



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

KRONİK MYELOİD LÖSEMİLİ HASTALARDA GSTP1 (ILE105VAL) GEN
POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Mutlu KARKUCAK

UZMANLIK TEZİ

BURSA — 2010



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

KRONİK MYELOİD LÖSEMİLİ HASTALARDA GSTP1 (ILE105VAL) GEN
POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Mutlu KARKUCAK

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Doç. Dr. Tahsin YAKUT

BURSA — 2010

İÇİNDEKİLER

Özet	ii
İngilizce Özet.....	iii
Giriş.....	1
Gen Polimorfizmi ve Kanser.....	1
Kronik Myeloid Lösemi.....	2
Glutasyon S-transferazlar.....	12
Gereç ve Yöntem.....	18
Materyal	18
Gereç.....	18
Kullanılan Başlıca Cihazlar ve Teknik Malzemeler ...	19
Yöntem.....	19
İstatistiksel Analiz.....	24
Bulgular.....	25
Tartışma ve Sonuç.....	33
Kaynaklar.....	40
Teşekkür.....	48
Özgeçmiş.....	49

ÖZET

Bazı kanser türlerinde yatkınlık ile Faz II detoksifikasyon reaksiyonlarında yer alan Glutasyon-S-Transferaz(GST) enzimi genlerinin polimorfizmleri arasında ilişki gösterilmiştir. Bu çalışmada, kronik myeloid lösemi (KML) gelişiminin ile GSTP1 (Ile105Val) gen polimorfizmi arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık.

Çalışmamıza KML tanısı almış 71 hasta ve herhangi bir kanser hikayesi olmayan 67 kişi alındı. GSTP1 (Ile105Val) gen polimorfizmi için polimeraz zincir reaksiyonu-restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi (polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism=PCR-RFLP) yöntemi uygulandı. Agaroz jeldeki bantlara göre genotipler belirlendi. İstatistiksel analizde $p<0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

GSTP1 Val allelinin sıklığı, KML hastalarında %22 oranında kontrol olgularında ise %31 oranında bulundu. Hasta ve kontrol grubu arasında GSTP1 polimorfizmi için istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$).

Bulgularımız GSTP1 (Ile105Val) gen polimorfizmi ile KML arasında bir ilişki olmadığını göstermiştir. Bununla birlikte daha geniş olgu serilerinde bu sonuçlar desteklenmelidir.

Anahtar kelimeler: Kronik Myeloid Lösemi, GSTP1 geni, polimorfizm.

SUMMARY

Investigation of GSTP1 (Ile105Val) Gene Polymorphism in Chronic Myeloid Leukaemia Patients

Associations between polymorphisms for genes encoding Glutathione S-transferases (GST) enzymes involved in Phase II detoxification reactions and susceptibility to some cancers have been shown in several studies. The aim of the present study is to investigate the influence of Glutathione S-transferases P1 (Ile105Val) gene polymorphism in susceptibility to chronic myeloid leukaemia (CML).

71 CML patients and 67 control subjects with no cancer history were enrolled in our study. PCR-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) method was used for GSTP1 (Ile105Val) gene polymorphism. Genotypes were determined according to the bands that formed in agarose electrophoresis gels. In statistical analysis, the level of significance was set at $p < 0.05$.

The frequency of GSTP1 Val allele was found to be 22% in CML patients and 31% for controls. No statistical variation was determined between the control and patient groups in terms of GSTP1 polymorphism ($p > 0.05$).

Our results showed that there was not any association between GSTP1 (Ile105Val) gene polymorphism and chronic myeloid leukaemia. However, these findings should be confirmed in studies with larger population.

Key words: Chronic Myeloid Leukaemia, GSTP1 gene, polymorphism.

GİRİŞ

I. Gen Polimorfizmi ve Kanser

Tüm türlerin farklılaşmasından ve bir türün üyeleri arasındaki farklılıklardan genetik çeşitlilik sorumludur. Genomdaki genetik çeşitliliğe katkısı olan gen polimorfizmleri, çoğunluk olarak insanda on milyon kadar olan tek nükleotid düzeyinde olmak üzere, ikili, üçlü nükleotid tekrar sayılarında değişiklikler olup daha az olarak ise kromozom düzeyinde yapısal düzenlemeler şeklinde mevcuttur (1).

Tek nükleotid gen polimorfizmleri ("single nucleotide polymorphisms"), genomik DNA'nın bir popülasyonun normal bireyleri arasında farklılık gösterdiği tek baz-çifti değişiklikleridir. SNP, insan genomundaki en basit ve en yaygın genetik polimorfizm çeşidi olup, etnik ve coğrafi farklılıklar gösterirler. Hücre metabolizması için önemli olan DNA tamiri, hücre döngüsü kontrolü ve sinyal iletimi gibi yollarda rol alırlar. Genlerin kritik pozisyonlarında yer alarak hücre farklılaşmasında etkili olurlar. Bazı durumlarda ise gendeki bu polimorfizmler, kodladığı proteinin fonksiyonunu ya da enzim aktivitesini etkileyebilirler. Böylece hücre metabolizması için kritik öneme sahip proteinlerin fonksiyonunun değişmesi ile çeşitli hastalıklara yol açabilir (2, 3).

Bazı polimorfik alleller bir hastalık riskini artırırken bazıları azaltabilmekte (koruyucu allel), bazıları ise yalnızca çevresel bir faktörün etkisi altındayken riski etkileyebilmektedir. Örneğin, kalıtsal kanserlerde bazı genetik faktörler riski artırırken, kalıtsal olmayan sporadik kanserlerde çevresel faktörler daha belirleyici olabilmektedir. Çünkü çevredeki bir risk faktörü bir ya da daha fazla genin ifade edilmesini etkileyerek, ya da bir polimorfik gen ürünü bir çevresel faktörün etkisini değiştirerek kansere neden olabilmektedir (1).

Polimorfik yapıda olan ve çok sayıda maddeyi metabolize edebilme kabiliyetlerinden dolayı en fazla ilgi çeken Sitokrom P450, N-asetiltransferaz ve glutatyon-s- transferaz olmak üzere üç gen ailesi bilinmektedir (4).

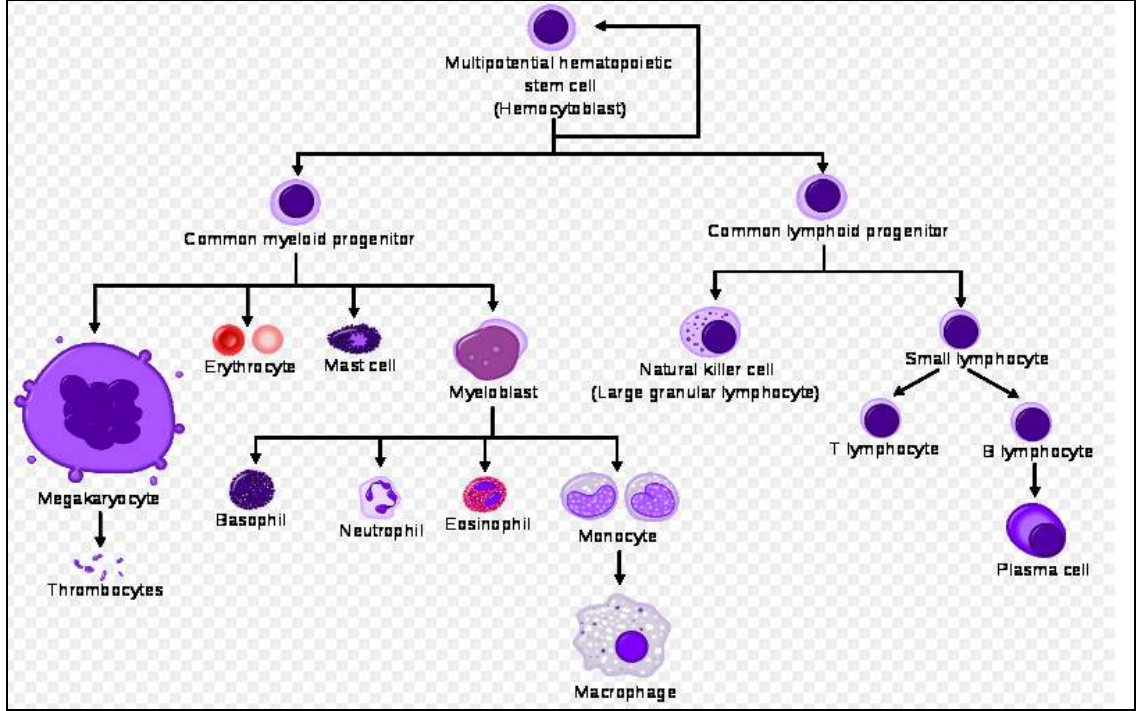
Kimyasal karsinojenlerin aktivasyonu ya da detoksifikasyonunda yer alan enzimler biyotransformasyon enzimleri kodlayan genlerdeki polimorfizmlerin sebep olduğu moleküler genetik mekanizmalar farklı şekillerde olabilir: Bunlar;

- Enzimin yapımından sorumlu genlerin yokluğu,
- Genin düzenleyici kısımlarında olan mutasyonlardan dolayı genin ekspresyonunun olmaması,
- Intron sınırlarındaki mutasyonlardan dolayı pre-mRNA'nın uçlarının yanlış olarak eklenmesi,
- Mutasyon sebebiyle oluşan yeni aminoasitlerin sonucunda enzimin aktivitesinin artması ya da azalmasıdır(5, 6).

II. Kronik Myeloid Lösemi

II.A. Tanım

Lösemi, kontrolsüz hücre proliferasyonu, düşmüş apoptoz ve farklılaşmanın yetersiz oluşu ile karakterize malign bir hematolojik hastalıktır. Lösemiler; akut, kronik ve myeloid, lenfoid şeklinde tiplere ayrılmaktadır. Kronik Myeloid Lösemi (KML), ise multipotent kök hücrelerin neoplastik dönüşümünden ortaya çıkan klonal myeloproliferatif bir hastalıktır. Farklılaşmanın her basamağındaki miyeloid elemanların aşırı çoğalması ve apoptozun azalması ile karakterize klonal bir hematopoietik kök hücre malignitesidir. Kemik iliğinde aşırı miyeloid hiperplazi ve periferik kanda olgun miyeloid hücreler bulunur. Genellikle yüksek lökosit sayısı ve splenomegali ile karakterizedir (7, 8). (Şekil -1).



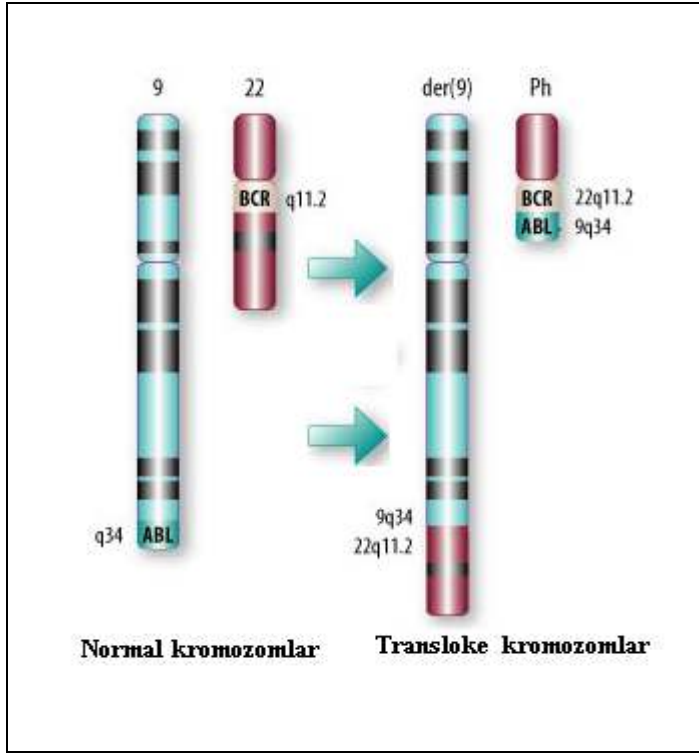
Şekil-1: Hematopoetik hücrelerin farklılaşması (9).

KML, kronik myeloproliferatif hastalıklar (KMPH) grubu içinde sınıflandırılır. KMPH'lar hakim olan hücre tipine göre adlandırılmaktadır (Tablo-1) (10).

Tablo-1: Kronik Miyeloproliferatif Hastalıkların Sınıflandırılması (Dünya Sağlık Örgütü 2008 sınıflaması).

- 1) Kronik Miyeloid Lösemi
- 2) Polisitemia vera
- 3) Esansiyel trombositemi
- 4) İdyopatik miyelofibrozis
- 5) Kronik nötrofilik lösemi
- 6) Kronik eozinofilik lösemi
- 7) Hipereozinofilik sendrom
- 8) Mast hücre hastalığı
- 9) Kronik Miyeloproliferatif Hastalık (Sınıflandırılmayan kısmı)

KML, genetik anomali ile hastalık arasındaki ilişkinin kesin olarak belirlendiği ilk hematolojik malignitedir. Nowell ve Hungerford, 1960 yılında, KML hastalarında bir kromozom düzensizliği tanımlamış olup buna keşfedildiği şehrin onuruna Philedelphia kromozomu (Ph) adı verilmiştir. 1973 yılında kromozom bandlama yöntemi ile Ph kromozomunun 9 ve 22. kromozom arasında resiprokal translokasyonu (t(9;22)(q34:11)) olduğu saptanmıştır. 1984 yılında ise 9. kromozom da bulunan ABL (Abelson) protoonkogeni ile 22.kromozomdaki BCR (Break Cluster Region) gen bölgesinin translokasyonu gösterilmiştir (11, 12) (Şekil-2).



Şekil-2: Ph kromozomunun idiogramı (13).

II.B. Epidemiyoloji

KML, yetişkin lösemilerin yaklaşık %20'sini oluşturur. Yıllık insidansı ise yaklaşık 1-2/100.000 kadardır. Daha çok erkeklerde gözlenmekte olup erkek/kadın oranı 1,5/1'dir. Genellikle 40 ve 60 yaşlar arasında sık gözlenmekte olup (median yaş; 53) (14-17). KML, çocukluk çağında da tespit

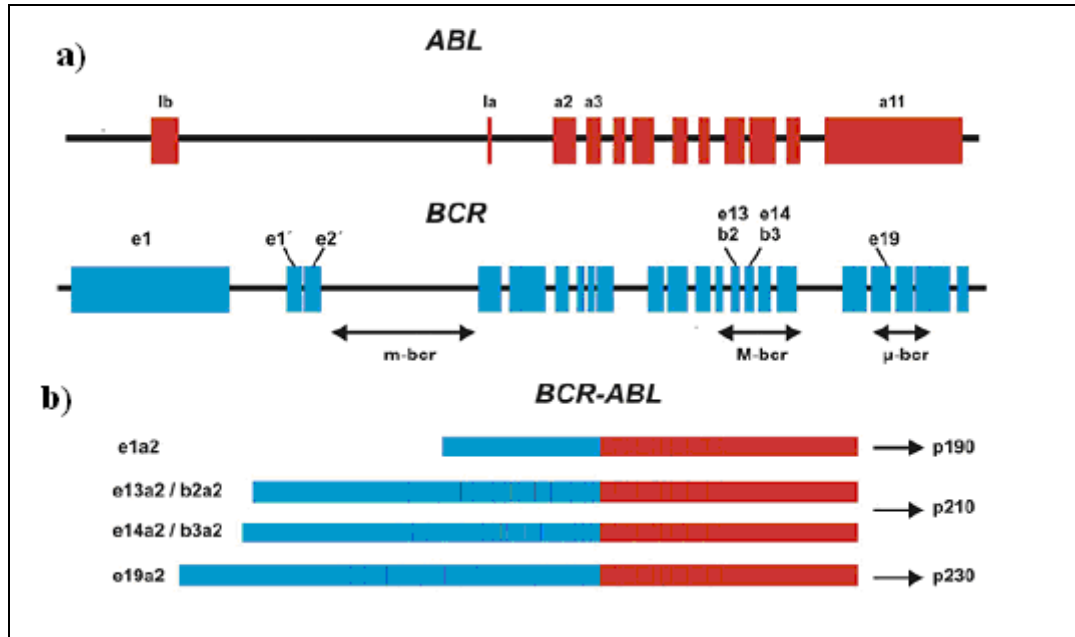
edilebilmekle birlikte yetişkine göre daha seyrek olup yıllık insidansı 1/1.000.000 oranında görülmektedir (18).

II.C. Etiyoloji

KML'ye yol açan faktörler tam olarak bilinmemektedir. Ancak iyonizan radyasyon ve benzeri gibi faktörlerinden etkili olabileceği bazı kaynaklarda belirtilmektedir (15, 19-21).

II.D. Patogenez ve Biyoloji

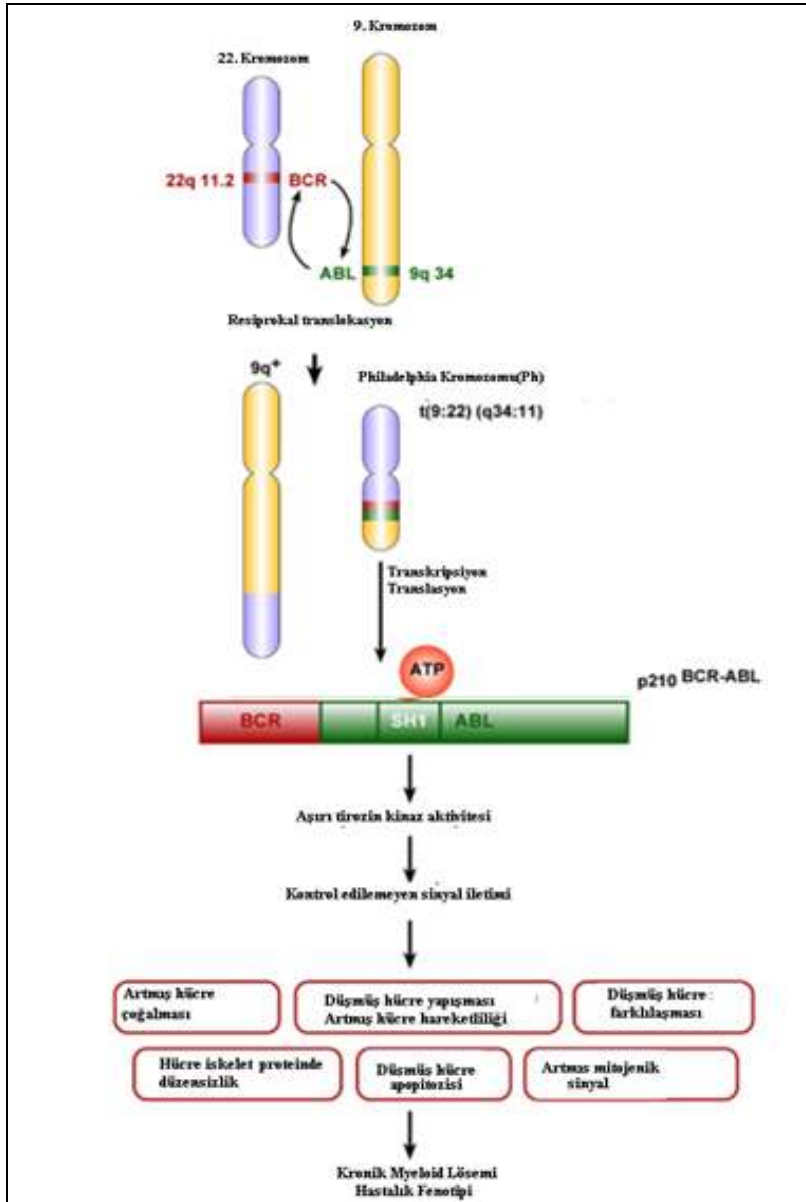
KML, genel olarak 9. ve 22. kromozomların resiprokal translokasyonu ile karakterizedir. Farklı uzunlukta olan füzyon mRNA molekülü, yeni bir protein ürününü kodlar. Bu yeni oluşan protein ürünü genlerde kırılma yerine göre farklı ağırlıklarda (p190, p210, p230) olup genellikle 210 dalton (p210 deneni) ağırlığındaki protein ürünü gözlenmektedir (16) (Şekil -3).



Şekil-3: BCR-ABL füzyon genotiplerinin gösterimi. a) ABL ve BCR geninin yapısı. b) Füzyon genleri sonucunda oluşan mRNA çeşitleri ve oluşan proteinlerin moleküler ağırlıkları (25).

ABL geninin SH1 bölgesi, non-reseptör tirozin kinazı kodlamaktadır. Tirozin kinazlar, fosfat grubunu ATP'den substrat proteine transfer ederek büyüme ve farklılaşmada rol oynarlar. Tirozin kinazların kontrolü, çok önemli

olup kinaz aktivitesinin bozulması maligniteye dönüşüme yol açabilir (23). ABL geninin büyümeden sorumlu kısmından biri olan SH1 bölgesi resiprokal translokasyon sonucu özelliğini kaybeder ve BCR geni dizileri de eklenerek SH1 bölgesinin tirozin kinaz aktivitesini sürekli hale getirir. Bu aktivite, ABL enziminin normal fizyolojisini bozarak birtakım proteinlerle etkileşime geçer. Böylece BCR-ABL füzyonunun SH1 bölgesi onkojenik dönüşümde çok kritik bir rol oynar (24).



Şekil-4: KML'de ekspresyon sonucu oluşan moleküler olaylar (22).

BCR-ABL çeşitli substratlara (p190, p210, p230) sahip olup bunlar KML fenotipinde anahtar sinyal yollarını etkiler (Şekil-4). Sonuç olarak, hücre çoğalmasında ve büyüme faktörü gelişimini bozar ve mutajenik uyarıya karşı apoptozda düşme görülür (25).

II.E. Klinik Bulgular

Klinik prognoz 3 faza ayrılmaktadır. Kronik faz daha hafiftir. Hızlı (akselere) ve blastik fazlar ise daha agresif seyreder. KML hastaları yaklaşık %80 oranında kronik fazda başvururlar (Tablo-2). Ancak günümüzde rutin kan tetkikleri veya fizik muayene esnasında splenomegali ile tesadüfen hastaların yaklaşık %20'sinde semptomsuz dönemde tanı konabilmektedir. Tanı esnasında hastaların yaklaşık %10'u akselere faz ve diğer %10'u da blastik krizdedir.

Tablo-2: KML'de kronik faz semptom ve bulguların sıklığı (27).

Semptomlar	%
Yorgunluk	83
Kilo kaybı	61
Karında şişkinlik hissi ve iştahsızlık	38
Kolay morarma veya kanama	35
Ateş	11
Bulgular	%
Splenomegali	95
Sternumda hassasiyet	78
Lenfadenopati	64
Hepatomegali	48
Purpura	27
Retinal Kanama	21

Hastalığın erken döneminde mutlak bazofil sayısında artış olur. Anemi erken bir bulgu değildir, ancak trombositoz sıklıkla gözlenir. Lökosit alkalen fosfataz düzeyi (LAP) düşüktür (normal değeri 20 ile 100). Ancak KML'ye eşlik eden enfeksiyon, KML tedavisi veya akselere ve/veya blastik faza

geçişle birlikte LAP skoru artar. Hastalarda semptomların ortaya çıkışı lökosit sayısı $30 \times 10^3/\text{mm}^3$ daha yüksek gözlenir. Dalak, lökosit sayısı $40 \times 10^3/\text{mm}^3$ üstünde olması halinde palpe edilebilir. Hassasiyet, dalak infarktı gelişmedikçe gözlenmez. Hepatomegali daha az sıklıkta görülür (26, 27).

II.F. Tanı

II.F.a. Kan Değerleri ve Periferik-Kemik İliği Yayması

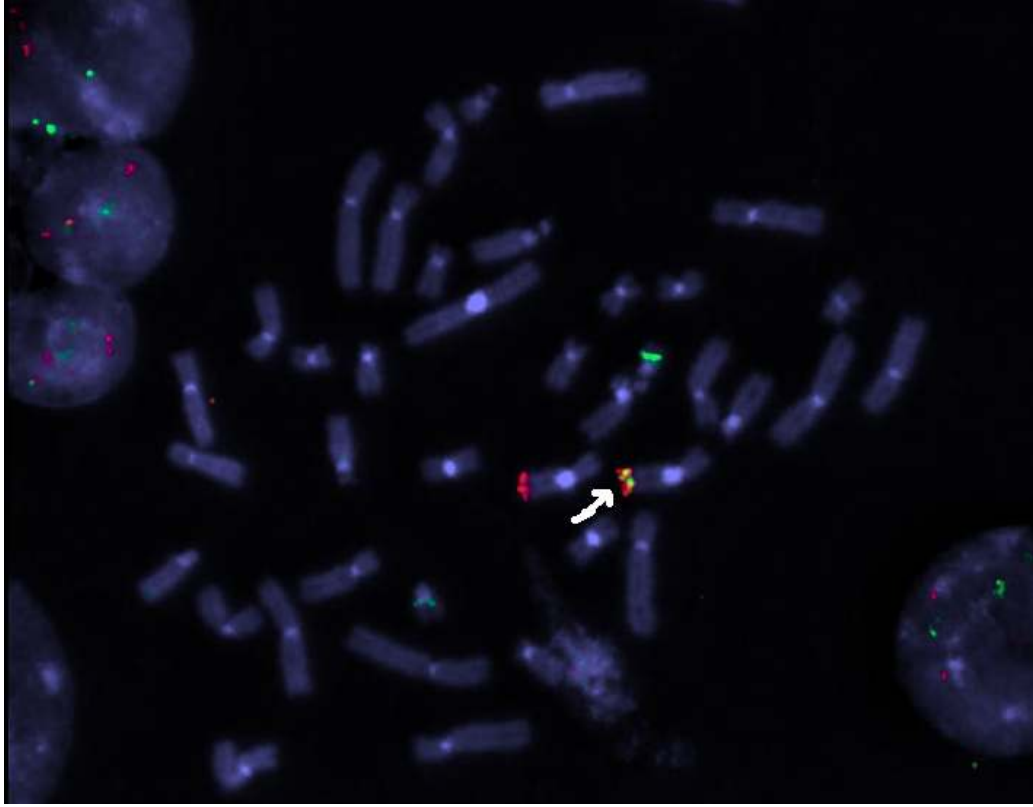
Tanı klinik bulgu ve semptomların yanında kan değerleri ve periferik kan yayması veya kemik iliği incelemesi de önemlidir (Tablo-3).

Tablo-3: KML'de periferik ve kemik iliği bulguları (28).

Periferik kan
Lökosit $> 25.000/\text{mm}^3$
Trombosit sayısında %30- 50 artış
Bazofili
Lökosit alkalın fosfataz aktivitesinde azalma
Periferik yaymada granülosit farklılaşmasının bütün evrelerinin görülmesi
Kemik iliği
Hücre artışı (yağ oranında düşmeyle)
Myeloid oranında artma
Megakaryosit sayısında artma

II.F.b. Genetik İnceleme Bulguları

KML'nin en yaygın ve patognomonik bulgusu olan Philadelphia (Ph) kromozomu varlığı tespit etmekte genellikle ilk olarak konvansiyonel sitogenetik kullanılır. Konvansiyonel sitogenetik incelemesinde kromozomlar genel olarak değerlendirilerek herhangi bir değişikliğin olup olmadığı incelenir. Sıklıkla klasik olarak GTG bantlama kullanılıp 20 metafaz alan değerlendirilir. Konvansiyonel sitogenetik yöntemde Ph negatif çıkmış yada düşük mitotik indeksli hastalarda hücreleri kültüre etmeden uygulanabildiği için Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) yöntemi, BCR-ABL füzyon geninin taranması ve ABL genindeki olası delesyonların tespiti açısından önem arzeder (22, 29-32) (Şekil-5).



Şekil-5: BCR-ABL füzyon geni(okla işaretli olan) pozitif olan KML hastasının Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) yöntemi ile gösterimi (33).

Philadelphia (Ph) kromozomu, 9 nolu kromozom ve 22 nolu kromozomların resiprokal translokasyon [t(9;22) (q34;q11)] sonucu oluşur. KML özelliği gösteren hastaların % 90-95'nin oranında kemik iliğinde t(9;22)(q34; q11) translokasyonu saptanır. Ph kromozomları, KML dışında pediatrik akut lenfoblastik lösemili (ALL) hastaların %2-5'inde, yetişkin ALL hastaların %20'sinde, akut myeloid lösemili hastaların ise %2'sinde gözlenmektedir (34,35).

KML olgularında sitogenetik analizlerde t(9;22)(q34;q11) translokasyonu dışında ABL ve BCR geninin diğer kromozomlara translokasyonu sonucu varyant Ph kromozomu da oluşabilir. KML hastalarının %10-15'inde transloke olan 9 nolu kromozomda delesyon oluşabilir. Moleküler sitogenetik analizde bir sinyal eksik gözükülebilir (36-41). Bunların dışında yaygın kromozomal düzensizlikler; trizomi 8, ekstra Ph, (+Ph), izokromozom 17q, trizomi 19, trizomi 20, Y kromozom kaybı, trizomi 17, monozomi 7 ve trizomi 21'dir (42).

Moleküler analizde translokasyon sonucu olarak oluşan BCR/ABL füzyon transkriptini gösterilmesinde ve transkript tipinin (p190, p210, p230) belirlenmesinde önemlidir. Genellikle real time kantitatif-PCR veya kalitatif-PCR kullanılmaktadır. Moleküler çalışma, sitogenetik incelemede Ph negatif olgularda kantitasyon ile BCR/ABL füzyon transkriptini belirler. Ayrıca duyarlılığının yüksek olması nedeniyle tedaviye yanıt açısından minimal rezidüel hastalık takibinde kullanılır (43-46).

II.F.c. Klinik Fazların Bilinmesinin Önemi

Klinik fazların bilinmesi tedavinin seçiminde önemli role sahiptir. Tedavi edilmeyenlerde hastalık ilerleyişi tabloda özetlenmiştir (Şekil-6).

	İLERİ FAZLAR		
	KRONİK FAZ	HIZLI(AKSELERE) FAZ	BLASTİK FAZ
Ortalama Hastalık Süresi	3-5 yıl	6-9 ay	3-6 ay
Blastik Hücre Yüzdesi	% 1-15	% > 15	% > 30
Hemoglobin	Normal/ Hafif düşük	Düşük	Çok Düşük
Trombosit	Normal/yüksek/düşük	Yüksek/düşük	Düşük
Kemik İliği	Myeloid Hiperplazi	----->	
Sitogenetik	Ph +	Ph + İkincil Genetik Değişikler Trizomi 8, isokromozom 17q, ek Ph	Ph +
Semptomlar	Yorgunluk, kanama purpura, kilo kaybı	splenomegali, hepatomegali, açıklanamayan ateş kemik ağrısı	Şiddetli anemi, kanama, infeksiyon riskinde artma, lenfadenopati

Şekil-6: Tedavi edilmeyen KML hastalarında klinik seyir (22).

II.G. Ayırıcı Tanı

1- Lökomoid reaksiyon: Lösemi olmadığı halde lösemiye taklit eden tablodur, genellikle infeksiyonlardan sonra görülür. Ph kromozomu negatiftir.

2- Kronik miyelomonositer lösemi: Monositoz vardır ve kemik iliğinde displazik değişiklikler görülür, Ph kromozomu negatiftir.

3- Akut Lösemiler: KML-blastik kriz, akut lösemiler ile karışabilir ve ayırıcı tanısı oldukça zordur (27).

II.H. Tedavi

KML'nin tedavisinde öncelikle lökosit sayısı azaltılmalı ve daha sonra da küratif tedaviye geçilmelidir. Tedaviye yanıt kriterleri; klinik, hematolojik ve sitogenetik düzeyde değerlendirilir. Klinik tam yanıt, KML'nin neden olduğu semptom ve bulguların kaybolmasıdır. Hematolojik tam yanıt (HTY) ise dolaşımda lökosit sayısının $10 \times 10^3/\text{mm}^3$ fazla olmaması, trombosit sayısı $450 \times 10^3/\text{mm}^3$ üstünde olmaması, miyeloid öncü hücre olmaması ve dalağın palpe edilmemesidir. Sitogenetik yanıt ise konvansiyonel sitogenetik inceleme ile Ph kromozomu %0 ise tam (TSY), %1-35 kısmi (KSY) ve %36-65 ise minor sitogenetik yanıt (mSY) olarak değerlendirilir. Tam ile kısmi yanıtın birlikte olması major sitogenetik yanıt (MSY) olarak adlandırılır (27, 47, 48).

II.H.a. Konvansiyonel kemoterapi:

Hematolojik yanıt ve hastalığın semptomlarının azaltılmasında rol oynar.

1- Hidroksiüre: Ribonükleotid redüktaz inhibitörüdür. Birkaç gün içinde lökosit sayısını hızlıca düşürür. İlaç kesilince etkisi hemen sonlanır. Ciddi yan etkisi yoktur. Ph kromozomunu negatifleştirmez.

2- Busulfan: Hidroksiüre'ye göre yan etkileri fazladır. En büyük dezavantajı etkisi geç başlar ve geç sonlanır.

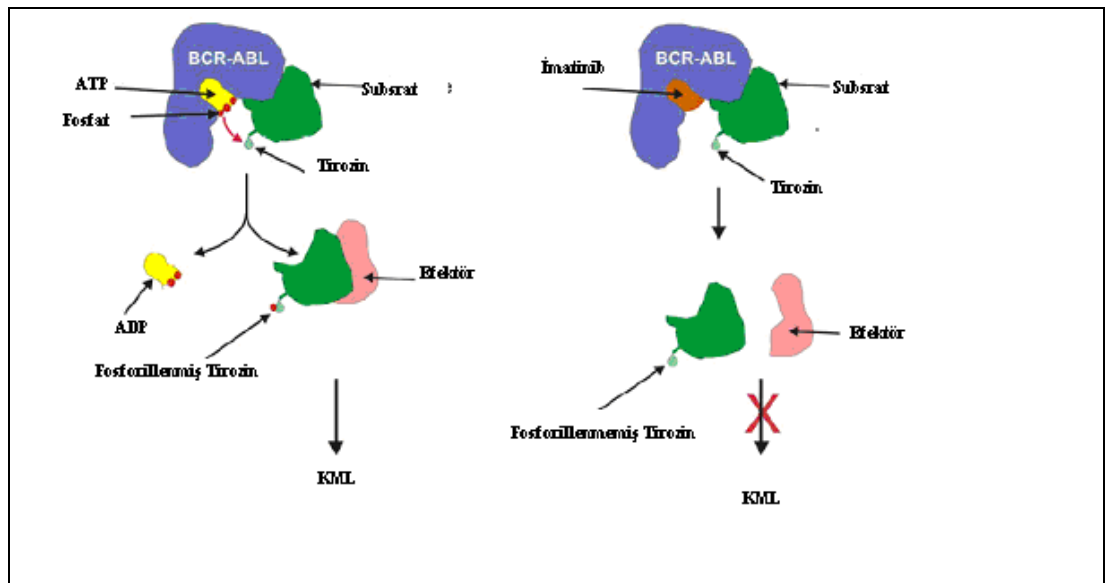
II.H.b. Küratif Tedavi

1- İnterferon-alfa (IFN- α): IFN'nin KML'deki etki mekanizması tam bilinmemektedir. Antiproliferatif, immun modulator, antianjiyogenetik ve stromal hücreler ile adezyon molekülleri arasındaki ilişkiyi düzenler. INF- α özellikle erken kronik faz KML'de % 70 tam hematolojik yanıt sağlar(27, 49, 50).

2- Imatinib (Glivec): Günümüzde tedavide altın standart olarak kullanılır. ABL-özgü tirozin kinazı inhibe eden ve STI-571 (Signal transduction

inhibitor) olarak da bilinen bir 2-phenyl-aminopyrimidine türevidir. Ayrıca trombosit kaynaklı büyüme faktörü reseptörü (PDGF-R) ve c-Kit'i (Kök hücre faktörü) de inhibe eder (51-54) (Şekil-7).

3- Allojeneik Hematopietik Kök Hücre Nakli (AHKHN): KML'de hala küratif yaklaşım olarak güncelliğini korumaktadır. Özellikle erken kronik faz ve iyi risk grubundaki hastalarda uzun dönem hastalısız ve toplam sağ kalım görülmektedir (27, 55, 56).



Şekil-7: İmatinib'in sinyal iletiminde inhibisyonunun gösterimi (33).

III. Glutasyon-S-Transferazlar

Glutasyon (y glutamil sisteinil glisin) glutamik asit, sistein ve glisinden oluşan bir tripeptiddir. Glutasyon ile ksenobiyotiklerin reaksiyonunu katalizleyen enzimlere "glutasyon S-transferazlar" kısaca "GST" denir (6, 57, 58).

Glutasyon S-transferazlar (GST), endojen ve ekzojen kaynaklı, elektrofilik ve hidrofobik bileşiklerin GSH ile konjugasyonunu sağlarlar. Genellikle daha kolay atılabilen ve daha az toksik metabolitlere dönüşümünü katalizleyen faz-II detoksifikasyon enzim ailesidir. GST'ler, GSH'nin endojen lipid peroksidasyon ürünlerine konjugasyonunda, selenyumdan bağımsız

glutasyon peroksidaz aktivitesi aracılığı ile hidroperoksitlerin inaktivasyonunda önemli rol oynamaktadır. Böylece GST'ler oksidatif strese karşı hücrel korumada önemli bir rol oynar (Şekil-8 ve Şekil-9) (59-63).



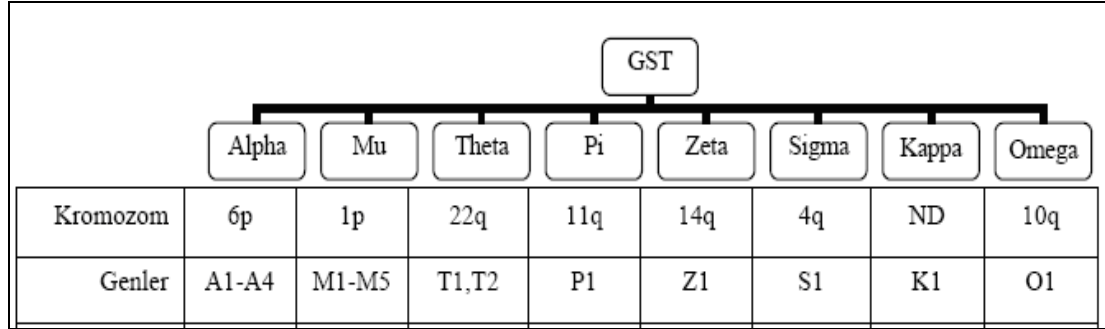
Şekil-8: Ksenobiyotiklerin glutasyon ile konjugasyonunda rol oynayan glutasyon S transferaz katalizli reaksiyon (61)



Şekil-9: Karsinojenik Etkinin Basamakları (64).

Memelilerdeki sitozolik GST enzimlerin 5 tipi bildirilmiştir. Bunlar alpha (A), mu (M), pi (P), theta (T) ve zeta (Z)'dir. Bu gruplarında subtipleri bulunmaktadır (A1-A4, M1-M5, P1, T1-T2 ve Z1). Bunların dışında

membrana bağılı lökotrien C4 sentaz ve mikrozomal GST olarak adlandırılan iki GST daha bulunmaktadır. İnsanda GST ailesine ait enzimleri kodlayan pek çok gen polimorfiktir (66, 67).

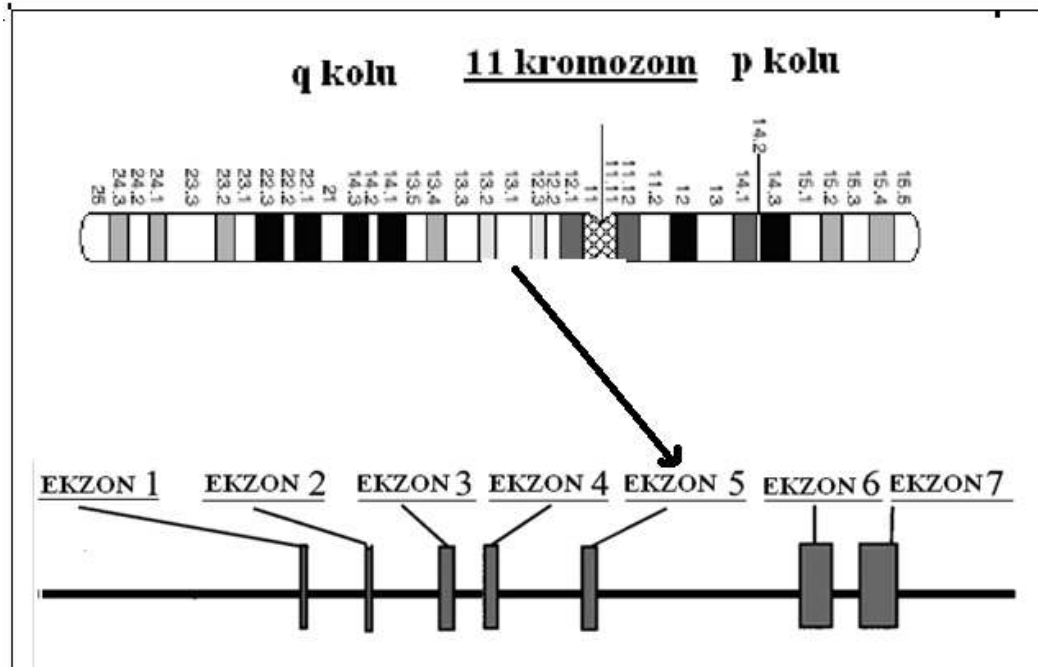


Şekil-10: GST Gen Ailesi (64).

GST μ sınıf enzime ait beş sınıf gen (M1-M5) tespit edilmiştir. Bunlardan GST'lar her bir alt birim için katalitik bölgeye sahip globüler dimerik proteinler olup 2 3.000-29.000 dalton moleküler ağırlığındadır ve her bir alt birim 200-240 aminoasitten oluşur. GSTM1 benzopiren ve aflotoksin gibi kanserojen polisiklik aromatik hidrokarbonların (PAH) detoksifikasyonundan sorumludur (62, 67-70). GSTM1 geni 1p13.3 kromozomu üzerinde tanımlanmıştır. Bu genle ilgili olarak GSTM1-a, GSTM1-b ve GSTM1-0 şeklinde üç farklı allel gösterilmiştir. GSTM1-0 alleli homozigot delesyonludur ve null genotip olarak adlandırılır. GSTM1 null alleli enzim aktivitesi değişme ve daha çok azalma şeklinde gözlenir. Diğer iki allel enzim miktarında herhangi bir değişikliğe neden olmamaktadır (67, 70, 71).

GSTT1 1,3 butadien, monohalometanları, etilen oksit gibi sigara içimi sonucu ortaya çıkan ve havada bulunan çevresel çok sayıda potansiyel kanserojenlerin detoksifikasyonunda rol oynar (62, 67, 71). GSTT1 geninin 22q11.2 kromozomu üzerinde lokalize olduğu belirlenmiş ve .bu genle ilgili GSTT1-1 ve GSTT1-0 olarak iki allelleri gösterilmiştir. GSTT1-0 allelinde delesyon bulunmakta ve null allel olarak adlandırılır. Bu halde homozigot etki gösterir. GSTT1 null allelinde GSTM1 olduğu gibi enzim aktivitesi azalma veya yokluğu gözlenir (69).

GSTP1 geni 11q13.1 kromozomu üzerinde tanımlanmıştır. GSTP1 genindeki polimorfizmlerin enzim aktivitesinde düşmeye neden olup kemoterapötiklerin ve sigaradaki karsinojenlerin yıkılımlında yetersizliğe neden olduğu gösterilmiştir (72-76). Bu zamana kadar en sık araştırılan polimorfizm, 5. ekzonda bulunan (ile105Val,313A→313G) adenin nükleotidinden guanine dönüşüm sonucu oluşandır. Yapılan çalışmalarda izolösinden valine dönüşmesi sonucunda G allelinin A alleleine göre bulunanlara göre daha az konjugatif aktiviteye neden olduğu gözlenmiştir (Şekil-11 ve Şekil-12) (77-79).



Şekil-11: GSTP1 geni, 11q3.1 loküste bulunur ve 7 ekzondan oluşur.

Bireyler arasında görülen bazı kanser türlerine yatkınlığın artması veya azalmasının temelinde yatan nedenin ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda rol oynayan enzimlerin gösterdiği genetik polimorfizmlerin olabileceği ileri sürülmüştür. Özellikle son yıllarda yapılan çalışmalarda kanser riski ile ksenobiyotik metabolizma enzim polimorfizmleri arasında önemli ilişkiler gösterilmiş ve kanser etiolojisinde bu tip genetik değişikliklerin rolünün olabileceği belirtilmiştir (80-82).

KML oluşumu ile genetik ve çevresel faktörlerin ilişkisi hakkında net bilgiler mevcut değildir. Hastalığı oluşturabilecek faktörler ile ilgili çalışmaların yapılması sonucu elde edilen bilgiler, hastalığın tanı ve tedavisinde önemli adımların atılmasına yol gösterici olacaktır.

Bu çalışmamızda, KML tanısı alan olgu grubu ile bilinen bir kanser öyküsü ya da t(9;22) translokasyonu saptanmamış kontrol grubu arasında, daha önce yapılan çalışmalarda bazı kanserlerin gelişimiyle ilişkisi olabileceği belirtilen GST gen polimorfizmlerinden biri olan GSTP1 (Ile105Val) gen polimorfizminin Val alleli sıklığını karşılaştırdık. Medikal literatürde araştırdığımız kadarıyla KML hastalarında GSTP1 (Ile105Val) gen polimorfizmi daha önce araştırılmamıştır. Bu nedenle çalışmamızda, KML hastalığı ile polimorfik olan Val allelinin hastalık gelişimindeki ilişkisini ortaya koymak ve allel sıklığını tespit etmeyi amaçladık.

```

CCCA GAACTTCAAATAAAGTTGGACG GCGAGGC GTG GTG GCT CAGC CCT GTAATC CCAG
CACTTTGG GAA GCG GCGT GCA GAT CAC CTAA GGT CAG GAGTTTCGAGA CCA GCG CCGC
CAACATGGTGAAGC CCC GTCT CTA CTAAAAATAC AAAAAT CAG CAGATGTTGG CAC GCAC
CTATATTT CCA CTTACT CCGGAGG CTG AAG CAGAAATT GCTTGAACCC GAGAGG CCGAGGT
TGCA CTGA GCG GCG GAGATCG CCG CACTGC ACT CAG CCT GCG CCAAGC GTGAGA CTAC
GTCA TAAAATAAAA TAAAATAACA CAAAATAAAA TAAAATAAAA AATAAAATAAAA
AAAA TAAAATAAAA TAAAATAAAA TAAAATAAAA TAAAATAAAA TAAAATAAAA TAAAATAAAA
TTTT CTTTAAAG CCG CCT CCAAC CCC TCT CCC CTGC CCT GTG AAG CCGG TGT CCAAGC TCG
GGAT CCA CCG GTC TTA GGGAAITTTCC CCC CCGCATGTC CCG CCGC CCA GTT CCG TCG
CACATTC GCT GCG GTC CTTTTC TGT TGT CTGTTTA CTC CTTAGG CCC GCT GGG GACC
TGGGAAAGAGG GAAAGG CTTCCCGG CAG CTGC GCG GCGACT CCGG GGA CTC CAG GCGG
CCCC TCTG CCG CCGAGC CCGG GGG TGCAGC GCGC GCG GGG GCTGGGG CCG GCG GGA GTCC
CGGG GACC CTC CAG AAG AGCG GCG GCG GCG GTGACT CAGACT GGGG CCGAGC GGG CCGG
GACC ACCC TTA TAA GGC TCGAGG CCG CAG GCGC TTC GCTGGA GTT CCG CCG CCGAGTC
TTGCG CCG CAG GGTGA GTA CCG CCG CCC CCGTCCC CCG GGA TGG GGT CAGAGC TTC CAGC
ATGG GCG AAC CCG CAG CACT AGG CCC GGG TCCC CCG CAG GGT CCT CCG CCACTT CAGG
ATCC GGG CCG GGG CCTAGGG GAC CCA GGA CCGT CCC AGT GCG GTTA CCG GCTTTC AGGG
GGCC CCG CCG CCG CCG GGA TGG GAC CCC GGG CCG GGGAGG GGG CCA GAC TCG
CTCA CCG CCG CCG CCG CCG CCG CCG CCG CCG CCG CCG CCG CCG CCG CCG CCG CCG
CCAG ATCTCGTACTTCTCCCTCCG CCGAGG CCGC GCG GCG CCTGC GCA TGC TGC TGGC
AGAT CAGG GCG CAGACT GGAAGG GAGGTGGTACC GTG GAGAGCT GCGAGG GCGT
ACTA AAG CCTCCTCGG TRAG TGA CCA TGC CCGG GCAAGG GGA GGG GTG CCG GCG CTA
GGGG GCG TGA CTA GGA TCGG GGGAGC CCGAGC TCA GTG CCC TCC CTA GCG CATGGCT
CCCC CAGAGC TATAG GCGAGCTCC CAG GTT CAG GAC GGA GACC TCA CCG TATGCA
GTCC AAT CCA TCC TGC TCA CCTGGG CCG CACC CTTGGT GAG TCTT GAA CCTCCAGTTC
CAGG CAG GCG TGG GCGAGCC TCTGCC CCC GAGG CCC TTT TGT TTAATCAGC TGC CCGG
CAGC CCTC TGGAGT GGA GGAAGCT GAGAGC CACTGAG GTTACG TGT TTG CCCAGG GTC
AGCC TGGG TGC CTA TCC TGC CCTGTG CCGAG GCTGCC TCC CAGG TGT CAG GTGAGCT
CTCA GCG CTA CTA TGTGGCAGT TCTCATCCTTCCAGCACA TCCCTCTCC CCG CCG
CAGG CTA GCG TCA CAGAGCG CCC CCTGGT TGGC CCA TCC CCA GTG CTA TGTGTGATC
AGGC GCGAGT CAG CCG GCGT GCTCCC CTC CACC CAA CCC CAG GCGT CTA TGG GAA GGC
CAGC AGGAGG CAGC CCTGGT GAGATG GTG AATGAG GCG TGGAGG CCTCCG CTA CAAA
TCA GCTCCTCATCTA CAGCAG TAT GTGAGCA TTT GCA CCA GGGTTGG GCA CTA GGG
CTGACAAAAGAGAG GGG CTTT TGTG CCG CAC CCC CTTACC CCTAGG TGG CTT GGG
TCA CTTCTTTGG GTC AGGGTGC AGG GCG TGGG TCA GCT CTA GGG AGG GCG CCA GGGG
CTG GGA AAGACA CAA CCG CAC CTTATTTCC TGG GAC ATCAACC AGC CAA GTAAGC
GTATGG GCG GAGTGC AAGGACA GAGAC TCA CCA ACTG GTT GCTTCT GAT CTA CTA
GGT GCA GCG CTT CCT GAGTAG CCA GAG GTGGAGGAGGATTTGCT GCG AGTTT TGA
TGA GGT CTA GCA CTTTATG CTGAGG AAAATAT GCA GCA ACA GAGC ACA TTT GGG GAC
TGGGACA GTT CAG CAGAGG CAG GTG TGT GCG GTG CCT GTG CAGTGT GTG CCT GTG
GTG GTAC GTTTGC ATTTGTG TCG GGT GGG TAA GAGATA GAGATGG GCG GCG AGTAGG
CCAG GTC CAGAGG CTTTGA CCC ACT GGT TGGAGT CTC CTAAGG CAA TGG GGG CCA
TGAAGGT CTAAGG CCGTGT CTG AAT GTGA GGT CTA GAA GAT CCT CCA GAGAGC
CAG CTTAAG CTTTTC CAAT CAT CTG GTGAGAGAAC CCA GCAAGGA TGGACA GGGAGAA
TGAATAGAGATGA GTT GGA GCT GAA GTG GACA GAA TTT GGTACTA GCG TGG TGG TGG
GAGAGG CAG GGA GAA TCTG GGA CTT TGGTGT TGG CCT GGG CAGAGC GGG GTG TCTC
AGGG CTA GCA GGGATGAGAG TAG GAT GATACAT GGT GGT GTC TGGC AGGAGG CCG GCA
GGATGACTGTG TGAAGG CACTGCC CCG GCAACTG AAG CCTTTT GAGA CCC TGC TGTCCCA
GACC CAGG GAG GCAAGG CCTT CAT TGTGGGAGC CAG GTGAGCATCTGCC CCCATG CTGT
TCCCTTCTCCG CAC CCTCTGC TTC CAGATG GACACAG GTG TGA GCA TTTGTTTGA CAAA
GCGAGGCA GAC CTA GGG GATG GCG TTA GGC CCTC TGC CCC CAA TTCC TCCAGC CTA CCCC
CGCTGGCTGAG TCC CTA GCGC CCC TGC CCTCGAGATC TCC TTC GCTGACTACAGC TGT
GAC TTGC TGC TGA TCCATGAGGTCTTACG CCGTGGC TGC CTA GATG CGT TCC CCG TGC
CTCA GCAATGTG TGG GCG GCGT CAG TGC CCG GCGG AAG CTCAGG GCGT TCC TGG CCTCCCG
TGG TGC TGAACC TCC CCACT CAA TGG CAA CCGG AAG CAG TGA GGT TGG GGG GAC TCTG
AGCG GAG GCA GAG TTTGCC TCC TTTCTC CAGGAGCA TAAAATTT CTAAGG CTA
TATGAG CTA CTG GGT TTT CTGG GAC GGG GCTTAG GGT TTT CAG CTT GAG GTC GGT GGA
GGCAGAG CAGAGGACTAGAAAAGT CTTCTCA GCA CAGTCA GTGG CTT CTT GGA GCG
TCA CCG GCT GTG TTTACTG AAC CTC CAAACTAGAGAG GAAAGAAAAGAGAG GAG
GAGAAAAGAGAAATAGC ATG GTC ACT GTCC TGGAGC ACCACAG GTT GATATAGAA
GGGAAA GTC TCA TAGAAAATG CTTTATAGG ACA GCA CCGTCT GTC AGATGGACAG
ACTT CAGGATG GAG GGAAGTAGG GATTTT GGGAGGAGG GATGTGA GGA GTT CCG TGT
CTGGGGTTA GCT GAGTAGT TTT GAG CAG CCA GGT TGG TGG GAGG GTC ATT CTC CTTG
GATG GGG CTTTCTGG CTTCTG CTG CTGACTGTGAGTTT GGT GCACT CTTAGG CAA GCA
TCAACTA CTGTATAG GATT CTC CAGAGAGCTAG CCA GTAAGAT GCT GTA GCG CAGG
CAAAATTTTAT CTC TGT CTTTTA GGGTTTTTGG GCT GGG CCT GAGAGCTAAA GAC ATGA
GCAA GA

```

Şekil-12: GSTP1 geninin tüm nükleotit dizisi. Yeşil ile gösterilen bölge polimorfik olan 105. kodonu göstermektedir. ATC→GTC (Ile →Val).

GEREÇ VE YÖNTEM

I. Materyal

Bu çalışmaya Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Araştırmalar Etik Kurulu onayı (8 Nisan 2009, 2009-6/48) alınarak başlanmıştır. Çalışma grupları Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'na 2008–2009 tarihleri arasında retrospektif olarak KML ön tanısıyla gelen hastalardan randomize seçilerek oluşturuldu. Hasta grubunda t(9;22) translokasyonu pozitif çıkararak KML tanısı almış 71 olgu olup kontrol grubu olarak ise bilinen herhangi bir kanser hikayesi olmayan ve önceden (9;22) translokasyonu incelenmiş olup negatif çıkan 67 kişi seçilmiştir. Hem hasta hem de kontrol grubunda yer alan olguların yaş, cinsiyet, lökosit sayısı, t(9;22) translokasyon sonuçları dahil olmak üzere demografik bilgileri kaydedildi.

II. Gereç

Bu çalışmada kullanılan kimyasal maddeler ve temin edildikleri firmalar aşağıda verilmiştir.

1. Taq Polimeraz (Dr. Zeydanlı)
2. Magnezyum Klorür (MgCl₂) (Dr. Zeydanlı)
3. Tris Baz (Amresco)
4. EDTA (Sigma)
5. Proteinaz K (Sigma)
6. Brom Fenol Mavis (Fermantas)
7. Etidyum Bromür (Dr. Zeydanlı)
8. PCR Tamponu (Dr. Zeydanlı)
9. Hae III ile Kesilmiş PUC Marker DNA (Fermantas)
10. Primerler
11. Deoksinükleosit Trifosfat Seti (Dr. Zeydanlı)

12. Agaroz (Sigma)
13. Saf Etanol (Dr. Zeydanlı)
14. DNA izolasyonu, PCR ve elektroforez ile ilgili diğ er kimyasal maddeler (Dr. Zeydanlı)
15. Alw26 I kesim enzimi (Genemark)

III. Kullanılan Başlıca Cihazlar ve Teknik Malzemeler

1. Santrifüj (Hermle-Z300K)
2. Spektrofotometre (Eppendorf Biophotometer)
3. Hassas terazi (CAS)
4. Su banyoları (Nüve – ST402)
5. Otomatik pipetler (Eppendorf)
6. Buzdolabı (Indesit)
7. Jel görüntüleme cihazı (Biosens- SC805)
8. Yatay elektroforez tankı (EC-320 Minicell)
9. Derin donducu (Beko)
10. Vorteks (Boeco V1 plus)
11. Mikrodalga fırın (Arçelik)
12. Elektroforez (EC 250-90, E-C Apparatus Corporation)
13. Thermal cycler (Applied Biosystems-GenAmp 9700)

Bu cihazlar araştırmanın yapıldığı Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Moleküler Laboratuvarı'nda bulunmaktadır.

IV. Yöntem

IV.A. DNA İzolasyonu

Hasta ve kontrol grubundan genotip tayinleri için -20°C'de saklanan EDTA'lı tüplerden yaklaşık 2 cc'lik kan örneği alındı. DNA izolasyonu için 2 cc EDTA'lı kan, steril falkon tüpüne aktarıldı ve üzerine 1:3 oranında (6 cc) "lysis buffer" ilave edildi. Tüp, birkaç defa ters yüz çevrilerek iyi bir şekilde

kariştirildikten sonra +4°C'de 15 dakika bekletildi. Oluşan nükleer pelleti çöktürmek için dakikada 1500 devirde 10 dk santrifüj edildi ve oluşan süpernatant döküldü. Pellet yeniden süspansiyon edildi. İkinci bir yıkama için yine 6 ml "lysis buffer" eklendi ve 10 dk 1500 rpm'de santrifüj edildi, süpernatant atıldı ve pellet tamamen süspansiyon edildi. Bundan sonraki aşamalarda Dr.Zeydanlı DNA izolasyon kiti prosedürü uygulandı. Süspansiyon olmuş örnek 1,5 ml'lik nükleaz içermeyen tüp içine alınarak üzerine 500 µl solüsyon B ve 20 µl solüsyon A eklendi. Karişim vortekslenerek 42°C'de 2 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası üzerine 500 µl solüsyon C eklenip vortekslenerek 10.000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Oluşan iki fazdan üstteki berrak faz alınarak temiz 1,5 ml'lik nükleaz içermeyen tüpe konuldu. Üzerine 500 µl solüsyon D konuldu. 10.000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Oluşan süpernatant atılarak üzerine 500 µl solüsyon E konulup 10.000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Süpernatant atılarak tüpler kurumaya bırakıldı. Kuruduktan sonra 100 µl distile su eklenerek çalışma zamanına kadar – 20°C'de saklandı.

IV.B. Polimeraz Zincir Reaksiyon (PCR) Protokolü

PCR yöntemi, genomik DNA'nın sıcaklığın etkisiyle çift zincirinin tek zincir hale gelmesi sonrasında uygun sıcaklıkta ilgili primerlerin ilgili primer bölgesine yapışması ve DNA Taq polimeraz enzimi katalizörlüğünde ortamdaki dört deoksinükleotid trifosfatın (adenin, guanin, sitozin, timin) yeni zincire eklenmesi sonucunda ilgili gen bölgelerin çoğaltılması temeline dayanmaktadır.

Bu çalışmada izole edilen DNA'larda GSTP1 (Ile105Val) gen polimorfizmi belirlemek için PCR (Polymerase Chain Reaction) yöntemi kullanılarak genotipleme yapıldı. Bunun için PCR reaksiyonu karişımı hazırlandı. 25 µl'lik PCR karişımı 0,2 ml'lik PCR tüpünde aşağdaki sıra ile kariştırıldı (Tablo-4) .

Tablo-4: PCR reaksiyonu karışımı için kullanılan malzemeler ve miktarları

1) dNTP (10 mM)	0,3 µL
2) 10x PCR Buffer (Magnezyumlu)	2,5 µL
3) 10 pmol/ml primer forward	1,0 µL
4) 10 pmol/ml primer reverse.....	1,0 µL
5) dH ₂ O.....	16,0 µL
6) Genomik DNA.....	4,0 µL
7) Taq polimeraz enzimi (5 ünite/µl).....	0,1 µL

GSTP1 geninin Ile105Val polimorfizmini içeren 176 baz çiftlik bölgeyi çoğaltmak için F: 5'-ACCCAGGGCTCTATGGGAA-3' ve R: 5'-TGAGGGCACAAGAAGCCCCT-3' primerleri kullanıldı(83).

Tablo-5: PCR Döngü Programı.

Kapak sıcaklığı, (cihaz tipine özel)	103°C
1)Başlangıç denatürasyonu	94°C.....5 dakika
2)Denatürasyon	94°C.....1 dakika
3) Annealing	61,5°C....1 dakika
4) Extention.....	72°C.....1 dakika
5) Son extention...	72°C.....10 dakika
*2,3 ve 4 işlemler sırasıyla 38 siklus	

Tüplerde bulunan reaksiyon karışımı PCR yapılmak üzere PCR cihazına yerleştirildikten sonra belirlenen program uygulandı. GSTP1 (Ile105Val) gen polimorfizmi için PCR döngü programı olarak tablo 5 belirtilen sıcaklık ve süreler kullanılarak PCR işlemi PCR cihazında gerçekleştirildi.

IV.C. Jel Elektroforez Protokolü

Agaroz Jel Elektroforezi , DNA ve PCR ürünlerinin ayrılması ve tanımlanması için kullanılan standart bir metotlardan biridir. Bu çalışmada PCR ile çoğaltılmış ürünlerin tanımlanması için %2'lik agaroz jel elektroforezi uygulandı. %2'lik jel hazırlanması için 5 mL 10xTris-Borik Asit-EDTA (TBE) solüsyonu 45 ml dH₂O ile beher içinde karıştırıldı. Karışımın içine 1 gr

agaroz eklendi. Çözelti mikrodalga fırında “medium” ayarında agaroz çözününceye kadar ısıtıldı. Eriyen jel içine 5 µL etidyum bromid eklenerek karıştırıldı. Jel, elektroforez aparatına dökülerek soğumaya bırakıldı. Elektroforez tankı, 1xTBE ile doldurularak jel yürütme işlemine hazır hale getirildi. PCR ürünleri brom-fenol mavisini ile muamele edilerek agaroz jele yüklendi. 90-100V akımda 15 dk kadar yürütüldü.

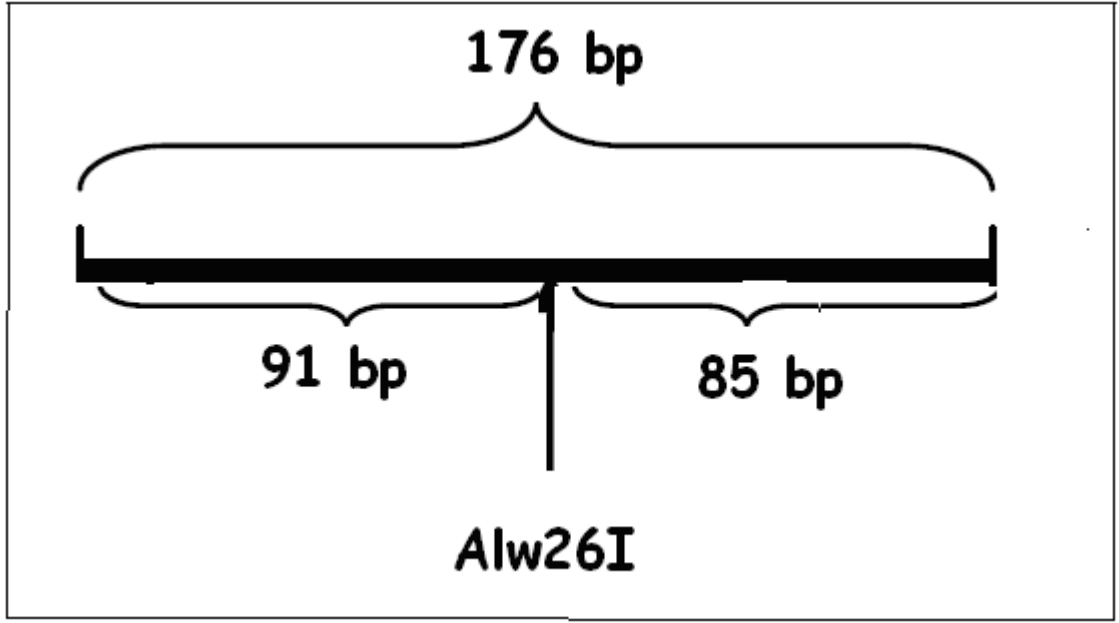
IV.D. Restriksiyon Enzim Kesimine Bırakılması

PCR reaksiyonu sonucu ürün elde edilenler genotip tayini için için Alw26 I (Genemark, Rusya) kesim enzimi kullanıldı. 5'...GTCTC(N)1...3' / 3'...CAGAG(N)5...5' dizileridir (N; Adenin veya Sitozin veya Guanin veya Timin).

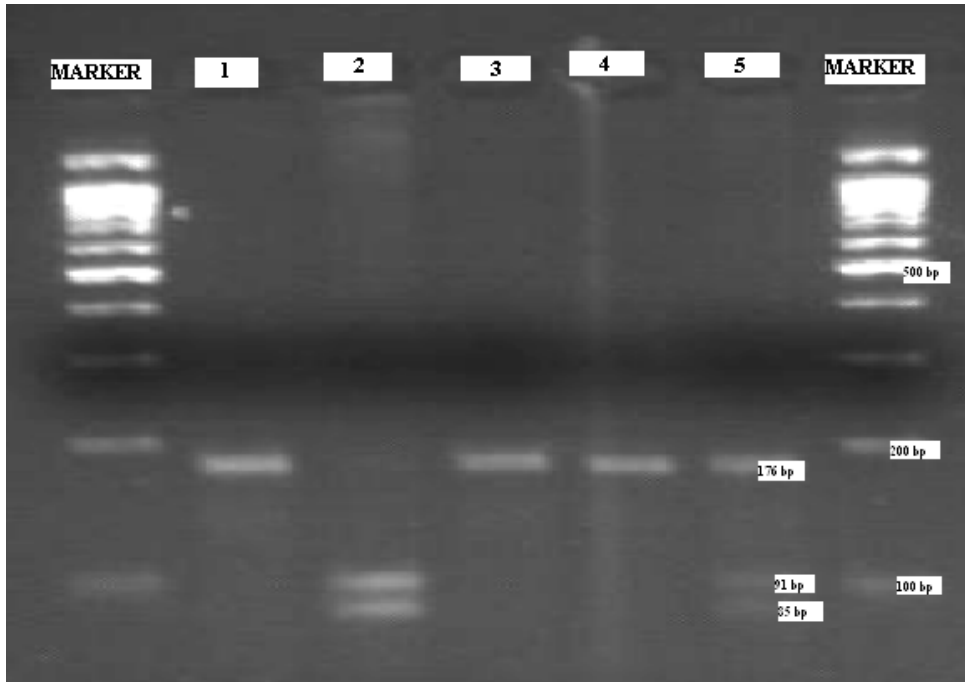
0,2 ml'lik tüplere 10 µl hacimdeki PCR ürünü, 2 µl restriksiyon enzim bufferi, 8 µl distile su ve her birey için 5 ünite/µl Alw26 I enzimi olacak şekilde karışım hazırlandı. Karışım enzimin optimum çalışma sıcaklığı olan 60°C'de 14–16 saat inkübasyona bırakıldı. Restriksiyon enzim kesim sonuçları % 4'lük agaroz jelde değerlendirildi. Bu jel için 2 gr agaroz tartılıp 1XTBE solüsyonu ile 50 ml total hacme tamamlandı. Agaroz istenilen konsantrasyonda hazırlandıktan sonra mikrodalga fırında kaynatıldı. İçerisine 5 µl etidyum bromid ilave edildi. İyice karıştırıldıktan sonra jel aparatına döküldü. Alw26 I enzimi ile kesim yapılmış ürünlere brom-fenol mavisini ile muamele edilerek jele yüklendi. 90-100V akımda 15 dk kadar yürütüldü.

IV. E .Genotiplerin Belirlenmesi

Yürütülen ürünler ultraviyole ışığında değerlendirilmiştir. GSTP1 genine ait 176 bp'lik PCR ürünü 85 bp ve 91 bp iki ayrı ürün oluşursa İle/İle (AA) genotipi, 176 bp, 91 bp ve 85 bp üç ayrı ürün oluşursa İle/Val (AG) genotipi ve 176 bp şeklinde olursa Val/Val (GG) genotipini göstermektedir (Şekil-13). GSTP1 polimorfizminin agaroz jel görüntüsü Şekil 14'de görülmektedir.



Şekil-13: GST-P1 (Ile105Val) polimorfizminin şematik gösterimi. Oklar Val alleli için kesim bölgesini göstermektedir.



Şekil-14: Hasta ve kontrol grubundaki hastaların GSTP1 geninin PCR ürünlerinin Alw 26 I enzim kesimi sonrası %4 agaroz jeldeki görüntüsü. İlk ve son kuyucuk 100 bp DNA ladder (Marker); 1 nolu, 3 nolu ve 4 nolu kuyucuklar Ile / Ile genotipine (176 bp); 2 nolu kuyucuk Val / Val genotipine (91 bp, 85 bp) ve 5 nolu kuyucuk Ile / Val genotipine (176 bp, 91 bp, 85 bp) sahip bireyleri göstermektedir.

V. İstatistiksel Analiz

Sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesi Uludağ Üniversitesi Biyoistatistik Anabilim Dalı'nda 'SPSS for Windows Version 13,0' istatistik paket programı kullanılarak yapıldı. Kategorik değer alan cinsiyet, genotip gibi değişkenler tablolarla verilip iki grup arasındaki farklılıkları pearson ki-kare ve Fisher'in ki-kare testi kullanıldı. Yaş değişkeni iki grup arasında non-parametrik testlerden Mann-Whitney U testiyle karşılaştırıldı. Çalışmada anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak benimsendi.

BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen 71 KML hasta olgusunun 40'u kadın, 31'i erkek olup kontrol grubunun ise 38'i kadın ve 29 erkek olmak üzere 67 kişiden oluşmaktaydı. Cinsiyet dağılımına bakıldığında anlamlı bir fark gözlenmemektedir ($p=0.964$). Yaş açısından incelendiğinde, hasta ve kontrol gruplarının ortalama yaşları, sırasıyla; 49 ± 12.84 ve 49.86 ± 10 idi. Hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel farklılık yoktu ($p = 0.853$). Lökosit sayıları açısından bakıldığında hasta grubun lökosit ortalaması 129.590 ± 130.947 olup kontrol grubunda ise 11.400 ± 5.142 bulundu hasta lehine anlamlı bir farklılık olduğu belirlendi (Ortalama 22.50'ye 24.23, $p = 0.00001$) (Tablo-6 ve Tablo-7).

Tablo-6: Hasta ve kontrol grubunun demografik özellikleri.

	<i>Hasta</i>	<i>Kontrol</i>	<i>p değeri</i>
Olgu sayısı	71	67	-
Cinsiyet (Kadın /Erkek)	40/31	38/29	0.964
Ortalama yaş	49 ± 12.84	49.86 ± 10	0.853
Lökosit sayısı	129.590 ± 130.947	11.400 ± 5.142	0.00001

Tablo-7: Çalışma grubunu oluşturan olguların genel bilgileri.

Sıra No	Hasta - Kontrol	Yaş	Tanıdaki lökosit sayısı	Cinsiyet	Genotip
1	HASTA	26	125.000	K	Ile/Ile
2	HASTA	48	25.700	E	Ile/Val
3	HASTA	63	233.000	K	Ile/Ile
4	HASTA	62	28.500	E	Ile/Ile
5	HASTA	43	45.900	E	Ile/Ile
6	HASTA	60	30.000	E	Ile/Ile
7	HASTA	65	252.000	E	Ile/Ile
8	HASTA	52	161.000	K	Ile/Ile
9	HASTA	55	180.000	K	Ile/Val
10	HASTA	32	42.000	K	Ile/Val
11	HASTA	54	115.000	K	Ile/Ile
12	HASTA	41	135.000	E	Ile/Ile
13	HASTA	60	60.000	E	Ile/Ile
14	HASTA	63	65.400	K	Ile/Ile
15	HASTA	36	141.800	K	Ile/Ile
16	HASTA	22	88.400	E	Ile/Ile
17	HASTA	53	444.000	E	Ile/Ile
18	HASTA	53	121.000	K	Ile/Val
19	HASTA	54	264.000	E	Ile/Ile
20	HASTA	57	97.000	K	Ile/Ile
21	HASTA	36	45.700	K	Ile/Ile
22	HASTA	74	65.700	E	Ile/Ile
23	HASTA	22	196.000	K	Ile/Ile
24	HASTA	45	83.300	K	Ile/Ile
25	HASTA	29	40.000	K	Ile/Ile
26	HASTA	47	30.000	E	Ile/Ile
27	HASTA	35	47.000	E	Ile/Ile

28	HASTA	40	130.000	E	Ile/Ile
29	HASTA	64	34.300	E	Ile/Ile
30	HASTA	34	17.100	K	Ile/Ile
31	HASTA	41	274.000	K	Val/Val
32	HASTA	63	91.300	K	Ile/Val
33	HASTA	39	79.000	E	Ile/Val
34	HASTA	42	300.000	K	Ile/Ile
35	HASTA	47	150.000	K	Ile/Val
36	HASTA	48	225.000	K	Val/Val
37	HASTA	34	153.000	K	Ile/Ile
38	HASTA	62	176.000	E	Ile/Ile
39	HASTA	61	80.000	E	Ile/Val
40	HASTA	53	274.000	K	Ile/Val
41	HASTA	53	144.000	E	Val/Val
42	HASTA	27	34.000	K	Ile/Ile
43	HASTA	53	145.000	E	Ile/Ile
44	HASTA	45	83.300	K	Ile/Val
45	HASTA	67	45.000	K	Ile/Val
46	HASTA	47	58.600	K	Ile/Ile
47	HASTA	62	50.000	E	Ile/Val
48	HASTA	63	272.000	E	Ile/Ile
49	HASTA	55	59.200	E	Ile/Val
50	HASTA	63	97.600	E	Ile/Val
51	HASTA	56	197.000	E	Ile/Ile
52	HASTA	48	921.000	K	Ile/Ile
53	HASTA	46	201.000	E	Ile/Ile
54	HASTA	56	75.400	K	Ile/Val
55	HASTA	31	98.390	K	Ile/Val
56	HASTA	40	3.900	K	Ile/Val
57	HASTA	40	307.000	K	Val/Val
58	HASTA	33	234.000	K	Ile/Ile

59	HASTA	27	168.000	E	Ile/Val
60	HASTA	24	17.500	K	Ile/Val
61	HASTA	52	35.000	K	Ile/Ile
62	HASTA	74	58.700	K	Ile/Ile
63	HASTA	55	132.000	K	Ile/Ile
64	HASTA	61	242.000	E	Ile/Ile
65	HASTA	50	50.000	E	Ile/Val
66	HASTA	60	88.400	K	Ile/Ile
67	HASTA	49	103.000	E	Ile/Val
68	HASTA	51	48.400	K	Val/Val
69	HASTA	60	59.900	K	Ile/Ile
70	HASTA	48	9.230	E	Ile/Ile
71	HASTA	68	16.300	K	Ile/Ile
72	KONTROL	55	10.700	K	Val/Val
73	KONTROL	55	6.000	K	Ile/Ile
74	KONTROL	35	4.630	K	Ile/Ile
75	KONTROL	30	7.930	K	Ile/Ile
76	KONTROL	46	6.000	K	Ile/Ile
77	KONTROL	45	6.040	K	Ile/Ile
78	KONTROL	46	6.840	K	Ile/Ile
79	KONTROL	36	9.110	K	Ile/Val
80	KONTROL	42	15.100	K	Ile/Val
81	KONTROL	34	11.200	K	Ile/Ile
82	KONTROL	56	5.210	K	Val/Val
83	KONTROL	41	8.610	K	Ile/Val
84	KONTROL	44	10.100	K	Ile/Val
85	KONTROL	50	18.780	K	Ile/Val
86	KONTROL	41	15.300	K	Ile/Ile
87	KONTROL	57	8.930	K	Ile/Val
88	KONTROL	52	11.400	K	Ile/Ile
89	KONTROL	48	11.600	K	Ile/Ile

90	KONTROL	50	12.900	K	Ile/Ile
91	KONTROL	40	9.540	K	Ile/Ile
92	KONTROL	39	12.500	K	Ile/Val
93	KONTROL	50	8.610	K	Ile/Ile
94	KONTROL	56	15.300	K	Ile/Ile
95	KONTROL	50	10.800	K	Ile/Ile
96	KONTROL	32	20.600	K	Ile/Val
97	KONTROL	50	6.790	K	Ile/Ile
98	KONTROL	52	7.790	K	Ile/Val
99	KONTROL	52	19.900	K	Val/Val
100	KONTROL	54	6.000	K	Ile/Ile
101	KONTROL	31	11.100	K	Ile/Val
102	KONTROL	36	6.000	K	Ile/Ile
103	KONTROL	32	6.000	K	Ile/Val
104	KONTROL	57	10.200	K	Val/Val
105	KONTROL	47	6.760	K	Ile/Ile
106	KONTROL	54	8.200	K	Ile/Ile
107	KONTROL	57	25.500	K	Val/Val
108	KONTROL	38	6.000	E	Ile/Val
109	KONTROL	43	17.100	E	Ile/Val
110	KONTROL	58	14.900	E	Val/Val
111	KONTROL	60	24.100	E	Val/Val
112	KONTROL	60	6.620	E	Ile/Ile
113	KONTROL	64	18.600	E	Ile/Val
114	KONTROL	60	20.900	E	Ile/Ile
115	KONTROL	57	8.370	E	Ile/Val
116	KONTROL	68	6.000	E	Val/Val
117	KONTROL	60	11.700	E	Ile/Ile
118	KONTROL	54	6.800	E	Ile/Val
119	KONTROL	62	11.800	E	Ile/Ile
120	KONTROL	48	8.770	E	Ile/Ile

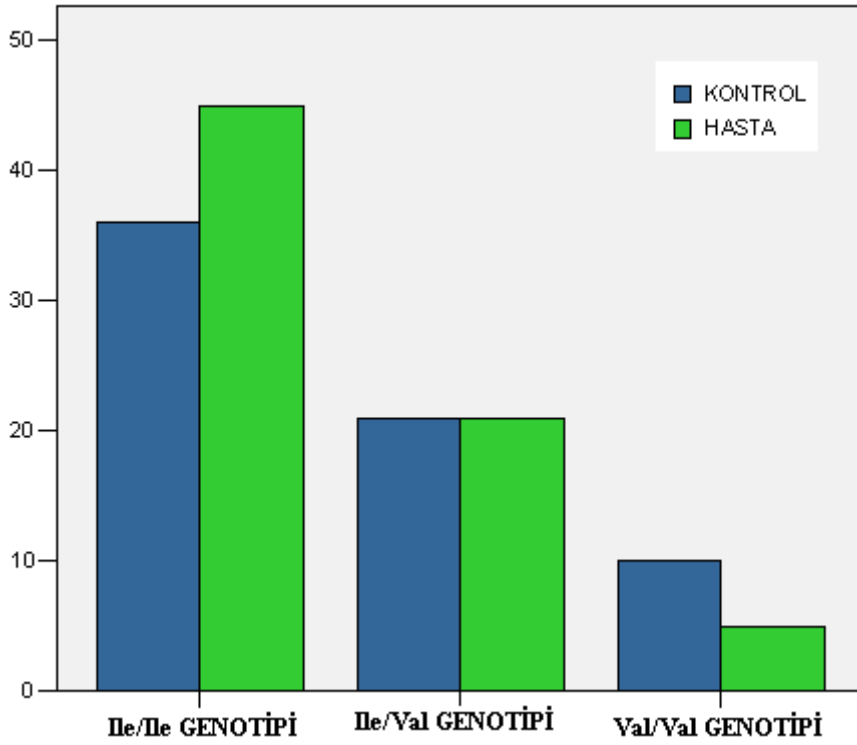
121	KONTROL	66	15.900	E	Ile/Val
122	KONTROL	70	15.900	E	Ile/Val
123	KONTROL	55	23.100	E	Ile/Val
124	KONTROL	45	11.620	E	Ile/Ile
125	KONTROL	51	4.940	E	Val/Val
126	KONTROL	61	22.800	E	Ile/Ile
127	KONTROL	47	16.400	E	Ile/Ile
128	KONTROL	55	12.400	E	Ile/Ile
129	KONTROL	62	12.500	E	Val/Val
130	KONTROL	56	8.300	E	Ile/Ile
131	KONTROL	55	9.260	E	Ile/Ile
132	KONTROL	48	15.400	E	Ile/Val
133	KONTROL	68	8.340	E	Ile/Ile
134	KONTROL	57	6.680	E	Ile/Ile
135	KONTROL	29	12.800	E	Ile/Val
136	KONTROL	51	18.300	E	Ile/Ile
137	KONTROL	40	9.530	K	Ile/Ile
138	KONTROL	41	8.490	K	Ile/Ile

K.Kadın , E: Erkek

GSTP1 (Ile105Val) polimorfizmi incelendiğinde KML grubunda 45 (%63) olguda Ile/Ile genotipi, 21 (%30) olguda Ile/Val genotipi ve 5 (%7) olguda Val /Val genotipi mevcuttu. Kontrol grubunda ise 36 (%54) bireyde Ile/Ile genotipi, 21 (%31) bireyde Ile/Val genotipi ve 10 (%15) bireyde Val /Val genotipi saptandı. Genotip dağılımı açısından KML grubu ile KML olmayan grup arasında istatistiksel olarak bir anlamlılık saptanmadı ($p>0.05$) (Tablo-8 ve Şekil-15)

Tablo-8: Hasta ve kontrol grubunun GSTP1 (Ile105Val) genotiplerinin karşılaştırılması.

	<u>Hasta</u> <u>N(%)</u>	<u>Kontrol</u> <u>N(%)</u>	<u>p değeri</u>	<u>OR(95%CI)</u>
Ile/Ile (A/A)	45 (%63)	36 (%54)	1(Referans)	1(Referans)
Ile/Val(A/G)	21 (%30)	21 (%31)	0.822	0.92(0.42-2.02)
Val/Val(G/G)	5 (%7)	10 (%15)	0.138	0.43(0.12-1.48)



Şekil-15: Hasta ve kontrol gruplarında genotiplerin sayılarının gösterimi.

GSTP1 (Ile105Val) polimorfizmi için polimorfik olan Val allelinin allel sıklığı hasta grubunda %22, kontrol grubunda ise %31 olarak bulundu. Val

alleli kontrol grubunda yüksek bulunsa da istatistiksel olarak bir anlamlılık saptanmadı (p=0.199) (Tablo 9).

Tablo–9: Hasta ve kontrol grubunun allel sıklığının dağılımı.

	<u>Hasta</u> <u>%</u>	<u>Kontrol</u> <u>%</u>	<u>p değeri</u>	<u>OR(95%CI)</u>
Ile (%)allel sıklığı	78	69	1(Referans)	1(Referans)
Val (%)allel sıklığı	22	31	0.199	0.63(0.32-1.24)

TARTIŞMA VE SONUÇ

KML etiyojisi hakkında medikal literatürde çok az bilgi mevcuttur. Daha çok neden olarak radyasyona maruz kalmanın etkilediği bilinmekle birlikte karsinojen ve toksinlere maruz kalma gibi çevresel faktörlerin de neoplastik gelişimle ilişkili olabileceğine dair bilgiler öne sürülmektedir. Atom bombasından dolayı iyonizan radyasyona maruz kalan Japonlarda, KML hastalığının gelişiminde büyük bir risk oluşturduğu gösterilmiştir (85). Aynı şekilde DNA topoizomerez II inhibitörler, sigara, benzen gibi diğer organik çözücüler, aşırı derecede düşük frekanslı elektromanyetik alanlar, virüsler ve böcek ilaçlarına maruz kalmanın da risk oluşturduğu öne sürülmektedir(86 - 90). Bu genotoksik ve sitotoksik ajanlar insandaki detoksifiye eden enzimlerin yapısını ve düzeyini (karsinojen metabolizmasını) etkileyen ve DNA hasarının onarım kapasitesini etkileyebilir. Böylece kanser oluşma riskini arttırabilir.

Glutasyon S-transferaz (GST), birçok farklı ksenobiyotik ve endojen bileşiklerin detoksifikasyonu ve biyotransformasyonunda önemli rol oynayan Faz II metabolizması enzimlerindendir (91-94). GST gen ailesine ait enzimler kanserojenik potansiyele sahip birçok endojen ve ekzojen kimyasala karşı hücre savunmasının önemli bir bölümünü oluştururlar. Ayrıca GST enzimleri oksidatif strese karşı hücre sel korumada önemli oynarlar (95, 96).

Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda insanlarda GST ailesine ait enzimleri kodlayan pek çok genin polimorfik olduğu saptanmıştır. GSTT1 ve GSTM1 genlerinin null delesyonu ile GSTP1 (Ile105Val) gen polimorfizmleri kanser etiyojisinde sık araştırılan polimorfizmlerdir. Akciğer, karaciğer, mesane, meme, kolorektal, mide, larinks ve cilt kanseri gibi birçok kanserde risk faktörü olarak araştırılmıştır (97).

Mo ve ark.'nın (98) yaptığı bir çalışmada; GST gen polimorfizmlerinin prostat kanseri gelişimine yatkınlık açısından yayınlanmış çalışmaların sonuçları analiz edilmiştir. Bu yapılan analizde GSTM1 null genotipinin araştırıldığı 29 çalışma (4,564 prostat kanserli olgu ve 5,464 kontrol), GSTT1 null genotipi araştırıldığı 22 çalışma (3,837 prostat kanseri olgu ve 4,552

kontrol) ve GSTP1 genotipinin araştırıldığı 24 çalışma (5,301 prostat kanseri olgu ve 5,621 kontrol) analiz edilmiştir. Bu analizin sonuçlarına göre GSTM1 null genotipi için Kafkas ve Asya ırkları arasında yapılan çalışmalarda benzer sonuçlar çıkıp prostat kanseri riskini arttırdığı gözlenirken Afrika kökenli yapılan çalışmalarda ise ilişkisinin olmadığı sonucu çıkmıştır. GSTT1 ve GSTP1 gen polimorfizmleri açısından incelendiğinde ise prostat kanseriyle bir ilişkisinin olmadığı saptanmıştır.

GST T1, GSTM1 ve GSTP1 gen polimorfizmleri ile özafagus kanseri ilişkisini araştıran Moaven ve ark.'nın (99) yaptığı bir çalışmada 148 özafagus kanserli olgu ile 137 sağlıklı kontrolün analizinde genel genotipler arasında istatistiksel olarak bir anlamlılık saptanmamıştır. Fakat olgu ve kontrol grubu sigara içme durumuna göre değerlendirildiğinde ise sigara içmeyenlerde kontrol grubunda GSTP1 Ile / Ile genotipi daha sık bulunmuş ($p = 0.007$, OR: 0.507, %95 CI = 0.309–0.830) olup GSTP1 Ile / Ile(A/A) genotipli sigara içenlerin özafagus kanseri riskinin arttığı ($p < 0.001$, OR: 3.886, %95 CI = 1.830–8.251) saptanmıştır. Bu sonuca göre, GSTP1 A/A genotipinin sigara ile ilişkili bazı kanserojenlerin aktivasyonunda rol oynayabileceği öne sürülmüştür. Böylece özafagus kanserine yatkınlığının artmasından sorumlu olabileceği belirtilmiştir.

Kim ve ark.'nın (100) Kore populasyonunda 713 non Hodgkin lenfoma olgu ile 1700 kontrolden oluşan bir çalışmada, ilaç metabolize eden 6 farklı gen polimorfizmlerinin (NQO1- Ser187Pro, CYP1A1- A4889G, CYP1A1-T6235C, GSTT1, GSTM1 ve GSTP1- Ile105Val) lenfoma gelişimine yatkınlık oluşturulması açısından araştırılmıştır. Araştırma sonucunda GSTP1 Ile / Val gen polimorfizminin NHL riskini düşürdüğü (Ile / Val+Val / Val genotipi için OR: 0.66, %95 CI = 0.54–0.80) saptanırken CYP1A1- A4889G gen polimorfizminin ise NHL riskini arttırdığı (A/G+G/G genotipi için OR: 1.26, %95 CI = 1.06–1.51) bulunmuştur. NQO1- Ser187Pro, GSTT1-null ve GSTM1- null genotipleri açısından incelendiğinde ise NHL ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak bir anlamlılık saptanmamıştır.

Hodgkin lenfomalarda Lourenço ve ark.'nın (101) 110 Hodgkin lenfomalı olgu ile 226 kontrolden oluşan çalışmasında GST polimorfizmleri

analiz edilmiştir. GST-T1 ve GSTM1, null genotip sıklığı gruplar arasında benzer oranlarda çıkmıştır. GSTP1 açısından incelendiğinde ise Ile / Ile genotip sıklığı hasta grubunda kontrol grubuna göre yüksek bulunmuş ve hastalık gelişimi açısından artmış risk olduğu saptanmıştır (sırasıyla %59.1, %36.3, P=0.004, OR: 2.68, %95 CI = 1.38–5.21). Ayrıca GSTP1 Ile / Ile genotip sıklığı evre açısından değerlendirildiğinde ise Evre III-IV oranı Evre I-II'ye göre daha yüksek bulunmuştur (sırasıyla %39.1, %20, P=0.03). Ile / Ile genotipinin kanser ilerleyişinde etkili olduğu gösterilmiş olup bunun nedenin de kanser metabolizmasında Ile allelinin düşük aktivitesi olabileceği belirtilmiştir.

Ye ve ark. (102), akut lösemilerde GST gen polimorfizminin araştırıldığı 30 vaka-kontrol çalışması üzerinde araştırılmıştır. GSTM1 null genotipi, GSTT1 null genotipi ve GSTP1 Val105 alleli ilişkili akut lösemi risklerinin OR değerleri sırasıyla 1.22 (95% CI 1.07–1.38), 1.19 (95% CI 1.00–1.41) ve 1.07 (95% CI 1.00–1.13) bulunmuştur. Çalışmada, özellikle GSTM1 ve GSTT1 null genotipleri ile akut lenfoblastik lösemi (ALL) gelişimi riskinde artış saptanmıştır (sırasıyla OR: 1.24, 95% CI = 1.17–1.31, OR: 1.30, 95% CI = 1.06–1.60). Bu sonuçlarla null genotiplerin lösemi gelişiminde rol oynayabileceği belirtilmiştir.

KML de GST ile ilgili ülkemizde araştırdığımız kadarıyla Taşpınar ve ark.'nın (103) yaptığı çalışma mevcuttur. Ancak bu çalışmada sadece GSTT1 ve GSTM1 gen polimorfizmleri araştırılmış olup GSTP1 (Ile105Val) gen polimorfizmi incelenmiştir. Bu çalışmada 107 KML olgu ile 132 kontrol olgu CYP1A1-Ile / Val, GSTT1 ve GSTM1 null genotipleri açısından karşılaştırılmıştır. CYP1A1 Val allelinin sıklığı KML olgularında %19.2 bulunurken kontrol olgularında ise %4.4 saptanmıştır. Bu çalışmada Val allelini taşınması KML riskinin arttırdığı ileri sürülmüştür (OR = 5.10, %95 CI: 2.60–9.97). GSTT1 null genotipi açısından bakıldığında ise KML hastalarında kontrol olgularına göre daha yüksek sıklıkta bulunmuş (sırasıyla, %40.2, %19.2, OR = 2.82, %95 CI: 1.58–5.05; p <0.001) olup GSTT1 mevcut genotiplerinin KML için koruyucu bir faktör olabileceğini belirtilmiştir. KML ve kontrol grubu GSTM1 null genotipi sıklığı açısından karşılaştırıldığında ise

birbirine yakın oranlarda saptanmış olup istatistiksel olarak anlamlılık bulunmamıştır(sırasıyla, %44.9, %42.3 , OR = 1.11, %95 CI: 0.66–1.86; p =0.693).

Bahsedilen çalışmalarda GST polimorfizmleri ile ilgili olarak gerek kanser gerekse lösemi ile ilgili bazı çalışmalarda anlamlılık bulunurken bazılarında ise bir ilişki saptanmamıştır. KML ve GSTP1 gen polimorfizmi ilişkisini araştıran çalışma bulunmamaktadır

Çalışmamızda cinsiyet dağılımına bakıldığında hasta grubunda 40 kadın ile 31 erkek olgu olup kontrol grubunda ise 38 kadın ile 29 erkek mevcuttu ve önceki çalışmalarla benzer özellik göstermemektedir. Bunun farklılığının nedeni ise 2008 ve 2009 yılında gelen KML olgularından rastgele seçilmesinden kaynaklanmaktadır. Yaş ortalamaları açısından değerlendirildiğinde hasta grubunun yaş ortalaması 49 ± 12.84 SS (standart sapma) olup kontrol grubunun ise 49.86 ± 10 SS bulundu. Orta yaş hastalığı olarak gösterilen KML hastalığında, bizim olguların yaş ortalamasının literatür bilgilerine paralel olarak bulundu. Cinsiyet ve yaş açısından istatistiksel olarak fark bulunmayıp grupların dağılımı homojen olarak bulundu ($p= 0.964$, $p=0.853$, sırasıyla). Ayrıca bütün olgular önceden t(9;22) translokasyonu açısından incelenmiş olup kontrol grubunda olası bir translokasyon bulunmamaktadır.

KML hastalığının tirozin kinaz aktivitesi sonucu öne çıkan bulgularından biri lökosit sayısındaki artışıdır. Bizim serimizde lökosit sayısı açısından incelendiğinde, KML hastalarının yeni tanı anındaki ortalama lökosit sayısı 129.590 ± 130.947 SS olarak bulundu. Literatür bilgilerindekilere göre uyumlu bulundu. Kontrol grubuna (11.400 ± 5.142 SS) göre kıyaslandığında ise beklendiği gibi istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı bulundu ($p < 0.05$).

GSTP1 (Ile105Val) gen polimorfizmi ile meme, prostat, hepatoselüler, özefagus, hodgkin lenfoma, kolorektal, akciğer gibi kanserler arasındaki ilişkiyi araştıran bir çok çalışma mevcuttur.

Lu ve ark.'nın (104) yaptığı bir çalışmada, GSTP1 (Ile105Val) polimorfizmi ile meme kanseri ilişkisini araştıran 30 çalışma (15,901 meme

kanserli olgu ile 18,757 kontrol olgu) incelenmiştir. Bu çalışmada yapılan analizde ilgili polimorfizmin Asya populasyonunda meme kanseri riskinin arttırabileceği belirtilmiştir(Val / Val – Ile / Ile: OR 1.27, %95 CI 1.02–1.83).

Jee ve ark.'nın (105) Kore popülasyonunda yaptıkları çalışmada sigara içen kadınlarda serviks kanseri ile GSTP1 polimorfizmi arasındaki ilişki araştırılmış ve GSTP1 Ile / Ile genotipli sigara içicilerde, GSTP1 Val alleli pozitif sigara içmeyenlere kıyasla serviks kanseri riskinin 3,9 kat arttığı bildirilmiştir. Sigara içen kadınlardaki GSTP1 polimorfizmi, servikal kanser gelişiminde daha yüksek riskle ilişkilidir. GSTP1 Ile / Ile genotipi olan kadınlarda skuamöz hücreli karsinom gelişim riskinin arttığı bildirilmiştir. Hasta ve kontrol grupları arasında GSTP1 genotip görülme sıklığı açısından önemli bir değişkenlik saptanmamıştır. (Kontrol grubu: AA (%66,8), AG (%31,6), GG (%3,9), Hasta grubu: AA (%64,3), AG (%31,6), GG (%4,1)).

Chen ve ark.'nın (106) hepatoselüler kanserli olgular ve kontrollerde yaptığı çalışmada ise 57 yaşından küçük olgularda GSTP1 Val alleli ile hepatoselüler kanseri gelişme riskinde artış saptanmıştır. Ile / Val genotipleri ve Val / Val genotipleri OR değerleri sırasıyla OR = 2.18 (95% CI: 1.09–4.26; p =0.02) ve OR = 5.64 (%95 CI: 1.02–31.18; p =0.04) olarak bulunmuştur.

GST P1 (Ile105Val) polimorfizmi incelendiğinde KML olgu grubunda 45 (%63) olguda Ile / Ile genotipi, 21 (%30) olguda Ile / Val genotipi ve 5 (%7) olguda Val / Val genotipi mevcuttu. Kontrol grubunda ise 36 (%54) bireyde Ile / Ile genotipi, 21 (%31) bireyde Ile / Val genotipi ve 10 (%15) bireyde Val / Val genotipi saptandı. Genotip dağılımı açısından istatistiksel olarak bir anlamlılık saptanmadı. Ile / Val genotipleri ve Val / Val genotipleri OR değerleri sırasıyla OR = 0.92 (%95 CI: 0.42-2.02; p =0.822) ve OR = 0.43 (%95 CI: 0.12-1.48; p =0.138) olarak bulunmuştur.

Bizim çalışmamız KML grubu ile kontrol grubunun allel sıklığı açısından analiz edildiğinde polimorfik olan Val alleli daha az oranda bulundu (sırasıyla % 22 ve % 31). İstatistik olarak incelendiğinde ise OR = 0.63 (%95 CI: 0.32-1.24; p =0.199) olup anlamlılık saptanmadı.

Bir genin allel sıklığı coğrafik ve etnik olarak değişebilmektedir. Bu açıdan kontrol grubunda polimorfik Val allel sıklığının saptanması

Türkiye'deki allel sıklığının saptanması yönünden yapılacak çalışmalara katkı sağlayacaktır. Türkiye'de GSTP1 (Ile105Val) polimorfizmini değişik hastalıklarda araştırmış çalışmaların Val allel sıklığı Tablo-10 verilmiştir.

Tablo-10: Türkiye'de araştırılmış çalışmalardaki Val allel sıklığı.

Çalışma	Karşılaştırıldığı hastalık grubu	Kontrol olgu sayısı	Val allel sıklığı (%)
Tamer ve Ark.(107)	Mide kanseri	204	38
Yalin ve Ark.(108)	Tip 2 Diabet Mellitus	98	32
Balta ve Ark.(109)	Akut Lenfoblastik Lösemi	103	44
Altaylı ve Ark.(110)	Mesane Kanseri	128	29
Çalikoğlu ve Ark.(111)	Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı	150	65
Aynacıoğlu ve Ark.(112)	Bronsiyal Astım	265	31
Bu çalışma	Kronik Myeloid Lösemi	67	31

Val allel sıklığı, bizim çalışmamızdaki orana benzer şekilde genellikle %30-45 arasında bulunmuş olup sadece Çalikoğlu ve ark. (111) %65 oranında bulunmuştur (107-110, 112). Ancak Çalikoğlu ve ark.'nın (111) çalışmasında hasta grubundaki Val allel sıklığı ise %35 oranında olduğu bildirilmiştir.

Sonuç olarak, çalışmamız KML ile GSTP1 (Ile105Val) gen polimorfizmi ilişkisini inceleyen bu çalışma ilk çalışmadır. Bu konuda yapılacak benzer çalışmaların yapılmasıyla elde edilen bilgilerle hastalığın tanı, tedavi ve korunma açısından yol gösterici olacaktır. Bu çalışmada, KML ile GSTP1 (Ile105Val) gen polimorfizmi arasında anlamlı bir ilişki

saptanmamakla birlikte diğer polimorfizm çalışmalarıyla kıyasladığımızda olgu sayımız sınırlı kalmaktadır. Bu açıdan varmış olduğumuz sonucun daha geniş olgu sayılı çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir. Ayrıca GST genine ait diğer tek nükleotid polimorfizmleri ile KML arasında ilişki olup olmadığını belirlemek için daha büyük serilerde yapılmış çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Ekmekçi A, Konaç A, Önen İ. Gen polimorfizmi ve kansere yatkınlık. Marmara Medical Journal 2008;21;282-95.
2. Öktem S, Özhan M. Apoptozisin önemi. Toraks Dergisi, 2001; 2: 91-5.
3. Deligezer U, Akışık EE, Dr. Dalay N. Gen polimorfizm analizinde Lightcycler Floresan PCR tekniğinin kullanılması: myeloid lösemili çocuk ve yetişkin hastalarda MTHFR C677T gen polimorfizm dağılımının belirlenmesi. Türk Onkoloji Dergisi 2004;19:134-9
4. Sinnet D, Krajnovic M, Labuda D . Genetic susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia . Leuk Lymphoma 2000, 38,447-62.
5. Ketterer B, Harris JM, Talaska G, Meyer DJ, Pemble SE, Taylor JB, Lang NP, Kadlubar FF. The Human Glutathione S-Transferase Supergene Family, Its Polymorphism, and Its Effects on Susceptibility to Lung Cancer. Env Health Persp,1992.98,87-94.
6. Ekinci M. Bronşiyal astımlı çocuklarda glutatyon-S-transferaz gen polimorfizminin bir risk faktörü olarak belirlenmesi. (Uzmanlık Tezi). İstanbul. Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi;2006.
7. Kabarowski JH, Witte ON. Consequences of BCR-ABL Expression within the hematopoietic stem cell in chronic myeloid leukemia. Stem Cells 2000;18:399-408.
8. O'Dwyer ME, Mauro MJ, Druker BJ. Recent advancements in the treatment of chronic myelogenous leukemia. Annu Rev Med 2002;53:369-81.
9. <http://www.en.wikipedia.org/wiki/Haematopoiesis>. Erişim Tarihi: 30.08.2010.
10. Tefferi A, Vardiman JW. Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms: the 2008 World Health Organization criteria and point-of-care diagnostic algorithms. Leukemia. 2008;22:14-22.
11. Nowell PC and Hungerford DA. A minutes chromosome in human granulocyte leukemia. Science 1960,132:1497.
12. Bernstein R. Cytogenetics of chronic myelogenous leukemia. Semin Hematol 1988;25:20-34.
13. <http://www.molecularonc.com/mor/images/mor010209fig1.jpg> Erişim Tarihi: 30.08.2010.
14. Sawyers C. Chronic myeloid leukemia. N Engl J Med 1999; 340:1330-40.
15. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, Brunning RD, Borowitz MJ, Porwit A, Harris NL, Le Beau MM, Hellström-Lindberg E, Tefferi A, Bloomfield CD. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. Blood. 2009;114:937-51

16. Faderl S, Talpaz M, Estrov Z, Kantarjian HM. Chronic Myelogenous Leukemia: Biology and Therapy. *Ann Intern Med.* 1999; 131:207-19.
17. Faderl S, Talpaz M, Estrov Z, O'Brien S, Kurzrock R, Kantarjian HM. The biology of chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med.* 1999;341:164-72.
18. Millot F, Traore P, Guilhot J, Nelken B, Leblanc T, Leverger G, et al. Clinical and biological features at diagnosis in 40 children with chronic myeloid leukemia. *Pediatrics* 2005;116:140-3.
19. Court Brown WM, Doll R. Adult leukemia. *Br Med J* 1960; 1: 1753.
20. Boise Jr JD, Day NE, Anderson A. Second cancers following radiation treatment for cervical cancer. *J Natl Cancer Inst* 1985;74:955.
21. Ichimaru M, Ishimaru T, Belsky JL. Incidence of leukemia in atomic bomb survivors belonging to a fixed cohort in Hiroshima and Nagasaki, 1950–71. Radiation dose, years after exposure, age at exposure, and type of leukemia. *J Radiat Res (Tokyo)* 1978;19:262–82.
22. Frazer R, Irvine AE, McMullin MF. Chronic Myeloid Leukaemia in The 21st Century. *Ulster Med J* 2007;76:8-17.
23. Goldman JM, Melo JV. Chronic myeloid leukemia – advances In biology and new approaches to treatment. *New Engl J Med* 2003;349:1451-64.
24. Druker BJ, O'Brien SG, Cortes J, Radich J. Chronic myelogenous leukemia. *Hematology* 2002;1:111-35.
25. Deiniger MW, Goldman JM, Melo JV. The molecular biology of chronic myeloid leukemia. *Blood* 2000;96:3343-56.
26. Greer JP, Rodgers GM, Foerster J, Paraskevas F, Lukens JN and Glader B. (Eds). *Wintrobe's Clinical Hematology*.:11rd edition. Lipincott Williams&Wilkins, 2004.
27. http://www.osmanilhan.com/kronik_miyelosit.pdf Erişim Tarihi: 30.08.2010.
28. Appleby N, Burke E, Yuran TA , Neary E. Chronic myeloid leukaemia: molecular abnormalities and treatment options. *Trinity Student Medical Journal* 2005;6:45-51.
29. Reid T. Cytogenetics – in colour and digitized. *New Engl J Med* 2004;350 16:1597-600.
30. Braziel RM, Shipp MA, Feldman AL, Espina V, Winters M, Jaffe ES, Petricoin EF 3rd, Liotta LA. Molecular diagnostics. *Hematology* 2003;1:279-93.
31. Haferlach C, Rieder H, Lillington DM, et al. Proposals for standardized protocols for cytogenetic analyses of acute leukemias, chronic lymphocytic leukemia, chronic myeloid leukemia, chronic myeloproliferative disorders, and myelodysplastic syndromes. *Genes Chromosomes Cancer.* 2007; 46:494-9.
32. Landstrom, AP, Tefferi, A. Fluorescent in situ hybridization in the diagnosis, prognosis, and treatment monitoring of chronic myeloid leukemia. *Leuk Lymphoma.* 2006;47:397-402.
33. Lundan T. Novel prognostic factors in chronic myeloid leukemia (Academic dissertation). Helsinki: Helsinki University Central Hospital;2008.

34. Huntly BJ, Bench A, Green AR. Double jeopardy from a single translocation: deletions of the derivative chromosome 9 in chronic myeloid leukemia. *Blood* 2003;102:1160-8.
35. Lee DS, Lee YS, Yun YS. et al. A study on the incidence of ABL gene deletion on derivative chromosome 9 in chronic myelogenous leukemia by interphase fluorescence in situ hybridization and its association with disease progression. *Genes Chromosomes Cancer* 2003; 37:291-9.
36. Huret JL. Complex translocations, simple variant translocations and Ph-negative cases in chronic myelogenous leukaemia. *Hum Genet* 1990; 85:565-568.
37. Sinclair PB, Nacheva EP, Leversha M, et al. Large deletions at the t(9;22) breakpoint are common and may identify a poor-prognosis subgroup of patients with chronic myeloid leukemia. *Blood* 2000;95:738-43.
38. Huntly BJ, Bench A, Green AR. Double jeopardy from a single translocation: deletions of the derivative chromosome 9 in chronic myeloid leukemia. *Blood* 2003; 102:1160-8.
39. Herens C, Tassin F, Lemaire V, et al. Deletion of the 5'-ABL region: a recurrent anomaly detected by fluorescence in situ hybridization in about 10% of Philadelphia-positive chronic myeloid leukaemia patients. *Br J Haematol* 2000; 110:214-6.
40. Tien SL, Rudduck-Sivaswaren C, Lim P, Lim E, Lie DK, Tan PH, Lee AS. High incidence of derivative chromosome arm 9q deletions in Asian chronic myelogenous leukemia. *Genes Chromosomes Cancer* 2005;42:433-4.
41. Xinh PT, Vu HA, Nghia H, Binh NT, Van Be T, Van Binh T, Tokunaga K, Sato Y. Coexistence of Philadelphia chromosome positive cells with and without der(9) deletion in a patient with chronic myelogenous leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 2006; 164:122-7.
42. Özbey Ü, Yüce H, Elyas H. Kronik myeloid lösemili hastalarda kromozomal anomalilerin belirlenmesi için sitogenetik ve fish tekniği uygulamaları. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*. 2006; 20: 383 – 9.
43. Ebert BL, Golub TR. Genomic approaches to hematologic malignancies. *Blood*. 2004;104:923-32.
44. Schoch C, Schnittger S, Bursch S, Gerstner D, Hochhaus A, Berger U, Hehlmann R, Hiddemann W, Haferlach T. Comparison of chromosome banding analysis, interphase- and hypermetaphase-FISH, qualitative and quantitative PCR for diagnosis and for follow-up in chronic myeloid leukemia: a study in 350 cases. *Leukemia* 2002;16 1:53-9.
45. Deininger MW. Management of early stage disease. *Hematology* 2005;1:174-82.
46. Lowenberg B. Minimal residual disease in chronic myeloid leukemia. *New Engl J Med* 2003;349:15:1399-401.
47. Melo JV, Hughes TP, Apperley JF. Chronic myeloid leukemia. *ASH Education Book*, 2003,132-52.
48. Hoffman R, editors, *Hematology, Basic Principles and Practice*, 3rd Edition, Pennsylvania, Churchill Livingstone, 2000.

49. Hehlmann R, Hochhaus A, Baccarani M. Chronic myeloid leukaemia. *Lancet*. 2007; 370:342-50.
50. Kujawski LA, Talpaz M. The role of interferon-alpha in the treatment of chronic myeloid leukemia. *Cytokine & Growth Factor Reviews*. 2007; 18:459-71.
51. Schindler T, Bornmann W, Pellicena P, Miller WT, Clarkson B, Kuriyan J. Structural mechanism for STI-571 inhibition of abelson tyrosine kinase. *Science*. 2000; 289:1938-42.
52. Nagar B, Bornmann WG, Pellicena P, et al. Crystal structures of the kinase domain of c-Abl in complex with the small molecule inhibitors PD173955 and imatinib (STI-571). *Cancer Res* 2002; 62:4236-43.
53. Deininger MW, Goldman JM, Lydon N, Melo JV. The tyrosine kinase inhibitor CGP57148B selectively inhibits the growth of BCR-ABL-positive cells. *Blood* 1997; 90:3691-8.
54. Capdeville R, Silberman S. Imatinib: a targeted clinical drug development. *SeminHematol* 2003, 40: 15-20.
55. Grathwohl A. Prognostic factors in chronic myeloid leukemia allografting. *Seminar Hematol* 2003, 40:13-21.
56. Apperley JF. Part II: Management of resistance to imatinib in chronic myeloid leukaemia. *Lancet Oncol* 2007; 8:1116-28.
57. Commandeur JNM, Stijntjes GJ, Vermeulen NPE. Enzymes and transport systems involved in the formation and disposition of glutathione S-conjugates. *Phar Rev* 1995; 47: 271-330.
58. Hayes JD, Pulford DJ. The Glutathione S-Transferase Supergene Family: Regulation of GST and the Contribution of the Isoenzymes to Cancer Chemoprotection and Drug Resistance.' *Crit Rev Biochem Mol Biol* 1995;30:445-600.
59. Seidegard J, Ekström G. The Role of human glutathione-S-transferases and epoxide hydrolases in the metabolism of xenobiotics. *Environ Health Perspect* 1997;105:791-799.
60. Hirvonen A. Polymorphisms of xenobiotic-metabolizing enzymes and susceptibility to cancer. *Environ Health Perspect* 1999;107:37-47.
61. Tozkoparan B, Aytaç SP. Kanser kemoterapisinde terapötik hedef olarak glutatyon S-transferazlar. *Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Dergisi* 2007;27:139-64.
62. Kıran B. Serviks kanserinde glutatyon-s-transferazların (GSTM1, GSTT1 ve GSTP1) ve Toll Like Reseptör-9 gen polimorfizmlerinin incelenmesi. Bursa. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi;2009
63. Menteş G, Ersöz B (Çeviri Editörleri). *Harper'ın Biyokimyası*, İstanbul, Barış Kitabevi, 1990, syf. 811-817
64. Polat M. Akciğer kanseri hastalarında ve sağlıklı bireylerde gstm1 gen delesyonunun polimeraz zincir reaksiyonu yöntemiyle araştırılması(Yüksek Lisans Tezi). Isparta . Süleyman Demirel Üniversitesi;2005.
65. Lee SA, Kim JW, Roh JW, et al. Genetic polymorphisms of GSTM1, p21, p53 and HPV infection with cervical cancer in Korean women. *Gynecol Oncol* 2004;93:14-8.
66. Strange RC, Spiteri MA, Ramachandran S, Fryer AA,. Glutathione-S-Transferase Family of Enzymes. *Mutation Research*, 2001;482:21-6.

67. Singh H, Sachan R, Devi S, Pandey SN, Mittal B. Association of GSTM1, GSTT1 and GSTM3 gene polymorphisms and susceptibility to cervical cancer in a North Indian population. *Am J Obstet Gynecol* 2008;198:303e1-303e6.
68. Uedaa M, Hungb YC, Teraia Y, Saitoc J, Nunobikid O, Nodad S, Ueki M. Glutathione-S-transferase and p53 polymorphisms in cervical carcinogenesis. *Gynecol Oncol* 2005; 96:736–40.
69. Rebbeck TR. Molecular epidemiology of the human glutathione S-transferase genotypes GSTM1 and GSTT1 in cancer susceptibility. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1997; 6: 733-43.
70. Chen C, Madeleine MM, Weiss NS, Daling RJ. Glutathione S-transferase M1 genotypes and the risk of squamous carcinoma of the cervix: a population-based case-control study. *Am J Epidemiol* 1999; 150:568-72.
71. Sobti RC, Kaur S, Kaur P, Singh J, Gupta I, Jain V, Nakahara A. Interaction of passive smoking with GST (GSTM1, GSTT1, and GSTP1) genotypes in the risk of cervical cancer in India. *Cancer Gen Cyto* 2006;166:117–123.
72. Goto S, Iida T, Cho S, et al. Overexpression of glutathione S-transferase pi enhances the adduct formation of cisplatin with glutathione in human cancer cells. *Free Radic Res* 1999;31:549–58.
73. Nakagawa K, Saijo N, Tsuchida S, et al. Glutathione-S-transferase pi as a determinant of drug resistance in transfectant cell lines. *J Biol Chem*. 1990;265:4296–301.
74. Strange RC, Jones PW, Fryer AA. Glutathione S-transferase: genetics and role in toxicology. *Toxicol Lett* 2000;112–113:357–63.
75. Ali-Osman F, Brunner JM, Kutluk TM, et al. Prognostic significance of glutathione S-transferase pi expression and subcellular localization in human gliomas. *Clin Cancer Res* 1997;3(12 pt 1):2253–61.
76. Armstrong RN. Glutathione S-transferases: reaction mechanism, structure, and function. *Chem Res Toxicol* 1991;4: 131–40.
77. Ali-Osman F, Akande O, Antoun G, Mao JX, Buolamwini J. Molecular cloning, characterization, and expression in *Escherichia coli* of fulllength cDNAs of three human glutathione S-transferase Pi gene variants. Evidence for differential catalytic activity of the encoded proteins. *J Biol Chem* 1997;272:10004–12.
78. Hu X, Ji X, Srivastava SK, Xia H, Awasthi S, Nanduri B, Awasthi YC, Zimniak P, Singh SV Mechanism of differential catalytic efficiency of two polymorphic forms of human glutathione S-transferase P1-1 in the glutathione conjugation of carcinogenic diol epoxide of chrysene. *Arch Biochem Biophys* 1997;345:32–8.
79. Sundberg K, Johansson AS, Stenberg G, Widersten M, Seidel A, Manner-vik B, Jenstrom B Differences in the catalytic efficiencies of allelic variants of glutathione transferase P1-1 towards carcinogenic diol epoxides of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Carcinogenesis* 1998;19:433–6.
80. Malats N, Camus-Radon AM, Nyberg F, Ahrens W, Constantinescu V, Mukeria A, et al. Lung cancer risk in nonsmokers and GSTM1 and

- GSTT1 genetic polymorphism. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000;9: 827–33.
81. Kim JW, Lee CG, Park YG, et al. Combined analysis of germline polymorphisms of p53, GSTM1, GSTT1, CYP1A1, and CYP2E1. *Cancer*. 2000;88:2082-91.
 82. Reszka E, Wasowicz W, Gromadzinska J. Genetic polymorphism of xenobiotic metabolising enzymes, diet and cancer susceptibility. *Br J Nutr* 2006;96:609–19.
 83. Abbas A, Delvinquiere K, Lechevrel M, Lebailly P, Gauduchon P, Launoy G, Sichel F. GSTM1, GSTT1, GSTP1 and CYP1A1 genetic polymorphisms and susceptibility to esophageal cancer in a French population: different pattern of squamous cell carcinoma and adenocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2004;10:3389-93.
 84. Björk J, Albin M, Welinder H, et. al. Are occupational, hobby, or lifestyle exposures associated with Philadelphia chromosome positive chronic myeloid leukaemia? *Occup Environ Med* 2001;58:722-7.
 85. Linet M, Cartwright R. The leukemias. In: Schottenfeld D, Fraumeni J, (eds). *Cancer epidemiology and prevention*, 2nd edition. New York: Oxford University Press, 1996:841–92.
 86. Pedersen-Bjergaard J, Brøndum-Nielsen K, Karle H, et al. Chemotherapy-related—and late occurring—Philadelphia chromosome in AML, ALL, and CML. Similar events related to treatment with DNA topoisomerase II inhibitors? *Leukemia* 1997;11:1571–4.
 87. Mele A, Szklo M, Visani G, et al. Hair dye use and other risk factors for leukemia and pre-leukemia: a case-control study. *Am J Epidemiol* 1994;139:609–19.
 88. Hayes RB, Yin SN, Dosemeci M, et al. Benzene and the dose-related incidence of hematologic neoplasms in China. Chinese Academy of Preventive Medicine: National Cancer Institute Benzene Study Group. *J Natl Cancer Inst* 1997;89:1065–71.
 89. Kheifets LI, Afifi AA, Buffler PA, et al. Occupational electric and magnetic field exposure and leukemia. A metaanalysis. *J Occup Environ Med* 1997;39:1074–91.
 90. Gentile G, Mele A, Monarco B, et al. Hepatitis B and C viruses, human T-cell lymphotropic virus types I and II, and leukemias: a case-control study. The Italian Leukemia Study Group. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1996;5:227–30.
 91. Seidegard J, Ekström G. The Role of human glutathione-S-transferases and epoxide hydrolases in the metabolism of xenobiotics. *Environ Health Perspect* 1997;105:791-9
 92. Hirvonen A. Polymorphisms of xenobiotic-metabolizing enzymes and susceptibility to cancer. *Environ Health Perspect* 1999; 107: 37-47.
 93. Mannervik B. The isoenzymes of glutathione transferase. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol* 1985;57:357-417.
 94. Arslan S, Budak M, Bardakçı S. GSTM1 Polimorfizmi İle Primer Beyin Tümörleri Arasındaki İlişkinin Araştırılması. *C.Ü. Fen Bilimleri Dergisi* 2005;26:1-10.

95. Au WW. Life style, environmental and genetic susceptibility to cervical cancer. *Toxicology* 2004;198:117-120.
96. Uedaa M, Hungb YC, Teraia Y, Saitoc J, Nunobikid O, Nodad S, Ueki M. Glutathione-S-transferase and p53 polymorphisms in cervical carcinogenesis. *Gynecol Oncol* 2005;96:736–40.
97. Lee SA, Kim JW, Roh JW, Choi JY, Lee KM, Yoo KY, et al. Genetic polymorphisms of GSTM1, p21, p53 and HPV infection with cervical cancer in Korean women. *Gynecol Oncol* 2004;93:14–8.
98. Mo Z, Gao Y, Cao Y, Gao F, Jian L. An updating meta-analysis of the GSTM1, GSTT1, and GSTP1 polymorphisms and prostate cancer: a HuGE review. *Prostate* 2009;69:662-88.
99. Moaven O, Raziee HR, Sima HR, Ganji A, Malekzadeh R, A'rabi A, Abdollahi A, Memar B, Sotoudeh M, Naseh H, Nekoui N, Razavipour A, Gholamin M, Dadkhah E, Farshchian M, Abbaszadegan MR. Interactions between Glutathione-S-Transferase M1, T1 and P1 polymorphisms and smoking, and increased susceptibility to esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Epidemiol* 2010 ;34:285-90.
100. Kim HN, Kim NY, Yu L, Kim YK, Lee IK, Yang DH, Lee JJ, Shin MH, Park KS, Choi JS, Kim HJ. Polymorphisms of drug-metabolizing genes and risk of non-Hodgkin lymphoma. *Am J Hematol* 2009;84:821-5.
101. Lourenço GJ, Néri IA, Sforzi VC, Kameo R, Lorand-Metze I, Lima CS. Polymorphisms of glutathione S-transferase Mu 1, glutathione S-transferase theta 1 and glutathione S-transferase Pi 1 genes in Hodgkin's lymphoma susceptibility and progression. *Leuk Lymphoma* 2009;50:1005-9.
102. Ye Z, Song H. Glutathione s-transferase polymorphisms (GSTM1, GSTP1 and GSTT1) and the risk of acute leukaemia: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Cancer*. 2005;41:980-9.
103. Taspinar M, Aydos SE, Comez O, Elhan AH, Karabulut HG, Sunguroglu A. CYP1A1, GST gene polymorphisms and risk of chronic myeloid leukemia. *Swiss Med Wkly*. 2008;138:12-7.
104. Lu S, Wang Z, Cui D, Liu H, Hao X. Glutathione S-transferase P1 Ile105Val polymorphism and breast cancer risk: a meta-analysis involving 34,658 subjects. *Breast Cancer Res Treat*. 2010 Jun 5. [Epub ahead of print].
105. Jee SH, Lee JE, Kim S, et. al. GSTP1 polymorphism, cigarette smoking and cervical cancer risk in Korean women. *Yonsei Med J* 2002;43:712-16.
106. Chen YL, Tseng HS, Kuo WH, Yang SF, Chen DR, Tsai HT. Glutathione S-Transferase P1 (GSTP1) gene polymorphism increases age-related susceptibility to hepatocellular carcinoma. *BMC Med Genet* 2010;11:46.
107. Tamer L, Ateş NA, Ateş C, Ercan B, Elipek T, Yildirim H, Camdeviren H, Atik U, Aydin S. Glutathione S-transferase M1, T1 and P1 genetic polymorphisms, cigarette smoking and gastric cancer risk. *Cell Biochem Funct* 2005 ;23:267-72.

108. Yalin S, Hatungil R, Tamer L, Ates NA, Dogruer N, Yildirim H, Karakas S, Atik U. Glutathione S-transferase gene polymorphisms in Turkish patients with diabetes mellitus. *Cell Biochem Funct* 2007;25:509-13.
109. Balta G, Yuksek N, Ozyurek E, Ertem U, Hicsonmez G, Altay C, Gurgey A. Characterization of MTHFR, GSTM1, GSTT1, GSTP1, and CYP1A1 genotypes in childhood acute leukemia. *Am J Hematol* 2003;73:154-60.
110. Altayli E, Gunes S, Yilmaz AF, Goktas S, Bek Y. CYP1A2, CYP2D6, GSTM1, GSTP1, and GSTT1 gene polymorphisms in patients with bladder cancer in a Turkish population. *Int Urol Nephrol* 2009;41:259-66.
111. Calikoglu M, Tamer L, Ates Aras N, Karakaş S, Ercan B. The association between polymorphic genotypes of glutathione S-transferases and COPD in the Turkish population. *Biochem Genet* 2006;44:307-19
112. Aynacioglu AS, Nacak M, Filiz A, Ekinci E, Roots I. Protective role of glutathione S-transferase P1 (GSTP1) Val105Val genotype in patients with bronchial asthma. *Br J Clin Pharmacol* 2004;57:213-7.

TEŞEKKÜR

Tıbbi Genetik uzmanlık eğitimim boyunca yetiŐmemde emeği olan, bilgi ve tecrübelerinden daima faydalandığım baŐta tez danıŐmanım Doç. Dr. Tahsin YAKUT olmak üzere değerli hocalarım Yard. Doç. Dr. Tuna GÜLTEN ve Yard. Doç. Dr. Hakan CANGÜL'e; tez çalıŐmam sırasında bana yardımcı olan Uludağ Üniversitesi Hematoloji Bilim Dalı Öğretim üyesi Prof. Dr. Rıdvan ALİ hocama; birlikte çalıŐmaktan büyük keyif aldığım tüm araştırma görevlisi arkadaşlarıma ve tüm Tıbbi Genetik Anabilim Dalı çalıŐanlarına teşekkür ederim.

Ayrıca beni yetiŐtirip bugünlere getiren sevgili aileme ve bana her zaman destek olan değerli eŐim Seher KARKUCAK'a teşekkür ederim.

ÖZGEÇMİŞ

17.01.1982 tarihinde Samsun'da doğdum. İlköğrenimimi Samsun Çarşamba Cumhuriyet İlkokulu'nda; orta öğrenimimi Çarşamba Anadolu Lisesi'nde;lise öğrenimimi Erzincan Nevzat Ayaz Fen Lisesi'nde tamamladım. 2000 yılında İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi'ni kazandım. 2006 yılında tıp fakültesinden mezun oldum. Aynı yıl yapılan tıpta uzmanlık sınavıyla Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimi yapmaya hak kazandım. Evliyim.