN) hem de GSTM1'in antioksidatif özelliğindeki bireysel varyasyonun, bireyleri artan GC'ye yatkın hale getirebileceği öne sürülmüştür (Al-Moundhri *et al.* 2009).

Öte yandan, birkaç çalışma, GSTM1 ve GSTT1'in kombine edildiğinde bile bir GC riski oluşturabileceğini göstermektedir (Tamer *et al.* 2005). Bu doğrultuda, bir çalışma GSTT1 boş taşıyıcılar için daha büyük bir risk, OR = 2,58 (%95 CI = 1,53 – 4,36) ve hem GSTM1 hem de GSTT1 boş genotiplerinin eşzamanlı taşıyıcıları için OR = 3,32 (%95 CI = 1,62) için daha büyük bir risk göstermektedir. GC riski için. GSTP1*BB genotipinin taşıyıcıları koruyucu bir etki göstermiştir, OR = 0,20 (%95 CI = 0,02 – 0,86). Boccia *et al.* (2007), 2508 GC vakası ve 4634 kontrolde GSTT1 polimorfizmlerini ilişkilendiren bir meta-analiz gerçekleştirmiştir. Bu araştırmacılar, CYP2E1 PstI/RsaI polimorfizminin Asyalılarda GC için bir risk faktörü olabileceğini ve GSTM1 ile CYP2E1 arasındaki sinerjik bir ilişkinin GC vakalarının bir kısmından sorumlu olabileceğini öne sürmüşlerdir (Boccia *et al.* 2007).

2.4.5 Akciğer kanseri

Akciğer kanseri (LC), dünya çapında kanserden ölümlerin önde gelen nedenidir ve yılda 1,3 milyon ölümden sorumludur (Shibuya *et al.* 2002). GST'ler arasında, ana metabolik ajanlar arasında sigara dumanında bulunan PAH'lara sahip olan GSTP1, akciğer dokusunda en yaygın olarak eksprese edilendir. Cote *et al.* (2009) tarafından yapılan

çalışmada, GSTP1*B ve LC riski arasındaki ilişki sırasıyla 27 (8322 vaka ve 8844 kontrol) ve 15 çalışmanın (4282 vaka ve 5032 kontrol) bir meta ve havuzlanmış analizi yayınlamıştır. Meta-analiz, etnik kökene göre sınıflandırıldığında bile GSTP1*B ile anlamlı bir ilişki göstermemiştir. Havuzlanmış analizde araştırmacılar, Ile105'e kıyasla LC ile Val105'i taşıyan üyeler arasında OR = 1,11 (%95 GA = 1,03 – 1,21) bulmuştur. Etnik kökene göre sınıflandırmadan ve yaş, cinsiyet ve sigara içme durumuna göre düzeltme yapıldıktan sonra, Asyalılarda GSTP1*B varlığı ile artan bir risk ilişkilendirilmiş, ancak Beyaz popülasyonda ilişki olmadığı bulunmuştur (Cote *et al.* 2009). 1921 LC vakası ve 1343 sağlıklı Kafkasyalı ile yapılan başka bir çalışmada, GSTP1*B homozigotları LC için artan risk için pozitif bir ilişki göstermemiştir, OR = 1,02 (%95 GA = 0,78 – 1,34). Bununla birlikte, GSTP1*B'nin erken başlangıçlı LC ile ilişkili olup olmadığını değerlendirmek için yaşa göre sınıflandırıldığında, 50 yaşın altındaki bireyler, OR = 2,67 (%95 GA = 1,36 – 5,22) ile LC'ye daha büyük duyarlılık göstermiştir.

Bazı çalışmalar, tütün alışkanlığı ile GSTM1 ve GSTT1 boş genotip taşıyıcılarında LC gelişimi arasında güçlü bir ilişki olduğunu göstermiştir. Hosgood *et al.* (2007) ayrıca Asya popülasyonlarında 912 vaka ve 1063 kontrol ile altı çalışmanın meta-analizini gerçekleştirmiştir. Bu çalışmada, GSTM1 ve GSTT1 null genotipleri için LC riskinde hafif bir artış gözlemlenmiştir, OR = 1,31 ve 1,49 (%95 CI = 0,95- 1,79; p = 0,100 ve 1,17- 1,89; p = 0,001). Ancak, bu çalışmada GSTP1*B ile herhangi bir ilişki gözlemlenmemiş ve ayrıca kömüre maruz kalan popülasyonlarda LC riskinin daha yüksek olduğu öne sürülmüştür (Hosgood *et al.* 2007). Aslında, gen-çevre etkileşimleri LC'de kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. Lee *et al.* (2006) tarafından yapılan çalışmada, tütün alışkanlıkları ve LC ile CYP2E1, GSTM1 ve GSTT1 genetik varyantları arasındaki ilişki incelenmiştir. Buna göre, sigara içenler LC riskinde önemli bir artış göstermiştir (p <0,001); ayrıca, çalışılan genetik varyantlar arasında, yalnızca GSTM1 null taşıyıcıları, sigara içenler arasında bile LC için önemli bir risk göstermiştir, OR = 1,9 (%95 GA = 1,04 – 3,60) (Lee *et al.* 2006). Raimondi *et al.* (2006), 7629 vaka LC ve 10.087 kontrol içeren 34 çalışmayı ve 7044 vaka ve 10.000 kontrol içeren 34 çalışmayı içeren bir havuz analizini içeren bir meta-analiz gerçekleştirmiştir. Meta-analiz sonuçları, Asyalılarda GSTT1 null için pozitif bir ilişki olduğunu gösterir, OR = 1,28 (%95 CI = 1,10 – 1,49),

ancak beyaz ırktan olan deneklerde bu ilişki saptanmamıştır, OR = 0,99 (%95 CI = 0,87 – 1,12). Havuzlanmış analizde, OR'ler Asyalılar için OR = 0,97 (%95 GA = 0,83 – 1,13) ve Kafkasyalılar için OR = 1,09 (%95 GA = 0,99 – 1,21) anlamlı değerleri olmamıştır ve ayrıca önemli bir etkileşim göstermemiştir (Raimondi *et al.* 2006).

Yüksek adükt seviyeleri ile KHDAK arasında önemli bir ilişki vardır. Birçok araştırmacının yaptıkları çalışmalarda, GSTM1 null ve CYP1A1 ekson 7 polimorfizmlerinin, özellikle skuamöz hücreli karsinom grubunda, NSCLC hastalarından alınan hedef dokudaki PAH-DNA eklenti düzeylerini etkileyebileceğini ima etmektedir. Ayrıca, GSTM1 null ve CYP1A1* Ile/Val genotipini taşıyan bireyler, periferik bir LC tipine daha büyük bir yatkınlık derecesine sahip olduğunu bildirmişlerdir (Butkiewicz *et al.* 1999).

Bazı çalışmalar, sigara içmeyenlerde GSTM1 ve GSTT1 polimorfizm etkilerinin LC sigara içenlerde bulunanlara benzer olduğunu öne sürmektedir (Malats *et al.* 2000). Bazı araştırmacılar bu genetik delesyonlar arasında, artan DNA eklentileri seviyeleri ve tütün kanserojenlerinin detoksifikasyonundaki eksiklik ile bir ilişki olduğunu belirtseler de bu genotipler ile LC arasında pozitif bir ilişki bulamayan çalışmalar da vardır. Özellikle LC'de yapılan bir çalışmada, iki ana risk faktörünün (DNA eklentileri ve genotipler) LC riskinin bağımsız öngörücüleri gibi göründüğünü göstermiştir (Perera *et al.* 2002). Diğer çalışmalar, hastalık seyri ile GSTM1 silinmesinin önemli bir katılımını göstermektedir. Sweeney *et al.* (2003) yaptıkları çalışmada, LC tanısı konan hastaların sağ kalma oranları değerlendirdi ve GSTM1 boş taşıyıcılarının daha kısa yaşam oranına sahip olduğunu ve göreceli ölüm riskinin 1,36 (%95 GA = 1,04 – 1,80) olduğunu bulmuştur (Sweeney *et al.* 2003).

Mevcut çalışmalarda, birden fazla genin belirli bir hastalıkla etkileşimini değerlendirmeye çalışma eğilimi vardır. Birçok farklılığın varlığına rağmen, çalışmaların çoğu, daha fazla GST polimorfizmi ve diğer risk faktörleri (örneğin, sigara içimi) ile etkileşimler değerlendirildiğinde, LC riskinin ve korumasının daha yüksek olduğunu gözlemlemiştir.

2.4.6 Böbrek ve idrar kesesi hücreli karsinomu

Renal hücreli karsinom (RCC), yüksek metastaz oranı ve vakaların yaklaşık %80'inden sorumlu en yaygın böbrek kanseri türü ile ilişkili agresif bir malignitedir (Murai and Oya 2004). Bazı çalışmalar, GSTM1*A veya GSTM1*B bireylerinin, metallere veya pestisitlere maruz kalan GSTM1 boş bireylere kıyasla yüksek RCC riski taşıdığını göstermektedir (Karami *et al.* 2008). Bununla birlikte, diğer çalışmalar, GSTM1 boş genotip frekansının, RCC hastaları ve sağlıklı bireyler arasında farklılık göstermediğini belirtmişlerdir. GSTM1'de olduğu gibi, GSTT1 çalışmaları hem GSTT1 null hem de GSTT1*A homozigot genotipi için pozitif bir ilişki göstermiştir.

Bazı çalışmalar, metallere ve pestisitlere maruz kalan pozitif GSTT1 genotipine sahip bireylerin daha yüksek RCC riski taşıdığını göstermektedir (Karami *et al.* 2008). GSTP1 polimorfimlerinin RCC'deki rolü çok az araştırılmıştır. Bazı araştırmacıların GSTP1 polimorfizmleri ile RCC riski arasında bir ilişki olduğunu göstermesine rağmen, diğerleri bu sonucu elde edememiştir (Sweeney *et al.* 2003).

Transizyonel hücreli karsinom (TCC), genitoüriner sistemi etkileyen yaygın bir malignitedir ve en sık görülen mesane kanseri türüdür (TCCUB). Bazı araştırmacılar, GSTM1 boş taşıyıcılarının TCC için yatkınlık elde ettiğini öne sürmektedir. GSTT1 ve GSTP1 polimorfizmlerinin TCC'deki rolleri hala tartışmalıdır.

Golka *et al.* (2008), 293 ürotelyal ve mesane geçişli TCC hastasını içeren, GSTM1 boş taşıyıcılarının, sigara içenler veya içmeyenler arasında hastalık riskinde önemli bir artış sunduğunu göstermiştir. Aynı şekilde, başka bir çalışma, tütün, asbest, kauçuk ve klorlu çözücüler gibi belirli toksik maddelerle ilişkili risk artışı göstermiştir (Garcia-Closas *et al.* 2005). Engel *et al.* (2002), 2149 idrar kesesi TCC vakası ve 3646 kontrol ile GSTM1 null genotipi için OR = 1,44 (%95 GA = 1,23 – 1,68) elde eden 17 çalışmanın meta- ve havuzlanmış analizini gerçekleştirdikleri çalışmada sigara içenlerde risk oranında önemi bir artış olmadığını belirtmişlerdir (ilave etkileşim = 0,45) (Engel *et al.* 2002). GSTT1 geni için bazı çalışmalar, GSTT1'den yoksun bireylerin artmış idrar kesesi TCC riskine sahip olduğunu düşündürmektedir. Buna karşılık, diğer bulgular, GSTT1 boş genotipinin

mesane kanserine karşı koruyucu bir faktör olduğunu göstermiştir (Kim *et al.* 2002). GSTA1 polimorfizmlerinin tütünle ilişkili TCC riskinde ilgili olduğu gösterilmiştir. Bu gerçeğe ilişkin önerilerden biri, GSTA1*BB bireylerinin, GSTA1*A aleli sunanlara kıyasla bu enzim için dört kat daha az karaciğer ekspresyonuna sahip olmasıdır.

GSTP1 polimorfizmleri ile mesane TCC'si arasındaki ilişki ile ilgili olarak, hem GSTP1 doğal tip (GSTP1*AA) (Cao *et al.* 2005) hem de GSTP1*BB genotiplerinin (Mittal *et al.* 2005) taşıyıcılarında artmış bir risk olduğu gösterilmiştir. Harries *et al.* (1997), GSTP1*AA bireylerine kıyasla GSTP1*BB'de mesane kanseri riskinde üç kat artış olduğunu ortaya koymuştur (Harries *et al.* 1997). Kellen *et al.* (2007), 4273 vaka ve 5081 kontrol ile 16 çalışmada bir meta-analiz yoluyla GSTP1*B ve mesane TCC arasındaki ilişkiyi incelemiştir. AA ile karşılaştırıldığında GSTP1*AB ve BB için bulunan OR'ler sırasıyla 1,54 (%95 GA = 1,21 – 1,99; p < 0,001) ve 2,17 (%95 GA = 1,27 – 3,71; p = 0,005) olduğunu öne sürmüştür (Kellen *et al.* 2007). Bu sonuç, GSTP1*B taşıyıcıları için kanserojen bir eğilim olduğunu göstermektedir. Sonuçta , Asyalılar arasında risk Avrupalı'lardan daha güçlü olarak karşımıza çıkmaktadır (Kellen *et al.* 2007).

2.4.7 Prostat kanseri

Prostat kanseri (PC), Batı ülkelerinde en sık görülen kanser türüdür ve kanserden ölümlerin LC'den sonra ikinci nedenidir. Diğer kanser türlerinde olduğu gibi, GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 polimorfizmlerinin prostatta karsinojenik gelişim ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir; ancak sonuçlar kesin değildir. Son zamanlarda, 29 çalışma (4564 vaka ve 5464 kontrol) içeren bir meta-analiz yoluyla Mo *et al.* (2009), GSTM1 null'un PC riskini, OR = 1,3'ü (%95 GA = 1,15 – 1,55) artırdığını ve analizler etnik kökene göre (Asyalılar ve Kafkasyalılar) sınıflandırıldığında da benzer sonuçlar elde ettiğini bildirilmiştir. İlginç bir şekilde, risk benzerliklerini paylaşan Afrikalılar ve Afrikalı-Amerikalılar arasında (sırasıyla OR = 0,66 ve 0,47), elde edilen değerler genel popülasyondan uzaktır (OR = 1,3). Bu çalışmada, GSTT1 null (3837 vaka ve 4552 kontrol içeren 22 çalışma) ve ayrıca GSTP1*B (5301 vaka ve 5621 kontrol ile 24 çalışma) polimofizmleri ile PC riski arasında herhangi bir ilişki türü gözlemlememiştir (Mo *et al.* 2009).

Benzer şekilde, GSTM1 null ile ilişkili 11 çalışmayı (2063 vaka ve 2625 kontrol), GSTT1 null ile 10 çalışmayı (1965 vaka ve 2554 kontrol) ve ayrıca GSTP1*B polimorfizmleri ile 12 çalışmayı (2528 vaka ve 3076 kontrol) içeren başka bir meta-analiz yapılmıştır. PC hastaları ve sağlıklı kontroller arasında anlamlı frekans farkları elde etmemiştir (Ntais *et al.* 2005). Lima *et al.* (2008), bir Brezilya popülasyonunda etnik ve yaşam tarzı özellikleri (yaşam boyu mesleki geçmiş, diyet kalıpları, sigara içimi ve diğerleri) için eşleştirilmiş PC ve kötü huylu prostat hiperplazisi hastalarında GSTM1, GSTO1, GSTP1 ve GSTT1 genlerinin polimorfizmlerini değerlendirmiştir. Tek veya çok değişkenli regresyon lojistik analizi ile bir kombinasyon kullanarak, araştırmacılar ayrıca incelenen polimorfizmler ile değerlendirilen birçok klinik faktör arasında herhangi bir ilişki elde edememişlerdir (Lima *et al.* 2008).

GSTM3'teki genetik varyasyonun PC riskindeki rolü, çok az çalışılmış olmasına rağmen, aralarında bir ilişkinin olduğu ortaya konulmuştur. GSTM1 veya GSTT1 delesyon genotipi taşıyıcılarında artan PC riski görülmemesine rağmen, OR = 1,20 (%95 CI = 0,75 – 1,90; p = 0,420) ve OR = 0,87 (%95 CI = 0,50 – 1,51; p = 0,550), GSTM3*BB taşıyan erkeklerin OR = 5,50 (%95 GA = 1,2 – 25,8; p = 0,016) ile PC riskinde artış vardır (Medeiros *et al.* 2004). 135 PC hastasını ve 169 kontrolü içeren başka bir çalışmada, doğal tip genotip ile karşılaştırıldığında GSTM3*AB ve BB taşıyıcılarında risk 2,5 kat artmıştır (p = 0,028). Araştırmacılar yine de sigara içen ve alkol alışkanlığı olan hastaların GSTM3*B genetik varyantı, sırasıyla OR = 4,11 (p = 0,046) ve OR = 4,38 (p = 0,027) ile bir ilişki gösterdiğini belirtmiştir (Kesarwani *et al.* 2009).

Japonya'da yapılan bir çalışmada araştırmacılar, PC hastaları GSTA1*B taşıyıcıları için OR = 1,72 bulmuşlardır. Ancak, GSTM1 ve GSTP1 genotipleri için genetik polimorfizm dağılımı, sağlıklı kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak farklı değildi. İlginç bir şekilde, bu çalışma aynı zamanda aşağıdaki kombine genotiplerin taşıyıcılarında PC riskinde bir artış (OR = 2,08) göstermiştir. Ancak, Ning *et al.* (2004) çeşitli GSTA1 ve GSTA2 genetik polimorfizmlerini değerlendirerek, PC riski ile herhangi bir ilişki türü bulamamışlardır. Bu nedenle, GST a familyası genlerinin PC riskindeki etkisini değerlendirmek için yeterli kanıt yoktur.

2.5 GST Null Fenotipi ve Kanser Prognozu

GSTM1 ve GSTT1 genlerinin silinmesi, enzimatik aktivitede genel bir eksiklik ile karakterize edilen bir 'boş' genotip ile sonuçlanır. Bu delesyonlar için homozigot olan bireylerin, olası kanserojenleri detoksifiye etme kapasitesinin azalmasının bir sonucu olarak maligniteler için artan risk altında olduğu düşünülmektedir. Bu fenotipin kanser prognozu veya tedaviye yanıt için öngörücü bir faktör olarak çalışıldığı durumlarda, sonuçlar tümör tipine bağlıdır. GSTM1 * 0 veya GSTT1 * 0 olan hastalar, diğer hastalara kıyasla invaziv yumurtalık kanseri için kemoterapötik tedaviden sonra daha yüksek hayatta kalma oranı göstermiştir (Howells *et al.* 2001). Ancak, GSTM1 ve GSTT1 için çift boş olan yumurtalık kanseri hastaları için sonuçlar negatiftir. Doğal tip GSTM1 veya GSTT1 aleli olan hastalarla karşılaştırıldığında, boş genotipli hastalar kemoterapiye azalmış bir yanıt sergileyerek hem daha kötü bir prognoz hem de remisyon oranlarında bir azalma ile sonuçlanmıştır.

Akut miyelojenöz lösemi (AML) oluşumu, kanserojen kimyasallara, özellikle benzen ve türevlerine maruz kalma ile ilişkilidir. AML oluşumu ile kanserojen maruziyeti arasındaki bu ilişki, AML'li hastalarda GST'ler gibi kimyasal detoksifikasyon enzimlerinin incelenmesi için bir gerekçe sağlar. Spesifik olarak, AML'li hastalarda GSTM1 ve GSTT1 fenotipleri incelenmiş ve GSTT1 için boş olan hastaların kemoterapötik tedaviyi takiben artan bir toksisite ve düşük hayatta kalma oranı sergilediklerini göstermiştir. Bu daha düşük hayatta kalma oranının aksine, GSTM1 veya GSTT1 için boş olan hastalar, remisyon sırasında kanser nüksetmesinde iki kat azalma göstermiştir.

2.6 Epidemiyolojik Değerlendirme

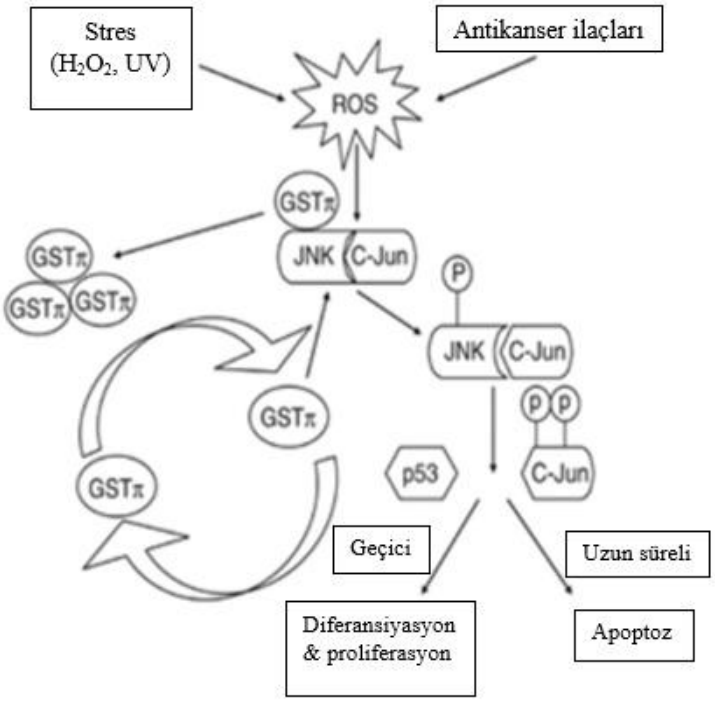
Özellikle kanser hastalarıyla ilgili küçük ölçekli popülasyon çalışmaları önemli sınırlamalara sahiptir. Bu kategoriye giren çok sayıda birbiriyle bağlantılı rapor vardır ve bu tür verilerden kesin sonuçlar çıkarmak zordur. Açık olan, bir GST polimorfizmi ile temsil edilen gibi tek bir değişkenin, kanser duyarlılığının veya kemoterapiye yanıtın analizi için doğrudan bir risk faktörü sağlamasının muhtemel olmadığıdır. Kanserojen

maruziyeti, farmakokinetik/farmakodinamik polimorfizmler ve popülasyon farklılıkları gibi çok değişkenler de dikkate alınmalıdır.

2.7 GST'ler ve Kinaz Düzenlenmesi

GST π'nin yokluğunun veya azalmış ifadesinin, malign transformasyona ve hastalık ilerlemesine neden olabilecek olası kanserojenlerin azaltılmış bir detoksifikasyonuyla sonuçlandığı tahmin edilmektedir. Ek olarak, GSH'nin bir dizi antikanser ilaç substratına GST aracılı konjugasyonu, uzun süredir çeşitli tümörlerde antikanser ilaç direnci ile ilişkilendirilmiştir. Bunun bir farklılığı, artan ekspresyonu çoklu ilaç direnci ile yüksek oranda ilişkili olmasına rağmen, GST π'nin antikanser ilaçların çoğu için zayıf bir afiniteye sahip olmasıdır. Bundan, GST'lerin, özellikle GST π durumunda, kinaza bağlı çoğalma yollarını düzenleme kapasitesinin, tek başına katalitik özelliklerinden daha fazla sonuç doğurabileceği çıkarılabilir.

GST'ler, protein oluşturarak hücresel sinyalleşmede düzenleyici bir rol oynarlar. Bunlar, stres yanıtı, apoptoz ve proliferasyonun kontrolünde yer alan kritik kinazlar ile protein etkileşimleri olarak sıralanabilir. GST'nin ligand bağlama kapasitesi, sinyal kinazlarının sekestrasyonu yoluyla sinyal yollarının negatif düzenlenmesiyle sonuçlanır. GST aracılı kinaz düzenlemesinin ilk örneği, GST pi'nin bir Jun kinaz (JNK) inhibitörü olarak karakterizasyonudur. JNK, proapoptotik sinyalleşmeye dahil edilmiştir ve çeşitli kemoterapi ajanlarının indüklenmiş sitotoksisitesi için gerekli olabilir (Yin *et al.* 2000). C-Jun'un fosforilasyonu, JNK'yi aktive eder ve daha sonra akış aşağı efektörlerin aktivasyonu ile sonuçlanır. Stresli olmayan hücrelerde, düşük JNK1 katalitik aktivitesi, en azından GST π ve JNK'yi içeren protein kompleksi içindeki sekestrasyonuyla düzenlenir ve korunur. Bununla birlikte Şekil 2.6'da gösterildiği gibi oksidatif veya kimyasal stres koşulları altında, GST π :JNK kompleksinin ayrışması, oligomerizasyon için GST π salarak meydana gelir ve salınan JNK'nin aktivasyonu, apoptozun müteakip indüksiyonuna izin verir. Yüksek GST π seviyeleri birçok tümörde, proteine kazanılmış bir bağımlılığın bir sonucu olabilir. Tümör hücrelerinin proliferatif doğası nedeniyle, birçok kinaz yolu düzensizdir ve sonuç olarak tümör hücreleri, kinaz aktivitesini kontrol etme girişiminde GST π ekspresyonunu artırarak telafi etmeye çalışabilir.

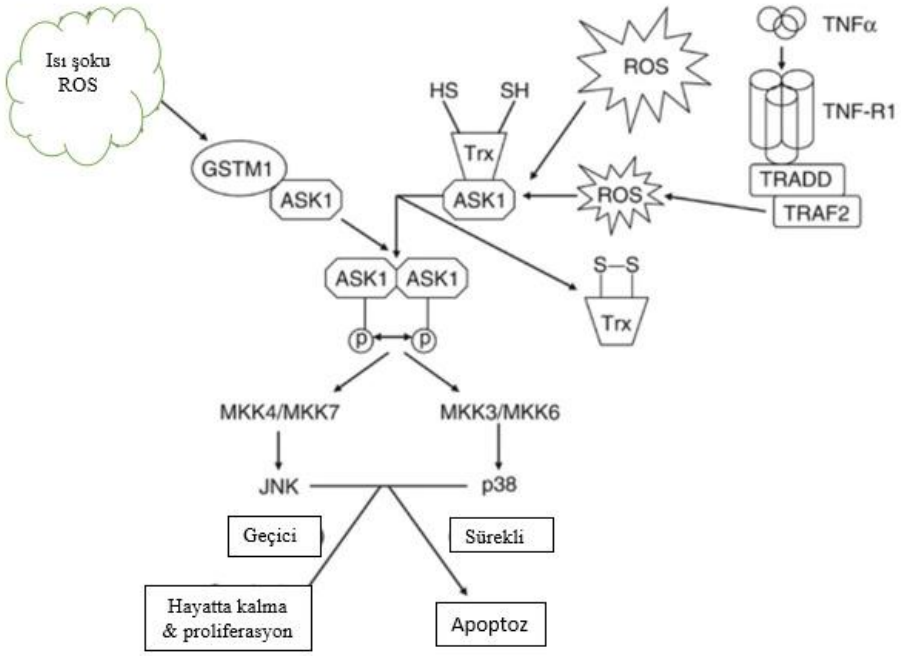


Şekil 2.16 GST'ler ve kinaz düzenlemesi (Di Pietro *et al.* 2010).

Stressiz koşullar altında, GST π, JNK/c-Jun'u sekestre ederek JNK fosforilasyonunu inhibe eder (Di Pietro *et al.* 2010). Antikanser ilaçlarına veya oksidatif strese maruz kalma, hücrenin redoks potansiyelini değiştirerek GST π'nin oligomerizasyonuna ve GST π :JNK kompleksinin ayrışmasına neden olabilir. JNK daha sonra fosforile olabilir ve daha sonra akış aşağı kinazları ve transkripsiyon faktörlerini aktive edebilir. Bazı durumlarda, strese geçici veya düşük düzeyde maruz kalma, hücre çoğalmasını indükleyebilir. Uzun süreli veya yüksek maruziyet sırasında apoptoz indüklenebilir.

GST aracılı kinaz düzenlemesinin bir başka örneği, GSTM1'in ASK1'in aktivitesine bağlandığına ve onu inhibe ettiğine dair kanıttır. ASK1, sitokin ve stres kaynaklı apoptoza yol açan JNK ve p38 yollarını aktive eden bir MAP kinazdır. Normal koşullar altında, ASK1, GSTM1 aracılığıyla sekestrasyonu nedeniyle düşük aktivite sergiler. Şekil 2.7'de görüldüğü üzere Bu protein, protein etkileşimi, ASK1'in salınmasına ve aktivasyonuna yol açan stresli koşullar altında ayrışan bir GSTM1:ASK1 kompleksi oluşturur. Bu mekanizma, GST π için önerilene benzer. Oksidatif stres veya ısı şoku gibi durumlarda, GSTM1, ASK1'in salınmasına ve ardından apoptoz indüksiyonuna izin vererek

oligomerize olur. Çeşitli tümör tiplerinde tedaviye verilen bozulmuş klinik yanıt, değiştirilmiş bir GSTM1 ekspresyonu ile ilişkilendirilmiştir. Bu nedenle, GSTM1'in antikanser ilaç direncinde oynadığı herhangi bir enzimatik etki, yalnızca kinaz düzenlemesindeki rolüyle daha da artar.



Şekil 2.17 Stres ve antikanser ilacı ile reaktif oksijen türlerinin üretilmesi ve glutatyon transferaz yolu ile düzenlenmesi (Di Pietro *et al.* 2010).

GST μ ve tioredoksin (Trx), ASK1'in inhibitörleri olarak işlev görebilir. Isı şoku veya reaktif oksijen türleri gibi stresler, GST μ: ASK1 veya TRX:ASK1 kompleksinden (sırasıyla) ASK1'in salınmasına neden olabilir. ASK1 oligomerize olur ve otofosforilasyon yoluyla aktive edilir, bu da MKK4/MKK7, MKK3/MKK6, JNK ve p38 gibi aşağı akım kinazları aktive eder. Hücrenin durumu (ya çoğalma ya da apoptoz), strese maruz kalma süresine/konsantrasyonuna bağlıdır (Di Pietro *et al.* 2010).

Kinaz aktivasyonunun negatif düzenleyicisi olarak hareket etmesine ek olarak, GST π'nin ayrıca 1-cys peroksiredoksinin (1-cysPrx) glutatyonilasyonunda gerekli bir rol oynadığı gösterilmiştir. 1-cysPrx'in katalitik sisteininin oksidasyonu, peroksidaz aktivitesinin kaybı ile ilişkilendirilmiştir. Son zamanlarda, 1-cysPrx'in GST π ile

heterodimerizasyonunun, önceden oksitlenmiş sisteinin glutationilasyonuna aracılık ettiği ve böylece peroksidaz aktivitesini geri kazandığı gösterilmiştir. Bu çalışmadan, glutationilasyonun ve ardından 1-cysPrx'in GSH aracılı azalmasının GST π ile heterodimerizasyon gerektirdiği sonucuna varılmıştır. Bu, GST π'nin oksitlenmiş sistein kalıntılarının glutatyonilasyonunda işlev gördüğünün ilk örneğidir. Ek olarak, laboratuvar da, GSTP1-1 ve/veya GSTP2-2'de eksik olan hücrelerin, seçilmiş bir grup hedef proteinin glutatyonilasyonunu harekete geçirerek oksidatif veya nitrozatif strese yanıt verme kapasitesinin azaldığını bulmuştur. Bu bulgular, GST π'nin çeviri sonrası glutatyonilasyon reaksiyonlarının kontrolünde doğrudan bir rol oynayabileceğini ima etmektedir.

2.8 Farmakogenetik ve GST'ler

Epidemiyolojik kanıtlar, kanser kemoterapisine bireysel hasta yanıtında önemli varyasyonların varlığını göstermektedir. Bu varyasyonlar, değiştirilmiş ilaç metabolizmasını, genetik polimorfizmleri ve bunların işlevsel önemini, kanserojenlere çeşitli maruz kalmaları ve ırk ve etnik köken gibi popülasyon farklılıklarını içerir. Etkili bir terapötik rejim tasarlamaya çalışırken, ilgili farklı duyarlılık ve farmakogenetik faktörleri göz önünde bulundurmak gerekir. GST'lerin karmaşık genetiği ve ekspresyon kalıpları, rasyonel ilaç tasarımı için değişken bir platform sağlamalı ve GST'leri antikanser tedavisi için uygulanabilir bir hedef haline getirmeye hizmet etmelidir.

GST aşırı ekspresyonunun terapötik yanıt üzerinde olumsuz bir etkiye sahip olduğu tümörlerde, GST'leri hedeflemek için farklı stratejiler benimsenmiştir. Bir farmakolojik yaklaşım, aksi takdirde GST'ler tarafından detoksifiye edilecek olan kemoterapötiklerin etkinliğini arttırmak için GST inhibitörlerinin tasarımıdır. Genel olarak, GST inhibitörleri rekabetçi veya rekabetçi olmayan olarak sınıflandırılabilir. En iyi karakterize edilen inhibitörlerden ikisi, etakrinik asit (EA) ve GSH analoğu TLK199'dur [y- glutamil- S-(benzil)sisteinil- R- fenil glisin dietil ester]. EA, bir EA-GSH konjugatı oluşturarak GSH kofaktörünü tüketmenin yanı sıra GST bağlanması için rekabetçi olmayan bir GSH inhibitörü olarak görev yapar. Hem GST hem de GSH'ye bağlanma, enzim aktivitesini inhibe etmeye hizmet eder. Daha önceki çalışmalarımız, bunun, aksi takdirde kemoterapi

direnci sergileyen tümörleri hassaslaştırmada etkili olduğunu göstermiştir. TLK199, GST π'nin seçici bir inhibitörüdür ve aynı zamanda farklı tümör hücre dizilerinde çok sayıda antikanser ajanının toksisitesini güçlendiren bir kemosensitizör olarak da işlev görebilir. Nitrojen mustardlar da dahil olmak üzere bir dizi antikanser ilacına karşı duyarlılık, yüksek GST seviyelerine sahip ksenograft modellerinde arttırılmıştır. GSH'ye yapısal benzerlikler nedeniyle TLK199'un, MRP-1 ile transfekte edilmiş NIH3T3 hücrelerinde çeşitli ajanların direncini tersine çevirerek çoklu ilaç direnci ile ilişkili protein 1'i (MRP-1) etkili bir şekilde inhibe ettiği de gösterilmiştir.

İlginç bir şekilde TLK199, klinik öncesi çalışmalar sırasında farelerde miyeloproliferatif etkiler göstermiştir. In vitro hematopoez deneyleri, GST π'de eksik olan farelerin, miyeloid hücre farklılaşması ve proliferasyonunda bir artış sergilediğini göstermiştir. Bu etkinin moleküler temeli muhtemelen çoğalan ve farklılaşan kemik iliği progenitör hücrelerindeki bir artıştan dolayıdır, böylece dolaşımdaki olgun kan hücrelerinin üretimini arttırır. Ek olarak, bu miyeloproliferatif etkilerin olası bir nedeni, TLK199'un JNK: GST π kompleksinin protein etkileşimini bozma yeteneğidir. Bu etkinin bir sonucu olarak, JNK aktivitesi artar ve kemik iliği bölmesi durumunda bu, hücresel proliferasyondaki artışla nedensel olarak ilişkilendirilmiştir.

GST'lerin intihar inhibitörleri olarak yeni bir 7-nitro-2,1,3,-benzoksadiazol türevleri sınıfı tasarlanmıştır. Bu NBD tiyoeterleri, GSTA1-1, GSTP1-1 ve GSTM2-2'nin H-sitesine bağlanmak için mikromolar ile nanomolar afinitelere sahiptir. NDB'lerin, JNK: GST π kompleksini ayırarak ve böylece apoptozu başlatarak tümör hücresi ölümünü indüklediği gösterilmiştir. Daha önceki kemik iliği örneğiyle karşılaştırıldığında, bu, JNK'nin dönüştürülmüş hücrelerdeki farklı rolünü göstermeye hizmet eder. Bu NBD türevlerinin temsili bir modeli 6-(7-nitro-2,1,3,-benzoksadiazol-4-iltiyo) heksanol veya NBDHEX'tir. Olası antikanser ilaçları olarak kullanımları henüz belirlenmemiştir; bununla birlikte, mekanik olarak kinaz yolakları üzerindeki etkileri literatür tahminlerine uygundur.

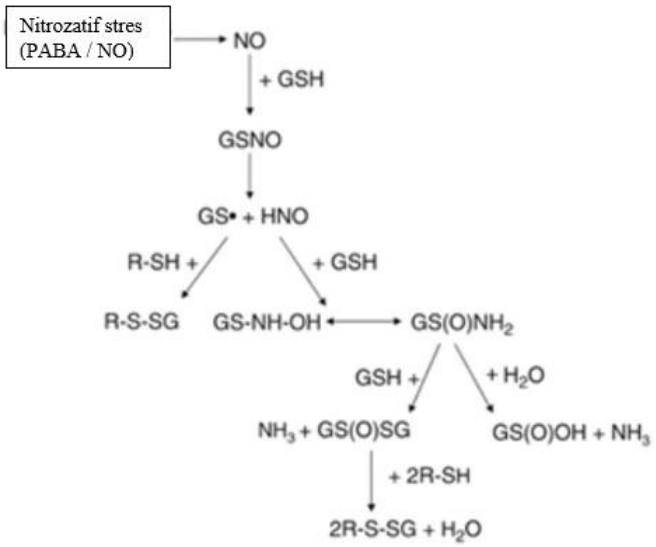
Ön ilaçlar, aktive edici enzimlerin yüksek ekspresyonu sergileyen tümör dokularına maruz kaldıklarında aktif sitotoksiklere dönüştürülen aktif olmayan ajanlar olarak tasarlanmıştır. Bu hedefleme stratejisi, aktif maddenin tümör dokusuna daha fazla

verilmesine izin verirken normal dokulara yönelik toksisiteyi en aza indirir. Birçok tümörde GST'lerin gelişmiş ekspresyonu, GST'leri ön ilaç tedavisi için umut verici bir hedef haline getirir. Diğer bir yaklaşım, bir β- eliminasyon reaksiyonunu teşvik ederek GST'lerin sülfonamidlerin bölünmesine aracılık etme kabiliyetinden yararlanan ön ilaçları tasarlamak olmuştur. Bunun mantıksal bir uzantısı, ilaçların bir sülfon bağlantısı yoluyla GSH konjugasyonu yoluyla inaktif bileşikler olarak sentezlenmesidir. TLK286, [γ -glutamil- α -amino- β -(2-etil- N, N, N ', N' -tetrakis (2-kloroetil) fosforodiamidat)-sulfonil-propionil-(R)-(-) fenilglisin], kanser hücrelerinde GSTP1 tarafından aktive edilen yeni bir gizli ilaç sınıfının baş adayıdır. TLK286, daha sonra hücresel nükleofilleri alkile edebilen bir nitrojen mustard ve GSH analoguna bir GSTP1 * A-destekli β -eliminasyon reaksiyonu ile bölünür. GSTP1-1 ekspresyonu hem hücre kültüründe hem de hayvan modellerinde ilaç duyarlılığı ile ilişkilidir. Ayrıca, GSTP1 *A'nın, TLK286'ya kronik maruziyetin ardından hem protein hem de transkript seviyesinde adaptif olarak aşağı regüle edildiği bilinmektedir. Toplu olarak, bu sonuçlar, TKL286'nın yüksek seviyelerde GSTP1 * A ifade eden tümörleri seçici olarak hedef alacağı ve dolayısıyla tercihen sitotoksik etkisini bu dokular üzerinde uygulayacağı kavramını desteklemeye hizmet eder.

Hipoksik tümörlerin indirgeyici ortamından sitodestrüktif türler oluşturmak için yararlanan bir dizi sülfonilhidrazin ön ilacı sentezlenmiştir. 1,2-Bis (metilsüfonil)-1-(2-kloroetil)2-[[1-(4-nitrofenil) etoksi] karbonil] hidrazin (KS119) ve 1,2-bis (metilsüfonil)-1-(2- kloroetil)2-[[1-(4-nitrobenziloksil) etoksi] karbonil] hidrazin (PNBC), nitroaromatik gruplarının indirgenmesi yoluyla hipoksik koşullar altında aktive edilir. İndirgeyici aktivasyon üzerine, bu ilaçlar sitotoksik alkilleyici türler 1,2-bis(metilsülfonil)-1-(2-kloroetil) hidrazin (90CE) salmaktadır. KS119, 90CE'nin salınımını aktive etmek için nitro grubunun azaltılmasını gerektirir, ancak PNBC ayrıca GSH ve GST gibi tiyollerin nükleofilik saldırısı yoluyla da aktive edilebilir. In vitro çalışmalar, KS199 ve PNBC'nin, normal aerobik koşullar altında normal hücrelere minimum toksisiteyi korurken katı tümörlerden hücreleri öldürme kabiliyetini göstermiştir. Bu, normal doku için nispeten toksik olmayan kalırken, tümör dokusuna karşı hipoksi seçici aktivite sergiler (Di Pietro *et al.* 2010).

GST ile ilişkili ilaç direncini hedeflemek için bir grup nitrik oksit salan ön ilaç tasarlanmıştır. İki NO açığa çıkaran diazeniumdiolat, [O2-(2,4-dinitrofenil) 1-[(4-etoksikarbonil) piperazin-1-il] diazen-1-ium-1,2-diolat] (JS-K) ve [O2 -(2,4-dinitrofenil) 1-[4-(N, N- dietilkarboksamido)piperazin-1-il]diazen-1-ium-1,2-diolat] (CB-3-100), önceden dirençli tümör hücrelerinde arsenik ve sisplatin toksisitesini arttırırken GST pi'yi etkili bir şekilde inhibe eder. Bu GST πJS-K ve CB-3-100 tarafından inhibisyon, MAPK inhibisyonunda GST'lerin rolünü gösteren önceki çalışmaları destekleyen MAPK yolunun JNK ve ERK'sinin gelişmiş aktivasyonuna da yol açar. Metallokemoterapötiklerin artan birikimi ile bağlantılı olarak geliştirilmiş MAPK yolu aktivasyonu, bu ön ilaçları kanser tedavisi için kullanılabilecek adaylar haline getirmektedir (Di Pietro *et al.* 2010).

Bir başka nitrik oksit salan ilaç, O(2)-[2,4-dinitro-5-(N -metil- N -4-karboksifenilamino)fenil] 1- N,N- dimetilamino)diazen-1-ium-1,2'dir. -diolat (PABA/NO). GST p, PABA/NO'yu nitrik okside verimli bir şekilde metabolize eder ve GST a'ya göre GST p'ye tercihli bir seçiciliğe sahiptir. Nitrik oksit salınımına ek olarak, PABA/NO ile tedavinin p38, JNK ve ERK aktivasyonunu indüklediği gösterilmiştir. Kinaz aktivasyonunun NO ile doğrudan etkileşimden mi yoksa ilaç veya metabolitleri ile etkileşimden mi kaynaklandığı henüz gösterilmemiştir. Bununla birlikte, stresle ilişkili kinazları aktive etme yeteneği, GST π'nin bu kinaz yolakları için bir negatif düzenleyici anahtar olarak gözlemlenen fonksiyonu nedeniyle önemlidir. Şekil 2.8, PABA/NO gibi nitrik oksit salan ilaçlarla tedaviyi takiben olası S- tiyolasyon ara ürünlerini gösterir.



Şekil 2.18 Nitrozatif stres ve glutatyon ile ortadan kaldırılması (Di Pietro *et al.* 2010).

Nitrik oksit (NO), GSH ile reaksiyona girerek GSNO ve ardından bir glutatyonil radikali GS · ve nitroksil (HNO) oluşturabilir. Bu yağ, GSH ile reaksiyona girebilen, N bir sülfinamidi oluşturmak için yeniden düzenlemek -hydroxysulfenamide GS-NH-OH, $GS(O)NH_2$. GS(O)NH olduğu reaksiyonu 2 GSH GSH disülfür S-oksit oluşturur ile GS(O)SG ya da daha fazla sülfinik asit GS(O)OH ve NH oksitlenebilir. GS(O)SG sulfinamides olan GS(O)NH sentezine yol açan anahtar ara ve GS(O)-NH-SG. GS(O)SG veya GS indirgenmiş bir protein tiyol R-SH ile reaksiyonu, karışık bir disülfid oluşumuna yol açar (Di Pietro *et al.* 2010).

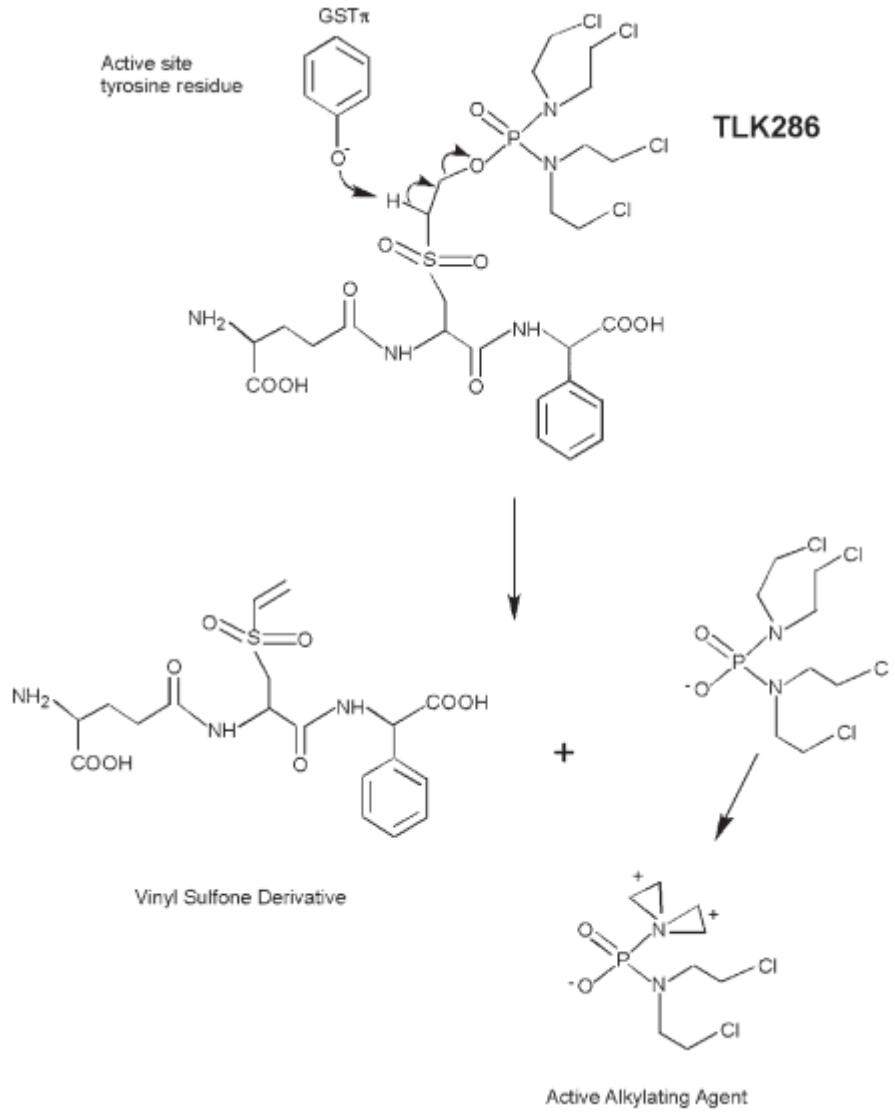
2.9 Terapötik Ajanlar Olarak GST'ler

Şekil 2.9 ilaç direncinde GST'leri göstermektedir. GST'ler bir dizi insan tümöründe yukarı doğru düzenlenir ve bu nedenle araştırmalarda umut verici terapötik hedeflerdir. Birkaç farklı yaklaşım kullanılarak bir dizi potansiyel antikanser ajanı olarak tasarlanmıştır. İlk yaklaşım, detoksifiye edici bir enzim olarak rolünü kullanan GST inhibitörleri tasarlamaktır. Başka bir yaklaşım da GST'nin stresle aktive olan protein kinaz yollarından kinazlar ile protein etkileşimi arasındaki protein inhibitörlerini bulmaktır. Üçüncü bir strateji ise, GST ile aktive olan ön ilaçların tasarımı yoluyla,

özellikle π izoformunun vurgulanmasıyla, tümörlerde GST'lerin yükselmesinin kullanılmasını içermektedir (Di Pietro *et al.* 2010).

Geçmişte, GSH ve GST'nin modülasyonu, kanser ilaçlarına yanıtı iyileştirmenin bir yolu olarak denenmiştir. Nihai hedef olan ilaç yanıtını artırmak için GSH seviyelerini düşürmek. Örneğin, butiyonin sülfoksimin ve etakrinik asidin kullanımı, her bir sistem üzerindeki deneysel etkilerinde etkili olmasına rağmen, klinikte sürekli gelişmeyi hak edecek kadar başarılı değildi. Bu yaklaşımların bir sonucu, GST-π, y-glutamil-S-(benzil)sisteinil-R-fenil glisin dietil esterin (TLK199) bir peptidomimetik inhibitörünün kavramsal tasarımıydı. Farklı tümör hücre dizilerinde çok sayıda antikanser ajanının toksisitesini güçlendirdiği gösterilmiştir. Ek olarak, TLK199'un, bilinen birçok ilaç akış taşıyıcısı olan çoklu ilaç direnci ile ilişkili proteinin bir inhibitörü olduğu gösterilmiştir. Bu ajanla yapılan klinik öncesi ve etki mekanizması çalışmaları, hayvanlarda beklenmeyen bir etki, yani ilacın GST-π: JNK kompleksinin bozulması yoluyla miyeloproliferatif aktiviteye sahip olduğunu ortaya çıkardı. Bu verilerin bir uzantısı olarak şirket, miyelodisplastik sendromlu hastalarda TLK199'un (şimdi Telintra™ olarak adlandırılmaktadır) bir faz I/II çalışmasına sponsor olmuştur (Di Pietro *et al.* 2010).

Birçok çalışma, GST'lerin polimorfik ekspresyonunun kanser insidansı ve prognozu ile epidemiyolojik bağlantısını sağlamıştır, ancak zaman zaman veriler parçalanmış ve tutarsızdır. GST'lerin ayrıca kinaz sinyallemesinde ve ayrıca glutatyonilasyonda kritik roller oynadığı gösterilmiştir. Bu da işlevlerinin endojen katalitik özelliklerinin ötesine geçtiğini gösterir. Hücre sinyalizasyonunun ve translasyon sonrası modifikasyon yollarının kontrolünde bu işlevler, yeni ilaçların araştırılması için yeni yollar sağlar. 10 yıl önce, GSTp inhibisyonuna miyeloproliferatif bir işlevin atfedilmesi olası değildir. S-glutationilasyonun öneminin henüz tam olarak anlaşılmamış olması, bu yolun antagonistlerinin biyolojik sonuçlara sahip olabileceği ihtimaline güven vermektedir (Di Pietro *et al.* 2010).



Şekil 2.19 İlaç direncinde GST'ler (Di Pietro *et al.* 2010)

GST'ler, faz II detoksifikasyon enzim ailesinin bir üyesidir. Bu detoksifikasyon yeteneği, çevresel ve oksidatif strese karşı hücresel korumada özellikle önemlidir. GST ailesi, fonksiyonel polimorfik varyasyonlarla ilişkili çoklu izozimlerden oluşur. Güncel çalışmalar, GST izozimlerinin anormal ekspresyonunun birçok farklı kanser türünün ilerlemesi ve gelişimi ile ilişkili olduğunu bildirmiştir. Di Pietro *et al.* 2010 tarafından yapılan çalışmada, insan GST izozimlerinin ekspresyon profillerindeki değişikliklerin kanser duyarlılığını nasıl etkilediğini tartışmaktadır. Ayrıca bu çalışma GSTM1/GSTT1/GSTP1 genotiplerinin belirli kanser türlerinde olduğu gösterilmektedir. Bu nedenle verilerimiz, kanserlerin ilerlemesini içeren çeşitli kanserojen moleküllerin

detoksifikasyonunda GST enzimleri üzerinde önemli bir işleve işaret etmektedir. Bu sonuçlara göre oksidatif stres ve glutatyon tükenmesi bazı kanser türlerinin patogenezinde önemli rol oynayabilir (Di Pietro *et al.* 2010).

Bu konuda şimdiye kadar yapılan küçük ölçekli nüfus çalışmaları nedeniyle, kanser hastaları, hakkında sınırlı bilgi vardır. Ayrıca, bu konuda pek çok bağlantılı rapor olmasına rağmen, bu verilerden net sonuçlar elde etmek çok zordur. Açıkça söyleyebileceğimiz şey, tek bir değişkenin temsil edilmesinin olası olmadığıdır. Sadece GST polimorfizmi ile kanser duyarlılığının tespiti ve analizi için basit bir risk faktörü olarak kabul edilebilir. Karsinojenlere maruz kalma, genetik polimorfizmler ve popülasyon çeşitliliği gibi diğer birçok değişken, yatkınlık mekanizması bağlamında dikkate alınmalıdır. Mevcut literatür taraması yapıldığında birçok epidemiyolojik raporun olduğu görülmektedir. GST ekspresyonu ve kanser arasındaki bağlantı ile ilgili küçük örneklem boyutunda görülme sıklığı, GST, bir faz II detoksifikasyon enzimi, kansere yatkınlıkta tek başına hareket etmesi olası değildir. Bu nedenle diğer faz I ve faz II detoksifikasyon enzimlerinin büyük ölçekli ve farklı popülasyonlarını içeren polimorfizm çalışmaları araştırılmaktadır. Ancak bu şekilde GST ekspresyon profillerinin hastalık progresyonuna ve prognozuna katkı sağlayıp sağlamadığı daha net ifade edilebilir (Di Pietro *et al.* 2010).

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

Örnekler Babil'deki Al-Hilla Eğitim Hastanesi'nden alınmıştır. Test edilen popülasyonlar, daha önce meme kanseri teşhisi konmuş 129 kadın bireyden ve herhangi bir kanser öyküsü olmayan 129 yaş eşleştirilmiş kadından kontrol popülasyonu olarak oluşturulmuştur. Kan bağışı sırasında her birey yaş, kilo, boy, adet ve üreme öyküleri, ailede meme ve diğer kanser öyküsü (birinci derece akraba; sadece anne, kız kardeş veya kız çocukları) ve sigara içme durumu ile ilgili verileri içeren standart bilgiler kaydedilmiştir.

3.1.1 Kimyasal ve reaktifler

Çalışmanın analizinde kullanılan kimyasal ve reaktifler aşağıda listelenmektedir (Lan *et al.* 2012).

- Agarose
- Borik asit
- Bromofenol mavisi
- Kloroform
- Etanol
- Etidyum bromür
- Ficoll
- Gamma Micropor Agarose
- İzoamil alkol
- Fenol
- Proteinaz K
- pUC Mix Marker, 8 MBI
- Sodyum asetat

- Sodyum dodesil sülfat (SDS)
- TrisHCl
- Trisodyum sitrat
- Ksilen siyanol

3.1.2 PZR malzemeleri

Taq polimeraz (5U/µL), 10X PCR tamponu (100 mM Tris-HCl, 25 ºC'de pH 8,8, 500 mM KCl, %0,8 Nonidet P40), 25 mM $MgCl_2$, 10 mM dNTP karışımı MBI Fermentas Inc.'den temin edildi. Standart solüsyonlar aşağıda gösterilmektedir (Lan *et al.* 2012).

Agaroz jel yükleme tamponu (6X)

- %15 fikol
- %0,05 bromofenol mavisi
- %0,05 ksilen siyanol

DNA Ekstraksiyon tamponu

- 10 mM Tris HCl, pH 8,0
- 10 mM EDTA, pH 8,0
- % 0,5 GBF

Proteinaz K (stok); 20 mg/mL

SSC (20X)

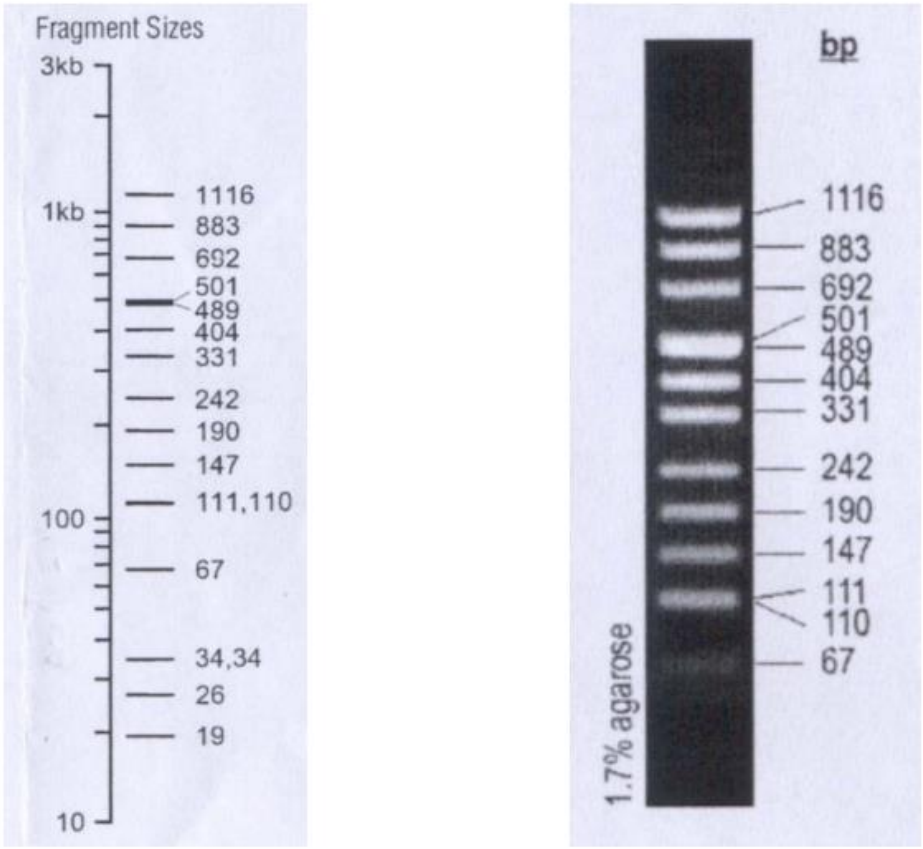
- 3 M NaCl
- 0,3 M trisodyum sitrat, pH 7,0

TE Tamponu

- 10 mM Tris HCl pH 8,0
- 1 mm EDTA

Tris-borik asit-EDTA (TBE) (10 X) (1L)

- 108 gr Tris HCl
- 55 gr borik asit
- 20 mL 0,5 M EDTA
- ddH_2O ile son hacmi 1 L'ye tamamlanır.



Şekil 3.1 Standart DNA markerları (Lan *et al.* 2012).

3.2 Yöntem

3.2.1 DNA izolasyonu

Periferik kan örnekleri, EDTA içeren tüplere alınarak 4 ºC'de beş gün süreyle saklanmıştır. Kan daha sonra 800 ul'lik alikuotlara bölünerek ve -20 ºC'de saklandı. Bu 800 uL kan numuneleri, standart proteinaz K/SDS sindirimi ve fenol-kloroform ekstraksiyonu ile DNA ekstraksiyonu için kullanıldı. Kan örnekleri, proteinaz K/SDS sindiriminden önce yıkandı. Alikuotlar çözüldükten sonra 800 uL l x SCC ilave edildi ve vorteksle karıştırıldı. Numuneler daha sonra 13,000 rpm'de 1 dakika santrifüjlendi. Süpernatan dikkatlice çıkarıldı ve klorolara atıldı. Hücre peleti 1,4 mL l x SSC içinde yeniden süspanse edildi ve 1 dakika 13.000 rpm'de santrifüjlendi. Bu yıkama adımı, pelet

beyazlaşana kadar tekrarlandı. Pelet daha sonra 20 uL proteinaz K (20 mg/mL) solüsyonu içeren 800 uL DNA ekstraksiyon tamponu içinde yeniden süspanse edildi. Örnekler 56 ^{o}C'de 4 saat inkübe edildi ve her 20 dakikada bir kısaca karıştırıldı. Bu inkübasyon süresinin sonunda hücre peleti tamamen çözülmediyse tüpler gece boyunca 56 ^{o}C'de bırakıldı (Lan *et al.* 2012).

Hücre peleti tamamen çözündükten sonra, çeker ocakta fenol/kloroform adımı gerçekleştirildi. 400 uL fenol/kloroform/izoamilalkol (25:24:1) eklendi ve tüp kuvvetlice vortekslendi. Tüp daha sonra 13.000 rpm'de 5 dakika santrifüjlendi. Üst sulu DNA içeren katman (~700 µL) yeni bir tüpe aktarıldı. DNA süpernatanı yapışkansa ve tamamen yeniden süspanse edilmemişse veya arayüz temiz değilse, ekstraksiyon adımı 350 uL fenol/kloroform/izoamilalkol (25:24:1) eklenerek tekrarlandı. Daha sonra DNA'yı çökeltmek için üst sulu katmana 35 uL NaOAc (3mM, pH=5,2) ve 700 uL buz gibi saf etanol (EtOH) ilave edildi, ters çevrilerek karıştırıldı ve 30 dakika ila gece boyunca -20°C'de inkübe edildi. Tüpler daha sonra 13.000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Daha sonra etanol atıldı ve pelet havada kurutuldu. Pelet 200 uL TE (pH 8,0) içinde veya steril ddH_2O içinde 56 ^{o}C'de 1 saat inkübasyonla çözündürüldü. Pelet tamamen çözülmediyse, gece boyunca 56 ^{o}C'de inkübasyon yapıldı.

3.2.2 Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)

Polimeraz zincir reaksiyonu, ilgili spesifik bir DNA dizisinin oligonükleotid primeri ile yönlendirilen enzimatik amplifikasyonu için bir yöntemdir. Tüm amplifikasyon reaksiyonları, MPCR-A100 DNA PCR Machine\Thermal Cycler makinesinde gerçekleştirildi. Çizelge 3.1'de kullanılan primerler ve dizileri yer almaktadır (Lan *et al.* 2012).

Çizelge 3.1 Kullanılan primerler ve dizileri

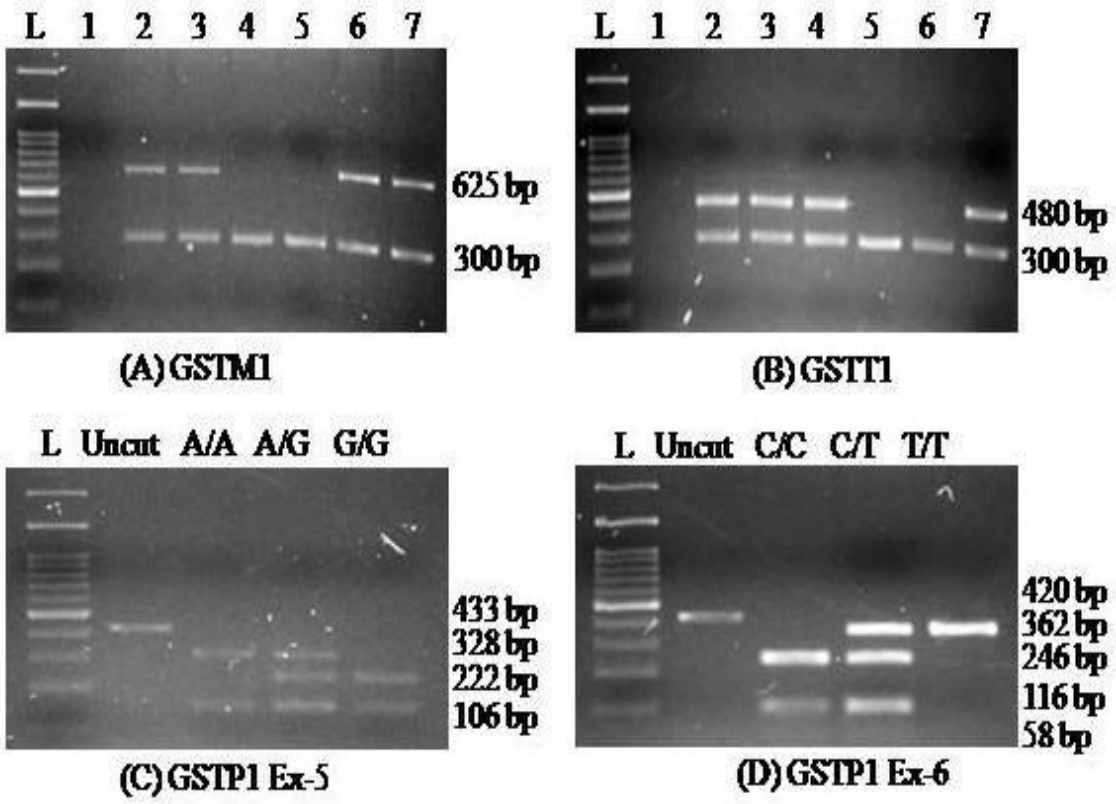
GSTM1 E7A	5′-TTGGGAAGGCGTCCAAGCGC-3′
GSTM1 E7B	5′-TTGGGAAGGCGTCCAAGCAG-3′
GSTM1 I6	5′-GCTTCACGTGTTATGAAGGTTC-3′
XAHR 17[a]	5′-CGGAACCGCTCATTGCC-3′
XAHR 20[a]	5′-ACCCACACTGTGCCCATCTA-3′
GSTP1 F	5′-GTAGTTTGCCCAAGGTCAAG-3′
GSTP1 R	5′-AGCCACCTGAGGGGTAAG-3′
GSTT1 F	5′-TTCCTTACTGGTCCTCACATCTC-3′
GSTT1 R	5′-TTGGGAAGGCGTCCAAGCGC-3′

3.2.3 Restriksiyon endonükleaz kesimi

Amplifiye edilmiş GSTP1 ürünleri, GSTP1'deki A3136 polimorfizmini analiz etmek için kesime tabi tutulmuştur. RE reaksiyonu, 10 µL PCR ürünü, 10 x tampon Y+/TANGO (MBI Fermantas) (33 mM Tris-asetat, 10 mM Magnezyum asetat, 66 mM Potasyum asetat, 0,1 mg/mL BSA pH=7,9, 37 ºC'de gerçekleştirildi ve örnekler 37 ºC'de 4 saat inkübe edildi (Lan *et al.* 2012).

3.2.4 Agaroz jel elektroforezi

PZR ürünlerini analiz etmek için agaroz jel elektroforezi kullanıldı. 1xTAE tamponu içinde %2 (a/h) agaroz jelleri hazırlandı ve tampona 10 mg/mL stoktan 1 uL etidyum bromür çözeltisi ilave edildi. 8 µL PCR ürünü, 1,5 µL 6x yükleme tamponu ile karıştırıldı ve karışım jele yüklendi. Ürünler 45 dakika boyunca 90 voltta çalıştırıldı. Jel daha sonra transillüminatör altında analiz edilerek ve fotoğrafları çekilmiştir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2 GSTM1, GSTT1 ve GSTP1'in genotip dağılımını gösteren agaroz jel görüntüsü

3.2.5 Bireylerin genotiplenmesi

3.2.5.1 GSTP1 genotipleme

GSTP1'deki Ile 105 Val polimorfizmi, PCR ve RE ile analiz edildi. GSTP1 PCR amplifikasyonu için, her biri 10 pmol GSTP1 primeri, 200 uM dNTP karışımı, 10xPCR tamponu, 1,5 mM $MgCl_2$, 1U DNA Taq polimeraz içeren toplam 25 uL reaksiyon hacminde 50-100 ng genomik DNA kullanıldı. Amplifikasyon koşulları aşağıdaki gibidir; ilk denatüre adımı 94 ºC'de 5 dakika, ardından 30 döngü 94 ºC'de 30 saniye denatüre etme, 57 ºC'de 30 saniye bağlanma, 72 ºC'de 30 saniye uzatma, ve reaksiyon 72 ºC'de 7 dakika son bir uzatma ile tamamlandı. Beklenen amplifikasyon ürünü 176 bp, 3 U Alw26I ile 37 ºC'de 4 saat kesildi. Kesilen fragmanlar, %3 1:1 Agarose: Gamma Micropore oranında elektroforeze tabi tutuldu. 91bp ve 85bp kesilen fragmanlarının varlığı, Val alelinin varlığını gösterir (Lan *et al.* 2012).

3.2.5.2 GSTT1 genotipleme

GSTT1 genotiplemesi, GSTT1 genine özgü primerler kullanılarak PZR ile belirlendi. GSTP1 primerleri ayrıca her örneğin bağımsız amplifikasyonunu görmek için PCR karışımına bir kontrol olarak dahil edildi. GSTT1 PCR genotiplemesi için, her GSTT1 primerinden 10 pmol, 200 uM dNTP, 10xPCR tamponu, 2,0 mM $MgCl_2$ ve 1U DNA Taq polimeraz içeren toplam 25 ul'lik bir hacimde 50-100 ng genomik DNA kullanıldı. Amplifikasyon koşulları şu şekildeydi: 94 ^{o}C'de 5 dakika süreyle ilk denatüre etme adımı, ardından 94 ^{o}C'de 30 saniye boyunca 30 döngü denatüre etme, 60^{o}C'de 30 saniye bağlanma, 72 ^{o}C'de 30 saniye uzatma ve reaksiyon 72 ^{o}C'de 7 dakika son bir uzatma ile tamamlandı (Lan *et al.* 2012).

3.2.5.3 GSTM1 genotipleme

GSTM1 genotipi, bir dahili kontrol reaksiyonu olarak GSTM1 amplifikasyonu ve CYP2E1 amplifikasyonu ile belirlendi. CYP2E1 primerleri ayrıca her örneğin bağımsız amplifikasyonunu görmek için PZR karışımına kontrol olarak dahil edildi. Her iki reaksiyon da aynı reaksiyon tüpünde gerçekleştirilmiştir. GSTM1 PCR genotipleme deneyleri, 50-100 ng genomik DNA, 10xPCR tamponu, her GSTM1 primerinden 10 pmol, 20 pmol kullanılarak yapıldı. Her bir CYP2E1 primerinden, 200 uM dNTP, 1,5 mM $MgCl_2$ toplam 25 uL hacimde kullanıldı. Amplifikasyonlar aşağıdaki koşullarla gerçekleştirilmiştir; 94 ^{o}C'de 5 dakika ilk denatürasyon, ardından 94 ^{o}C'de 30 saniye boyunca 35 döngü denatürasyon, 30 için bağlanma saniye 55 ^{o}C'de ve 45 saniye 72 ^{o}C'de uzatma, 72 ^{o}C'de 7 dakika son uzatma. Beklenen amplifikasyon ürünü, GSTM1 pozitif bireylerde 215 bp idi (Lan *et al.* 2012).

3.2.6 İstatiksel analiz

Yapılan deneyler sonucunda sayısal ve kategorik olarak elde edilen değişkenlerin dağılımlarının birbirinden farklı olup olmadığını araştırmak için ki-kare (X2) analizi

kullanılacaktır. Yapılan analizler Gözlemler ve gerçek sonuçların arasındaki ilişkilerin beklenenlerden farklı olup olmadığını değerlendirmektedir (Daniel 1995).

3.2.7 Odds oranı hesaplama

İki tür gözlemsel çalışma vardır: ileriye dönük ve geriye dönük vaka kontrol çalışmaları. İkisi arasındaki temel fark, örnekleme şemasıdır. Örnekleme yanıt değişkenine dayandığında, çalışmaya geriye dönük çalışma denir. Örnekleme uyaran değişkenine dayandığında, çalışmaya ileriye dönük çalışma denir. Prospektif bir çalışma gelecekle ilgilidir. Denekler risk faktörünü taşıyıp taşımadıklarına göre katmanlara ayrılmıştır. Sonuç, belirli bir takip süresi geçtikten sonra değerlendirilir (örneğin, meme kanseri geliştirecek bireyleri gözlemlemek için 30 yıllık GST genotipleme takibinden sonra). Retrospektif bir çalışma geçmişle ilgilidir. Sonucu olan kişiler çalışma grubunu oluşturur ve bu deneklerin risk faktörünün olup olmadığı belirlenir (örn. meme kanseri grubu ve kontrol grubu bulun, postmenopozal veya premenopozal olup olmadıklarını belirleyin ve ardından GST genotiplemesi yapın). Geriye dönük veya vaka geçmişi çalışmaları nispeten hızlı ve ucuzdur, kolayca tekrarlanabilir ve incelenecek daha fazla sayıda bireydir. İncelenen hastalığın özellikleri, prospektif mi yoksa retrospektif bir çalışmanın mı kullanılması gerektiğine karar vermede rol oynar. Hastalık ne kadar nadir olursa veya şüphelenilen neden ile durum arasındaki süre ne kadar uzun olursa, kohort çalışması o kadar zor olur. Göreceli risk terimi, ileriye dönük çalışmalardan elde edilen risk tahmini için kullanılır. Aslında risk faktörü olan kişiler arasında hastalık geliştirme riskinin, risk faktörü olmayan kişiler arasındaki riske oranıdır. Veriler geriye dönük bir çalışmadan geliyorsa, göreceli risk iki grubu karşılaştırmak için anlamlı bir ölçü değildir. Geriye dönük bir çalışmada vakaları ve kontrolleri karşılaştırmak için uygun test, olasılık oranıdır. Her halükarda, nadir hastalıklar için olasılık oranı, göreceli riskin yakın bir tahminidir.

Odds oranı sıfır ile sonsuz arasında bir değer alabilir. Sıfır değeri, risk faktörü ile hastalık durumu arasında hiçbir ilişkinin olmadığının göstergesidir. 1'den büyük bir değer, kontrollere kıyasla vakalar arasında daha yüksek bir risk olduğunu gösterir. Odds oranı, güven aralıklarının alt ve üst sınırları arasında bir değer alır. %95 güven aralığının alt

sınırı 1'den büyükse, 1'den büyük bir oran oranı değeri istatistiksel olarak anlamlıdır. Odds oranı hesaplamaları ve güven aralıkları için Denklem (3.1) ve (3.2) kullanılır.

$$OR = ad/bc \tag{3.1}$$

$$95\%\ CI = e^{\ln[OR] \pm 1{,}96 \text{ times square root of } (\frac{1}{A}+\frac{1}{B}+\frac{1}{C}+\frac{1}{D})} \tag{3.2}$$

3.2.8 Gen-çevre, gen-gen etkileşim analizleri

Karşılaştırılan vakalar veya kontroller, hastalık (bu örnekte meme kanseri) ve maruziyet (veya potansiyel risk faktörü veya nedeni) ile ilgili herhangi bir özellik açısından farklılık gösteriyorsa, bu karşılaştırmalar yapılırken bu farklılıklar dikkate alınmalıdır. Genetik ve çevresel bir faktör arasındaki etkileşimin varlığını araştırmak için bir vaka kontrol çalışma grubu tasarlanmıştır. Çevresel (E=e) ve genetik faktörler (G=g), maruz kalan (örn. yüksek BMI) veya duyarlı (örn. GSTP1 105 Ile/Val veya Val/Val genotiplerinin kombinasyonu) için 1 değerini alan ikili değişkenlerdir. ve 0, maruz kalmayan (örn. düşük BMI) veya duyarlı olmayan (örn. GSTP1 Ile/Ile) için. Hastalık durumu (D=d), etkilenen (meme kanseri hastaları) için 1 ve etkilenmeyen (yaş uyumlu kontrol) için 0 değerini alır (Garcia-Closas *et al.* 2005). Olasılık oranı OReg, hastalık ile çevresel ve genetik faktörler arasındaki ilişkinin ölçüsüdür.

Çarpımsal etkileşim parametresi Ψ'dir. Çarpımsal bir etkileşimin yokluğunda, Ψ=1. Toplamsal etkileşim parametresi Φ'dir. Katkı maddesi yokluğunda etkileşim Φ=1. Referans grubu (örn. 00 kişi) için bahis oranı 1'dir, çünkü bu grup için odds oranı referans grubu kendi başına karşılaştırılarak hesaplanmaktadır. Odds oranları, referans grup (hiçbir risk genotipi taşımayan bireyler) sırasıyla diğerleriyle karşılaştırılarak hesaplandı. Gen-gen etkileşimi (incelenen genlerin birleşik etkileri) analizi için aynı yöntem kullanılabilir. Ancak o zaman çevresel (E=e) faktörün yerini genetik faktör alır. Bu ikili değişkenler, her iki duyarlı (ör. GSTM1 boş genotip veya GSTT1 boş genotip) için 1 ve her iki duyarlı olmayan durum (ör. GSTM1 pozitif veya GSTT1 pozitif) için 0 değerini alır.

4. BULGULAR

Bu çalışmada, meme kanseri duyarlılığında üç GST geninin, GSTM1, GSTP1 ve GSTT1'in her birinden bir polimorfizmi incelemek için PZR tabanlı bir genotipleme modeli kullandık. Her gen için genotipik sonuçlar Çizelge 4.1'de görülebilir. GSTM1'in null genotipi, hem kontrol hem de vaka popülasyonlarındaki bireylerin yaklaşık yarısında (%56 ve 57) görülmüştür. Pozitif genotipi ifade eden tüm bireyler ayrıca GSTM1*A, GSTM1*B ve GSTM1*A/B genotipleri olarak sınıflandırıldı. AB genotipinin cilt kanseri duyarlılığına karşı koruyucu bir etkiye sahip olduğu önceki çalışmalarda bulunmuştu, ancak bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, vaka popülasyonu ile karşılaştırıldığında kontroldeki sıklık arasında bir fark bulamadı (sırasıyla %6 ve %5). GSTM1*A ve GSTM1*B genotiplerinin frekansları, popülasyonlar arasında biraz farklılık göstermiştir, ancak bu önemli bulunmamıştır. Bu sonuçlar, bu çalışmada tek başına GSTM1'in meme kanseri duyarlılığını etkilemediğini göstermektedir.

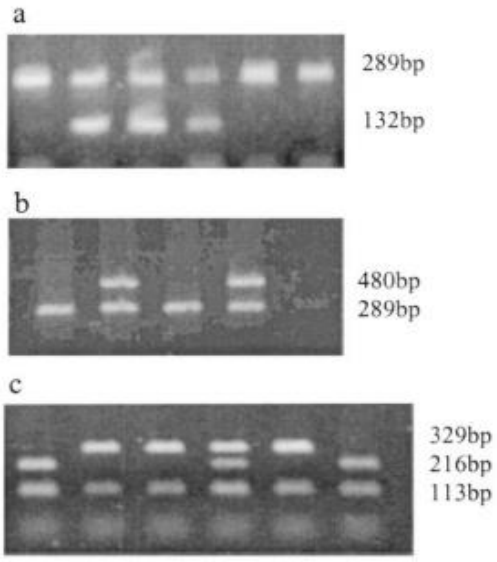
Çizelge 4.1 Etkilenen meme kanseri ve kontrol popülasyonları arasındaki genotip sıklıklarının karşılaştırılması

Genotip	Etkilenen popülasyon (n=129) Yüzde (%)	Kontrol popülasyon (n=129) Yüzde (%)	χ^2 olasılıklar
GSTM1			
A	28 (22)	22 (17)	
B	21 (16)	27 (21)	P=0,672
AB	7 (5)	8 (6)	
Null	73 (57)	72 (56)	
GSTP1			
Ile/Ile	63 (49)	59 (46)	
Ile/Val	55 (43)	64 (50)	P=0,319
Val/Val	11 (8)	6 (4)	
GSTT1			
Null	27 (21)	20 (16)	P=0,258
Pozitif	101 (79)	108 (84)	

GSTM1 genininki gibi, GSTT1'in de null bir genotipi vardır, ancak popülasyonlar arasındaki normal sıklık bildirilmemiştir. Bu çalışmada, null genotip kontrol

popülasyonunun %16'sında ve vakaların %21'inde görülmüştür (anlamlı derecede farklı değildir) (P = 0,258). Çizelge 4.1'de ayrıca GSTP1 genotiplerinin sıklığı da gösterilmiştir. Homozigot varyant genotipinin (valin/valin), diğer kanser türlerine duyarlılıkta bir artışa dahil olduğu ve bir doğal tip (izolösin) alelinin ekspresyonunun koruyucu olduğu diğer çalışmalarda görülmüştür. Bu çalışmalardan farklı olarak, sonuçlarımız GSTP1 genotipiyle (P=0,319) genotip etkisi göstermedi. Val/Val olarak adlandırılan varyant genotip, vakaların %8'inde ve kontrollerin %4'ünde görüldü, bu önemli ölçüde farklı olmadığı gösterilen hafif bir farktır. Genel olarak, sonuçlar, bu GST genlerinin, test edilen meme kanseri popülasyonunda meme kanseri duyarlılığını etkilemediğini göstermektedir.

Şekil 4.1'de görüldüğü üzere GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 polimorfik PZR ürünleri, agaroz jel elektroforezi ile çözülmüştür. (a) Null (şerit 1, 5 ve 6) ve pozitif genotipleri (şerit 2, 3 ve 4) gösteren GSTM1 polimorfizmi sonuçları. (b) GSTT1 polimorfizm sonuçları aynı zamanda null (şerit 1 ve 3) ve pozitif genotipleri (şerit 2 ve 4) gösterir. (c) GSTP1'in Ile/Val polimorfizm sonuçları. Şerit 1 ve 6 Val/ Val genotipini, şerit 2, 3 ve 5 Ile/Ile genotipini ve şerit 4 Ile/ Val genotipini gösterir.



Şekil 4.1 GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 polimorfik PZR ürünlernin agaroz jel elektroforezi ile çözülmesi

Çizelge 4.2 Genotip dağılımı ve genotip kombinasyonları ile ilişkili risk

Grup	GSTM1	GSTP1	GSTT1	Vaka (n=129)	Kontrol(n=129)
Üç yüksek riskli genotip	Null	4 ve 5	Null	6	7
İki yüksek riskli genotip	Null	4 ve 5	Pozitif	31	36
	Null	2	Null	10	5
	Pozitif (A, B ya da AB)	4 ve 5	Null	6	2
Bir yüksek riskli genotip	Null	2	Pozitif	25	24
	Pozitif	4 ve 5	Pozitif	23	24
	Pozitif	2	Null	5	6
Yüksek riskli genotip	Pozitif	2	Pozitif	22	24

GST genlerinin bireysel genotipleri meme kanseri duyarlılığına dahil olmadığından, sonuçlarımız ayrıca GST genlerinden farklı genotip kombinasyonlarının hastalık gelişiminde rol oynayıp oynamadığını belirlemek için analiz edildi. Her gen, her bir bireyde birden fazla ifade edildiğinde meme kanseri duyarlılığına dahil olabilen, artmış bir risk genotipini (GSTM1 null, GSTT1 null ve GSTP1 Val/Val) ifade eder. Sonuçlar, her iki popülasyonda (hiçbiri, bir, iki ve üç) her birey tarafından ifade edilen artmış (yüksek riskli) genotiplerin sayısına göre analiz edildi. Gruplar şu şekilde sınıflandırıldı: artan risk: GSTM1 null, GSTT1 null ve GSTP1 Val/Val veya Ile/val; ve azaltılmış risk: GSTM1 pozitif (tüm GSTM1*A, B ve A/B dahil), GSTT1 pozitif ve GSTP1 Ile/Ile. Çizelge 4.2, üç genin her birinin genotipik dağılımını ve CLUMP analizi kullanılarak analiz edilen her bir genotip kombinasyonu ile ilişkili riski göstermektedir. Mevcut yöntemi kullanarak GSTM1'in polimorfik bölgesini analiz ederken, GSTM1*0 (null) heterozigotlar ile GSTM1*A ve GSTM1*B homozigotları arasında ayrım yapmak mümkün değildir. Bu nedenle, Çizelge 4.2'deki genotipik kombinasyonların analizi için, GSTM1 aleli A, B veya AB ise, genotip pozitif olarak not edildi. GSTP1 genininkine gelince, valin alelinin taşıyıcılarının tümör duyarlılığı için artan bir risk altında olduğuna inanılmaktadır, bu nedenle heterozigot ve homozigot valin genotipleri yüksek risk olarak kabul edildi ve analizin bu kısmı için birleştirildi. Sonuçlar, bu çalışma popülasyonunda GSTM1, GTSP1 ve GSTT1 genlerinin farklı genotipik kombinasyonları arasında artan risk ile sonuçlanan önemli etkileşimler olmadığını göstermiştir ($p = 0,7462$).

5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Birçok kansere bireyin yaşamı boyunca çevresel kanserojenlere maruz kalma neden olur. Artan sayıda çalışma, bireylerin potansiyel karsinojenleri detoksifiye etme yeteneğinin büyük ölçüde farklılık göstermiştir. Bu kanserojenlerin detoksifikasyonunda ve metabolizmasında yer alan enzimleri kodlayan genler, farklı enzim aktivitesi seviyelerine yol açan mutasyona uğrayabilir. Bu genlerdeki genetik polimorfizmler bu nedenle kansere yatkınlıkta rol oynayan bir faktördür. Yaş dahil olmak üzere birçok başka potansiyel risk faktörü de vardır. İlk doğum yaşı, menopoz yaşı, doğum öyküsü ve hastalığın kişisel veya aile öyküsü, predispozan genlerle etkileşimli bir rol oynayabilir. Bu çalışmada, GSTM1, GSTT1 ve GSTP1'in her birinin meme kanseri duyarlılığı üzerindeki etkisini belirlemek için PCR tabanlı bir genotipleme yaklaşımı kullandık.

Vogl vd. (2004), GSTM1 ve GSTT1 genlerinde delesyon polimorfizmleri ve GSTP1'de kodon 105'te (Ile!Val) bir baz geçiş polimorfizmi meme kanseri riski ile ilişkisini araştırmışlardır. Tütün içimi ve üreme faktörleri potansiyel etki değiştiricileri olarak incelenmiştir. Yedi vaka kontrol çalışmasından elde edilen bireysel veriler, Çevresel Karsinojenlere Genetik Duyarlılığa İlişkin Uluslararası İşbirliği Çalışması kapsamında toplanmıştır. GST'lerin meme kanseri riski üzerindeki etkisini ölçmek için, çalışma merkezi ve yaşa göre ayarlanarak, olasılık oranları ve %95 güven aralıkları hesaplandı. Değiştirici etki, sigara içme alışkanlıkları ve üreme öyküsü değişkenleri üzerinde tabakalandırma yoluyla araştırıldı. Meme kanserli toplam 2.048 vaka ve 1.969 kontrol analiz edildi. Meme kanserinin bağıl olasılık oranı (%95 güven aralığı) GSTM1 boşken 0.98 (0.86–1.12), GSTT1 boşken 1.11 (0.87–1.41), GSTP1 heterozigot mutantlarda 1.01 (0.79–1.28) ve 0.93 (0.62–1.38) GSTP1 homozigoz mutantları ile sigara içme veya üreme faktörlerine göre sınıflandırma, bu değişkenlerin değiştirici bir etkisini ortaya çıkarmadı ve GSTM1 ile meme kanseri tanı yaşı arasında herhangi bir ilişki yoktu. Bu, GST genlerindeki polimorfizmlere bağlı meme kanserine yatkınlığı araştıran en büyük çalışmadır. Sonuçlar, tek gen GST polimorfizmlerinin taşıyıcılarına önemli bir meme kanseri riski vermediğini kesin olarak göstermektedir. Ayrıca, GST'ler kanser riskini değiştirmek için sigara içme veya üreme öyküsü ile etkileşime girmedi. Mevcut

sonuçlarımız da, tek başına GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 genotiplerinin meme kanseri gelişiminde yer almadığını göstermiştir.

Helzlsouer vd. (1998) GSTM1, GSTP1 ve GSTT1 polimorfizmlerini inceleyen bir ABD meme kanseri popülasyonu üzerinde bir çalışma yapmıştır. GSTM1 null genotipinin, ağırlıklı olarak postmenopozal meme kanseri ile ilişkisi nedeniyle meme kanseri gelişme riskinin artmasıyla ilişkili olduğunu bulmuşlardır. Buna karşılık, Zhong *et al.* (1993) GSTM1 null genotipinin hem vaka hem de kontrol popülasyonlarında benzer sıklıkta olduğunu bulmuştur (sırasıyla %47,7 ve %42).

Al-Terehi vd. (2016), Oksidatif stres hastalığın indüklenmesinde ve gelişiminde önemli bir faktör olmuştur bu çalışma meme kanseri dokusunda glutatyon S-transferaz Mu1 (GSTM1), glutatyon S-transferaz T1 (GSTT1) gen polimorfizmlerini multipleks PCR kullanılarak saptamak için yapılmıştır. Mevcut çalışmanın sonuçları, GSTM genindeki silmenin sırasıyla kontrol ve hastalar için %22, %83.84 olduğunu göstermektedir ($p<0,0001$). GSTT geninde delesyon sırasıyla %52, kontrol ve hastalarda %100 olarak görüldü ($p<0,005$). GSTM ve GSTT geni arasındaki ilişki, kontrolün %48'inde iki genin normal olduğunu ($p<0,05$), GSTT geni olmayan GSTM geninin görünümlerinin kontrolde görünmediğini, kanser dokusunun %16,16'sında ortaya çıktığını göstermektedir ($p<0,0506$), kontrolün %40'ında GSTM geninin normalliği olmadan GSTT geni normaldi ($p<0,0022$). Bu çalışma, Iraklı kadınlarda antioksidan enzim genlerinin meme kanseri ile güçlü bir şekilde bağlantılı olduğu sonucuna varmıştır. Bizim sonuçlarımız, çalışma popülasyonunda sporadik meme kanseri duyarlılığında üç glutatyon S-transferaz geni için bağımsız veya etkileşimli bir rolü desteklememektedir.

Khabaz (2014), yaptığı çalışmada, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ürünü için restriksiyon fragman uzunluk polimorfizmi (RFLP) yöntemi kullanılarak daha önce meme kanseri teşhisi konmuş 100 doku örneğinde ve kanser olmayan yaş uyumlu 48 meme dokusunda GST-pi polimorfizmini araştırmıştır. Meme kanseri vakalarının sırasıyla %58, %40 ve %2'si homozigot (Ile/Ile), heterozigot (Ile/Val) ve homozigot (Val/Val) idi. Kontrol grubunda sırasıyla %58, %37,5 ve %4,2 homozigot (Ile/Ile), heterozigot (Ile/Val) ve homozigot (Val/Val) idi. Sonuçlarımız, test edilen Kuzey Ürdün

kadın popülasyonunda meme kanserine duyarlılıkta GST-pi gen polimorfizminin katılımını desteklemedi. Mevcut sonuçlarımız da, tek başına GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 genotiplerinin meme kanseri gelişiminde yer almadığını göstermiştir.

Zhong'un çalışması gibi, bu çalışmada da test edilen popülasyonlarda GSTM1 null genotipinin sıklıkları arasında önemli bir fark bulunamamıştır. Pozitif genotipin daha önceki çalışmalarda hem bazal hem de skuamöz hücreli karsinom gelişimine karşı koruyucu etkisi gösterilmiş, ancak bu meme kanseri gelişiminde görülmemiştir. GSTM1'den farklı olarak, GSTT1 null genotipinin meme kanserinde artan sayıda meydana geldiği bulunmamıştır, ancak kolorektal ve adenokarsinom dahil olmak üzere çeşitli diğer kanserlerle ilişkiler gözlemlenmiştir. Sonuçlarımız, popülasyonlar arasında GSTT1 null frekansında hiçbir farkın gözlenmediği önceki bir meme kanseri çalışmasının sonuçlarıyla karşılaştırılabilirdi. Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar, null genotipi ifade eden vakanın %21'i ve kontrol popülasyonunun %16'sıydı.

GSTP1 polimorfizmi, izolösinden (doğal tip) bir valine (varyant) bir amino asit değişimi ile sonuçlanmıştır. GSTP1 varyant genotipi mesane, testis ve akciğer tümörlerinde artan sayıda ve ayrıca meme tümörlerinde artan seviyelerde görülmüştür (önemli ölçüde farklı olmasa da). Benzer şekilde, izolösin alelinin taşıyıcılarının frekansları da popülasyonlar arasında farklı değildir. Bu nedenle, bu popülasyonda izolösin alelinin meme kanseri gelişimine karşı koruyucu bir etkisi yok gibi görünmektedir.

Mevcut sonuçlarımız, tek başına GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 genotiplerinin meme kanseri gelişiminde yer almadığını göstermiştir, ancak bu, genler ve olası genotip kombinasyonları arasındaki etkileşimleri etkilemez. Bununla birlikte, genotipik analiz bu çalışmada test edilen genlerin kombinasyonları, meme kanseri ile predispozan genotipik kombinasyon korelasyonlarını belirlenememiştir. Genel olarak, sonuçlarımız çalışma popülasyonunda sporadik meme kanseri duyarlılığında bu üç glutatyon S-transferaz geni için bağımsız veya etkileşimli bir rolü desteklememektedir.

KAYNAKLAR

Alexandrie, A. K., Rannug, A. and Juronen, E. 2002. Detection and characterization of a novel functional polymorphism in the GSTT1 gene. Pharmacogenetics, 12: 613-19.

Al-Terehi, M., Hasan, A. H., Muhammed, H. J., Mohsen, I. H., Al-Saadi, A. H., Zaidan, H. K. and Al-Kiam, Z. H. 2016. Polymorphisms of Glutathione-S-Transferase M1 and T1 Genes in Breast Cancer Tissue in Iraqi patients. JCPS, 9(4): 2911-2914.

Ali-Osman, F., Akande, O. and Antoun, G. 2002. Molecular cloning, characterization and expression in Escherichia coli of full-length promoter. Pharmacogenetics, 12: 277-86.

Al-Moundhri, M. S., Alkindy, M. and Al-Nabhani, M. 2009. Combined polymorphism analysis of glutathione S-transferase M1/T1 and interleukin-1B (IL-1B)/interleukin 1-receptor antagonist (IL-1RN) and gastric cancer risk in an Omani Arab population. J Clin Gastroenterol, 43: 152-6.

Axarli, I. A., Ridgen, D. J. and Labrou, N. E. 2004. Characterization of the ligandin site of maize glutathione S-transferase I. Biochem J, 382: 885-93.

Board, P. G., Coggan, M. and Chelvanayagam, G. 2000. Identification, characterization and crystal structure of the Omega class glutathione transferases. J Biol Chem, 275: 24798-806.

Boccia, S., De Lauretis, A. and Gianfagna, F. 2007. CYP2E1PstI/RsaI polymorphism and interaction with tobacco, alcohol and GSTs in gastric cancer susceptibility: a meta-analysis of the literature. Carcinogenesis, 28: 101-6.

Bolt, H. M., Parra, F. C. and Amado, R. C. 2006. Relevance of the deletion polymorphisms of the glutathione S-transferases GSTT1 and GSTM1 in pharmacology and toxicology. Curr Drug Metab, 7: 613-28.

Bosetti, C., Gallus, S. and Franceschi, S. 2002. Cancer of the larynx in non-smoking alcohol drinkers and in non-drinking tobacco smokers. Br J Cancer, 87: 516-8.

Bruhn, C., Brockmoller, J. and Kerb, R. 1998, Concordance between enzyme activity and genotype of glutathione S-transferase theta (GSTT1). Biochem Pharmacol, 56: 1189-93.

Buchard, A., Sanchez, J. J. and Dalhoff, K. 2007. Multiplex PCR Detection of GSTM1, GSTT1 and GSTP1 Gene Variants: Simultaneously Detecting GSTM1 and GSTT1

Gene Copy Number and the Allelic Status of the GSTP1 Ile105Val Genetic Variant. J Mol Diagn, 9: 612-17.

Cao, W., Cai, L. and Rao, J. Y. 2005. Tobacco smoking, GSTP1 polymorphism and bladder carcinoma. Cancer, 104: 2400-8.

Cheng, L., Sturgis, E. and Eicher, S. 1999. Glutathione S-transferase polymorphisms and risk of squamous cell carcinoma of the head and neck. Int J Cancer, 84: 220-4.

Cho, C. G., Lee, S. K. and Nam, S. Y. 2006. Association of the GSTP1 and NQO1 polymorphisms and head and neck squamous cell carcinoma risk. J Korean Med Sci, 21: 1075-9.

Coleman, J., Blake-Kalff, M. and Davies, T. 1997. Detoxification of xenobiotics by plants: chemical modification and vacuolar compartmentation. Trends Plant Sci, 2: 144-151.

Coles, B. F., Morel, F. and Rauch, C. 2001. Effect of polymorphism in the human glutathione S-transferase A1 promoter on hepatic GSTA1 and GSTA2 expression. Pharmacogenetics, 11: 663-9.

Cote, M. L., Chen, W. and Smith, D. W. 2009. Meta- and pooled analysis of GSTP1 polymorphism and lung cancer: a HuGEGSEC review. Am J Epidemiol, 169: 802-14.

Cotton, S. C., Sharp, L. J. and Brockton, N. 1999. Glutathione S transferase polymorphisms and colorectal cancer. Am J Epidemiol, 23: 1-18.

Daniel, W. W. 1995. “Biostatistics: A Foundation for Analysis in The Health Science”, 6th Edition Wiley Series in Probability and Mathematical Statistics Applied, New York.

Di Pietro, G., Magno, L. A. V. and Rios-Santos, F. 2010. Glutathione S-transferases: an overview in cancer research. Expert opinion on drug metabolism & toxicology, 6(2): 153-170.

El-Serag, H. B. and Rudolph, K. L. 2007. Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis. Gastroenterology, 132: 2557-76.

Engel, L. S., Taioli, E. and Pfeiffer, R. 2002. Pooled analysis and meta-analysis of glutathione S-transferase M1 and bladder cancer: a HuGE review. Am J Epidemiol 2002, 156: 95-109.

Frova, C. 2006. Glutathione transferases in the genomics era: new insights and perspectives. Biomol Eng, 23: 149-69.

Garcia-Closas, M., Malats, N. and Silverman, D. 2005. NAT2 slow acetylation, GSTM1 null genotype and risk of bladder cancer: results from the spanish Bladder Cancer study and meta-analyses. Lancet, 366: 649-59.

Garte, S., Gaspari, L. and Alexandrie, A. K. 2001. Metabolic gene polymorphism frequencies in control populations. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 10: 1239-48.

Geisler, S. A. and Olshan, A. F. 2001. GSTM1, GSTT1 and the risk of squamous cell carcinoma of the head and neck: a mini-HuGE review. Am J Epidemiol, 154: 95-105.

Golka, K., Schmidt, T. and Seidel, T. 2008. The influence of polymorphisms of glutathione S-transferases M1 and M3 on the development of human urothelial cancer. J Toxicol Environ Health, 71: 881-6.

Gudmundsdottir, K., Tryggvadottir, L. and Eyfjord, J. E. 2001. GSTM1, GSTT1 and GSTP1 genotypes in relation to breast cancer risk and frequency of mutations in the p53. Gene Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 10: 1169-73.

Harries, L. W., Stubbins, M. J. and Berndt, S. I. 1997. Identification of genetic polymorphisms at the glutathione S-transferase Pi locus and association with susceptibility to bladder, testicular and prostate cancer. Carcinogenesis, 18: 641-4.

Hayes, J. D., Flanagan, J. U. and Jowsey, I. R. 2005. Glutathione transferases. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 45: 51-88.

Helzlsouer, K., Selmin, O. and Huang, H. 1998. Association between glutathione S-transferase M1, P1 and T1 genetic polymorphisms and development of breast cancer. J Natl Cancer Inst, 90(7): 512–518.

Hosgood, H. D., Berndt, S. I. and Lan, Q. 2007. GST genotypes and lung cancer susceptibility in Asian populations with indoor air pollution exposures: a meta-analysis. Mutat Res, 636: 134-43.

Howells, R. E., Holland, T., Dhar, K. K. and Redman, C. W. 2001. Glutathione S-transferase GSTM1 and GSTT1 genotypes in ovarian cancer: association with p53 expression and survival. Int. J. Gynecol. Cancer, 11: 107-112

Henderson, C. J. and Wolf, C. R. 2005. Disruption of the glutathione transferase pi class genes. Methods Enzymol, 401: 116-35.

Hu, X., O'Donnell, R. and Srivastava, S. K. 1997. Active site architecture of polymorphic forms of human glutathione S-transferase P1-1 accounts for their enantioselectivity and disparate activity in the glutathione conjugation of 7beta, 8alpha-dihydroxy-9alpha,10alpha-oxy-7,8,9,10- tetrahydrobenzo(a)pyrene. Biochem Biophys Res Commun, 235: 424-8.

Jahnke, V., Matthias, C. and Fryer, A. 1996. Glutathione S-transferase and cytochrome-P-450 polymorphism as risk factors for squamous cell carcinoma of the larynx. Am J Surg, 172: 671-3.

Jain, M., Kumar, S. and Lal, P. 2007. Role of GSTM3 polymorphism in the risk of developing esophageal cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 16: 178-81.

Ji, X. H., von Rosenvinge, E. C. and Johnson, W. W. 1995. 3-Dimensional structure, catalytic properties and evolution of a sigma-class glutathione transferase from squid, a progenitor of the lens S-crystallins of cephalopods. Biochemistry, 34: 5317-28.

Jourenkova-Mironova, N., Voho, A. and Bouchardy, C. 1999. Glutathione S-transferase GSTM1, GSTM3, GSTP1 and GSTT1 genotypes and the risk of smoking-related oral and pharyngeal cancers. Int J Cancer, 81: 44-8.

Inskip, A., Elexperu-Camiruaga, J. and Buxton, N. 1995. Identification of polymorphism at the glutathione S-transferase, GSTM3 locus: evidence for linkage with GSTM1*A. Biochem J, 312: 713-16.

Khabaz, M. N. 2014. Polymorphism of the glutathione S-transferase P1 gene (GST-pi) in breast carcinoma. Polish Journal of Pathology, 65(2): 141-146.

Karami, S., Boffetta, P. and Rothman, N. 2008. Renal cell carcinoma, occupational pesticide exposure andmodification by glutathione S-transferase polymorphisms. Carcinogenesis, 29: 1567-71.

Katoh, T., Kaneko, S. and Kohshi, K. 1999. Genetic polymorphisms of tobacco- and alcohol-related metabolizing enzymes and oral cavity cancer. Int J Cancer, 83: 606-9.

Kellen, E., Hemelt, M. and Broberg, K. 2007. Pooled analysis and meta-analysis of the Glutathione S-transferase P1 Ile 105Val polymorphism and bladder cancer: a HuGE-GSEC review. Am J Epidemiol, 165: 1221-30.

Kesarwani, P., Singh, R. and Mittal, R. D. 2009. Association of GSTM3 intron 6 variant with cigarette smoking, tobacco chewing and alcohol as modifier factors for prostate cancer risk. Arch Toxicol, 83: 351-6.

Kim, W. J., Kim, H. and Kim, C. H. 2002. GSTT1-null genotype is a protective factor against bladder cancer. Urology, 60: 913-18.

Kiran, M., Chawla, Y. K. and Kaur, J. 2008. Glutathione-S-transferase and microsomal epoxide hydrolase polymorphism and viral-related hepatocellular carcinoma risk in India. DNA Cell Biol, 27: 687-94.

Klautau-Guimaraes, M. N., Hiragi, C. O. and D'Ascencao, R. F. 2005. Distribution of glutathione S-transferase GSTM1 and GSTT1 null phenotypes in Brazilian Amerindians. Gen Mol Biol, 28: 32-5.

Landi, S. 2000. Mammalian class Theta GST and differential susceptibility to carcinogens: a review. Mutat Res, 463: 247-83.

Lan, Q., Chow, W. H. and Lissowska, J. 2001. Glutathione S-transferase genotypes and stomach cancer in a population-based case-control study in Warsaw, Poland. Pharmacogenetics, 11: 655-61.

Lan, V. T. T., Loan, P. T. T., Duong, P. A. T., Thanh, L. T., Ha, N. T. and Thuan, T. B. 2012. Straightforward procedure for laboratory production of DNA ladder. Journal of nucleic acids, 20: 17-22.

Lee, K. M., Kang, D. and Lee, S. J. 2006. Interactive effect of genetic polymorphism of glutathione S-transferase M1 and smoking on squamous cell lung cancer risk in Korea. Oncol Rep, 16: 1035-9.

Leichsenring, A., Losi-Guembarovski, R. and Maciel, M. E. 2006. CYP1A1 and GSTP1 polymorphisms in an oral cancer case-control study. Braz J Med Biol Res, 39: 1569-74.

Lima, M. M., Oliveira, M. N. L. and Granja, F. 2008. Lack of Association of GSTT1, GSTM1, GSTO1, GSTP1 and CYP1A1 polymorphisms for susceptibility and outcome in brazilian prostate cancer patients. Folia Biol, 54: 102-8.

Magno, L. A. V., Talbot, J. and Talbot, T. 2009. Glutathione-Stransferase variants in a Brazilian population. Pharmacology, 83: 231-236.

Malats, N., Camus-Radon, A. M. and Nyberg, F. 2000. Lung cancer risk in nonsmokers and GSTM1 and GSTT1 genetic polymorphism. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 9: 827-33.

Malik, M. A., Upadhyay, R. and Mittal. R. D. 2009. Role of xenobiotic-metabolizing enzyme gene polymorphisms and interactions with environmental factors in susceptibility to gastric cancer in Kashmir valley. J Gastrointest Cancer, 40: 26-32.

Marques, C. F. S., Koifman, S. and Koifman, R. J. 2006. Influence of CYP1A1, CYP2E1, GSTM3 and NAT2 genetic polymorphisms in oral cancer susceptibility: results from a case-control study in Rio de Janeiro. Oral Oncol, 42: 632-7.

Martinez, C., Martin, F. and Fernandez, J. M. 2006. Glutathione S-transferases mu 1, theta 1, pi 1, alpha 1 and mu 3 genetic polymorphisms and the risk of colorectal and gastric cancers in humans. Pharmacogenomics, 7: 711-8.

Medeiros, R., Vasconcelos, A. and Costa, S. 2004. Metabolic susceptibility genes and prostate cancer risk in a southern European population: the role of glutathione S-transferases GSTM1, GSTM3 and GSTT1 genetic polymorphisms. Prostate, 58: 414-20.

Mo, Z., Gao, Y. and Cao, Y. 2009. An updating meta-analysis of the GSTM1, GSTT1 and GSTP1 polymorphisms and prostate cancer: a HuGE review. Prostate, 69: 662-88.

McCarty, K. M., Ryan, L. and Houseman, E. A. 2007. A case-control study of GST polymorphisms and arsenic related skin lesions. Environ Health, 6: 5-10.

Meyer, D. J., Coles, B. and Pemble, S. E. 1991. Theta, a new class of glutathione transferases purified from rat and man. Biochem J, 274: 409-14.

Millikan, R., Pittman, G. and Tse, C. K. 2000. Glutathione S-transferases M1, T1 and P1 and breast cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 9: 567-73.

Minard, C. G., Margaret, R. and Spitz, M. R. 2006. Evaluation of Glutathione S-transferase polymorphisms and mutagen sensitivity as risk factors for the development of second primary tumors in patients previously diagnosed with early-stage head and neck cancer. Cancer, 106: 2636-44.

Mitrunen, K., Jourenkova, N. and Kataja, V. 2001. Glutathione S-transferase M1, M3, P1 and T1 genetic polymorphisms and susceptibility to breast cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 10: 229-36.

Mittal, R. D., Srivastava, D. S. and Srivastava, A. M. 2005. Genetic polymorphism of drug metabolizing enzymes (CYP2E1, GSTP1) and susceptibility to bladder cancer in North India. Asian Pac J Cancer Prev, 6: 6-9.

Morel, F., Rauch, C. and Coles, B. 2002. The human glutathione transferase alpha locus: genomic organization of the gene cluster and functional characterization of the genetic polymorphism in the hGSTA1 promoter. Pharmacogenetics, 12: 277-86.

Morel, F., Rauch, C. and Petit, E. 2004. Gene and protein characterization of the human glutathione S-Transferase kappa and evidence for a peroxisomal localization. J. Biol Chem, 279: 16246-53.

Mukherjee, B., Salavaggione, O. E. and Pelleymounter, L. L. 2006. Glutathione S-transferase omega 1 and omega 2 pharmacogenomics. Drug Metab Dispos, 34: 1237-46.

Murai, M. and Oya, M. 2004. Renal cell carcinoma: etiology, incidence and epidemiology. Curr Opin Urol, 14: 229-33.

Nazar-Stewart, V., Vaughan, T. L. and Burt, R. D. 1999. Glutathione S-transferase and susceptibility to nasopharyngeal carcinoma. Cancer Epidemiol Biomark Prev, 8: 547-51.

Ning, B., Wang, C. and Morel, F. 2004. Human glutathione S-transferase A2 polymorphisms: variant expression, distribution in prostate cancer cases/ controls and a novel form. Pharmacogenetics, 14: 35-44.

Ntais, C., Polycarpou, A. and Ioannidis, J. P. A. 2005. Association of GSTM1, GSTT1 and GSTP1 gene polymorphisms with the risk of prostate cancer: a meta-analysis. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 14: 176-81.

Olsen, A., Autrup, H. and Sorensen, M. 2008. Polymorphisms of glutathione S-transferase A1 and O1 and breast cancer among postmenopausal Danish women. Eur J Cancer Prev, 17: 225-9.

Park, J. L., Muscat, J. E. and Kaur, T. 2000. Comparison of GSTM polymorphisms and risk for oral cancer between African-Americans and Caucasians. Pharmacogenetics, 10: 123-31.

Pemble, S. E. and Taylor, J. B. 1992. An evolutionary perspective on glutathione transferases inferred from class-theta glutathione transferase cDNA sequences. Biochem J, 287: 957-63.

Perera, F. P., Mooney, L. A. and Stampfer, M. 2002. Associations between carcinogen–DNA damage, glutathione S-transferase genotypes and risk of lung cancer in the prospective physicians' Health Cohort Study. Carcinog, 23: 1641-46.

Raimondi, F., Paracchini, R. V. and Autrup, H. 2006. Meta- and pooled analysis of GSTT1 and lung cancer: a HuGE-GSEC review. Am J Epidemiol, 164: 1027-42.

Rebbeck, T. R. 1997. Molecular epidemiology of the human glutathione S-transferase genotypes GSTM1 and GSTT1 in cancer susceptibility. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 6: 733-43.

Rocha, J. C., Cheng, C. and Liu, W. 2005. Pharmacogenetics of outcome in children with acute lymphoblastic leukemia. Blood, 105: 4752-8.

Ruiz, M. T., Pavarino-Bertelli, E. and Maniglia, J. V. 2006. Epidemiologia e biomarcadores em cancer de cabeca e pescoco. Head and neck cancer epidemiology and biomarkers. Arq Cienc Saude, 13: 34-8.

Sato, M., Sato, T. and Izumo, T. 1999. Genetic polymorphism of drug-metabolizing enzymes and susceptibility to oral cancer. Carcinogenesis, 20: 1927-31.

Sheehan, D., Meade, G., Foley, V. M. and Dowd, C. A. 2001. Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily. Biochem J., 360: 1-16.

Shibuya, K., Mathers, C. D. and Boschi-Pinto, C. 2002. Global and regional estimates of cancer mortality and incidence by site: II. Results for the global burden of disease 2000. BMC Cancer, 2: 37-41.

Simic, T., Savic-Radojevic, A. and Pljesa-Ercegovac, M. 2009. Glutathione S-transferases in kidney and urinary bladder tumors. Nat Rev Urol, 6: 281-9.

Sprenger, R., Schlagenhaufer, R. and Kerb, R. 2000. Characterization of the glutathione S-transferase GSTT1 deletion: discrimination of all genotypes by polymerase chain reaction indicates a trimodular genotype-phenotype correlation. Pharmacogenetics, 10: 557-65.

Strange, R. C., Jones, P. W., Fryer, A. A. 2000. Glutathione S-transferase: genetics and role in toxicology. Toxicol Lett, 112-113: 357-363.

Strange, R. C., Spiteri, M. A., Ramachandran, S. and Fryer, A. A. 2001. Glutathione-S-transferase family of enzymes. Mutat Res, 482: 21-6.

Sweeney, C., Nazar-Stewar, V. and Stapleton, P. L. 2003. Glutathione S-transferase M1, T1 and P1 polymorphisms and survival among lung cancer patients. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 12: 527-33.

Tamer, L., Ateş, N. A. and Ateş, C. 2005. Glutathione S-transferase M1, T1 and P1 genetic polymorphisms, cigarette smoking and gastric cancer risk. Cell Biochem Funct, 23: 267-72.

Tanaka-Kagawa, T., Jinno, H. and Hasegawa, T. 2003. Functional characterization of two variant human GSTO1-1s (Ala140Asp and Thr217Asn). Biochem Biophys Res Commun, 301: 516-20.

Vogl, F. D., Taioli, E. and Maugard, C. 2004. Glutathione S-transferases M1, T1 and P1 and breast cancer: a pooled analysis. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 13: 1473-9.

Yim, J. J., Yoo, C. G. and Lee, C. T. 2002. Lack of association between glutathione S-transferase P1 polymorphism and COPD in Koreans. Lung, 180(2): 119-25.

Yin, J., Grubbs, B., Cui, Y., Weu-Wong, J., Wessale, J., Padley, R. and Guise, T. 2000. Endothelin A receptor blockade inhibits osteoblastic metastases. J Bone Miner Res, 15: 201-7.

Whitbread, A. K., Tetlow, N. and Eyre, H. J. 2003. Characterization of the human Omega class glutathione transferase genes and associated polymorphisms. Pharmacogenetics, 13: 131-44.

White, D. L., Li, D. and Nurgalieva, Z. 2008. Genetic variants of Glutathione S-transferase as possible risk factors for hepatocellular carcinoma: a HuGE systematic review and meta-analysis. Am J Epidemiol, 167: 377-89.

Widersten, M., Pearson, W. R. and Engstrom, A. 1991. Heterologous expression of the allelic variant μ-class glutathione transferases μ and q. Biochem J, 276: 519-24.

Xu, S. J. and Wang, Y. P. 1998. Characterization of the human class mu glutathione S-transferase gene cluster and the GSTM1 deletion. J Biol Chem, 273: 3517-27.

Zhong, S., Wyllie, A. H., Barnes, D., Wolf, C. R. and Spurr, N. K. 1993. Relationship between the GSTM1 genetic polymorphism and susceptibility to bladder, breast and colon cancer. Carcinogenesis, 14: 1821–1824.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Manar Hasan Mahdi ALCHAABAWI

Eğitim

Yüksek Lisans	Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı	2019-Halen
Lisans	Al-Qadisiyah Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	2002-2006