



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

**BEYİN TÜMÖRÜNDE GST-T1, GST-M1 VE P53
PROTEİNLERİNİN ROLÜ**

**ONUR DİRİCAN
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

DOKTORA TEZİ

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Serpil OĞUZZÜZÜN**

KIRIKKALE-2022



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

**BEYİN TÜMÖRÜNDE GST-T1, GST-M1 VE P53
PROTEİNLERİNİN ROLÜ**

**ONUR DİRİCAN
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

DOKTORA TEZİ

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN**

KIRIKKALE-2022

Onur DİRİCAN tarafından hazırlanan “BEYİN TÜMÖRÜNDE GST-T1, GST-M1 VE P53 PROTEİNLERİNİN ROLÜ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Kırıkkale Üniversitesi Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN

Biyoloji, Kırıkkale Üniversitesi

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

İmza.....

Başkan : Prof. Dr. Nursel GÜL

Biyoloji, Ankara Üniversitesi

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

İmza.....

Üye : Prof. Dr. Nazife Yiğit KAYHAN

Biyoloji, Kırıkkale Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

İmza.....

Üye : Prof. Dr. Gülçin GÜLER ŞİMŞEK

Tıbbi Patoloji, Sağlık Bilimleri Üniversitesi

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

İmza.....

Üye : Prof. Dr. Tülay ÇOBAN

Farmasötik Toksikoloji, Ankara Üniversitesi

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

İmza.....

Tez Savunma Tarihi: 23/Haziran/2022

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

.....

Prof. Dr. Recep ÇALIN

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü



*Canım oğlum
Ali Baran Dirican'a
İthafen...*

ETİK BEYANI

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

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

Onur DİRİCAN
23/Haziran/2022

ÖZET

BEYİN TÜMÖRÜNDE GST-T1, GST-M1 VE P53 PROTEİNLERİNİN ROLÜ

DİRİCAN, Onur

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi

Danışman: Prof. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN

HAZİRAN 2022, 111 sayfa

Oldukça riskli ve önemli kanser türlerinden biri olan beyin kanserinde tümör baskılayıcı p53 ile detoksifikasyon mekanizmasında görev alan Glutasyon S-Transferaz (GST) enzim ailesinin üyelerinin rollerinin araştırılması amaçlanmıştır. Beyin tümörlü hasta dokularında mitokondriyal GST izozimlerinden GST Mü-1 (GSTM1), GST Teta-1 (GSTT1) ve p53'ün protein ekspresyonları ile yine bu izozimlerin moleküler düzeyde delesyon ve nokta mutasyon (SNP) analizleri yapılarak enzim düzeyindeki ekspresyon durumları karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. Bu veriler hastaların bazı demografik ve klinik verileri ile de istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Çalışmamızda 142 beyin tümörlü hastanın 83 (%58,45)'i erkek, 59 (41,55)'u kadın hastalardan oluşmakta olup, hastaların yaş ortalamaları 49,44±8,09 dur. İmmunohistokimyasal analizler sonucu, GST-T ekspresyonu tümörlü dokularda normal dokulara göre 9,46 kat artışa neden olurken, bu artışın tümörlü dokulara sahip hastalarda hayatta kalım oranının ise anlamlı derecede azaldığı gözlemlenmiştir. GST-T protein ekspresyonunda, 60 yaş üzeri hastalarda anlamlı derecede ekspresyon artışı gözlemlenirken, kemoterapi tedavisi bu enzim ekspresyonunun artışına neden olduğu da belirlenmiştir. Normal dokularda tümörlü dokulara oranla diğer parametrelerden bağımsız olarak daha fazla p53 protein ekspresyonuna rastlandı. Özellikle hastaların GST-M delesyon durumları anlamlı şekilde gen kaybına uğrayarak, önemli ölçüde “null” allen frekansı gözlemlenmiştir ($p<0,005$). GST-M gen bölgesinde beyin tümörlü hastalarda 66(%44,3) “null” allele rastlanırken, GST-T gen bölgesinde bu sayı 7 (%4,9) şeklinde gözlemlenmiştir. GSTM1 null allel frekansı kadınlarda erkeklere göre daha sık olduğu gözlemlenmiştir [OR: 1.640 (0.837-3.215)]. GSTM1 “null” allel frekansına radyoterapi alan hastalarda almayanlara göre daha sık olduğu belirlenmiştir [OR=1.076 (0.548-2.114)]. GSTT1 “null” allel sıklığı kadınlarda daha yüksek olduğu belirlenmiştir [OR=1.105 (0.238-5.130)]. GSTT1 “null” allel frekansına 60 yaşın altındaki hastalarda daha yüksek olarak gözlemlenmiştir [OR=1.364 (0.255-7.296)]. GSTT1 “null” allel frekansına ise alkol tüketicilerinde daha sık olarak rastlanmıştır [OR=1.564 (0.175-14.016)]. GSTT1 “null” alleli, radyoterapi alan hastalarda daha sık şekilde gözlemlenmiştir [OR=1.212 (0.261-5.631)]. GSTT1 “null” allel frekansı kemoterapi alan hastalarda daha sık gözlemlenmiştir [OR=1.413 (0.261-7.653)]. GSTT1 “null” genotipi yaşayan hastalarda daha az sıklıkta bulunmuştur [OR=0.704 (0.151-3.278)]. Tümör supresor p53 geninin genotip dağılımı şu şekilde belirlenmiştir: Arg/Pro (Heterozigot) %58.3. Arg /Arg (Vahşi Tip) %25.8 ve Pro/Pro (Mutant Tip) %15,8 şeklinde bulunmuştur. Pro kodlayan allel sıklığı ise hasta grubunda 0.45, kontrol grubunda 0.37

olarak bulunmuştur. Hasta grubunda kontrol grubuna göre Arg/Pro, Arg/Arg'dan 1.767 kat daha yüksektir. Pro/Pro, kontrol grubuna göre, hasta grubunda Arg/Arg'dan 1.839 kat daha yüksekti. Hastaların kontrol grubuna göre p53 ekzon4 kodon72 (SNP) gen bölgesinde guanin/sitozin dönüşümünden kaynaklı, mutasyon bir miktar yüksek olmasına rağmen anlamlı bir fark bulunamamıştır. Önemli rollerine rağmen, henüz bu enzimlerin ve gen bölgelerinin, beyin tümörü arasındaki ilişki üzerine yapılmış özellikle Türkiye’de geniş kapsamlı çalışma yoktur. Çalışmanın bölgesel anlamda yapılan çalışmalar kapsamında önemli bir yere sahip olduğu göz önüne alındığında, orijinalite açısından özgün değerinin yüksek olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Beyin Tümörü, GST-M1, GST-T1, p53, İmmunhistokimya, Enzim Ekspresyonu, Faz II Enzimleri, Kantitatif-PCR, SNP.

ABSTRACT

ROLE OF GSTM1, GSTT1, P53 PROTEINS IN BRAIN TUMOR TISSUES

DIRİCAN, Onur

Kırıkkale University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology, Ph.D. Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN

July 2022, 111 pages

It is aimed to investigate the roles of the members of the Glutathione S-Transferase (GST) enzyme family, which is involved in the detoxification mechanism with the tumor suppressor p53 in brain cancer, which is one of the most risky and important cancer types. Protein expressions of mitochondrial GST isozymes GST Mü-1 (GSTM1), GST Theta-1 (GSTT1) and p53 in patients with brain tumor and deletion and point mutation (SNP) analyzes of these isozymes at the molecular level were evaluated comparatively. These data were statistically evaluated with some demographic and clinical data of the patients. In our study, 83 (58.45%) of 142 brain tumor patients were male and 59 (41.55) were female, and the mean age of the patients was 49.44 ± 8.09 . As a result of immunohistochemical analyzes, GST-T expression caused an increase of 9.46 times in tumor tissues compared to normal tissues, while it was observed that this increase significantly decreased the survival rate in patients with tumor tissues. While a significant increase in GST-T protein expression was observed in patients over 60 years of age, it was also determined that chemotherapy treatment caused an increase in this enzyme expression. More p53 protein expression was found in normal tissues compared to tumor tissues, independent of other parameters. In particular, the GST-M deletion status of the patients suffered significant gene loss, and a significant "null" allele frequency was observed ($p < 0.005$). While 66 (44.3%) "null" alleles were found in the GST-M gene region in patients with brain tumors, this number was observed as 7 (4.9%) in the GST-T gene region. The GSTM1 null allele frequency was observed to be more frequent in females than males [OR: 1,640 (0.837-3.215)]. It was determined that it was more common in patients who received radiotherapy to the GSTM1 "null" allele frequency [OR=1.076 (0.548-2.114)]. The frequency of the GSTT1 "null" allele was found to be higher in females [OR=1.105 (0.238-5.130)]. The GSTT1 "null" allele frequency was observed to be higher in patients younger than 60 years [OR=1.364 (0.255-7.296)]. GSTT1 "null" allele frequency was found more frequently in alcohol consumers [OR=1.564 (0.175-14.016)]. The GSTT1 "null" allele was observed more frequently in patients receiving radiotherapy [OR=1.212 (0.261-5.631)]. The GSTT1 "null" allele frequency was observed more frequently in patients receiving chemotherapy [OR=1.413 (0.261-7.653)]. GSTT1 was found to be less common in patients with the "null" genotype [OR=0.704 (0.151-3.278)]. The genotype distribution of the tumor suppressor p53 gene was determined as follows: Arg/Pro (Heterozygous) 58.3%, Arg/Arg (Wild Type) 25.8% and Pro/Pro (Mutant Type) was found to be 15.8%. The

frequency of Pro-coding allele was 0.45 in the patient group and 0.37 in the control group. Arg/Pro was 1.767 times higher than Arg/Arg in the patient group compared to the control group. Pro was 1.839 times higher than Arg/Arg in the patient group compared to the control group, although the mutation due to guanine/cytosine conversion in the p53 exon4 codon72 (SNP) gene region of the patients was slightly higher, but no significant difference was found. Despite their important roles, there is not yet a comprehensive study on the relationship between these enzymes and gene regions and brain tumor, especially in Turkey. Considering its originality, it is thought to have a high original value in terms of originality.

Keywords: BrainTumor, GST-M1, GST-T1, p53, Immunohistochemistry, Expression of Enzymes, Phase II Enzymes, qPCR, SNP.



TEŞEKKÜR

Yapılmış olan bu tez çalışmasında ve doktora eğitimim boyunca benden bilimsel, maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen başta tez hocam Sayın Prof. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN olmak üzere; tez çalışmasının diagnostik yaklaşımları ve numune temininde yardımcı olan, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Sinir ve Beyin Cerrahisi Bölümünden Sayın Prof. Dr. Yusuf İZCİ'ye ve tüm klinikte ki hocalarıma; Çalışmamın patolojik değerlendirmelerinin yapılmasında yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Gülçin GÜLER ŞİMŞEK'e; tezimin istatistik hesaplamaları kısmında yardımlarını esirgemeyen Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji anabilim dalından Sayın Prof. Dr. Tülay ÇOBAN'a ve Dr. Sezen YILMAZ SARIALTIN'a; çalışmalarımın deneysel aşamalarında her türlü laboratuvar imkânını sağladığı için Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Laboratuvarları Müdürlüğüne, tez çalışmamın tamamlanmasında proje desteklerini esirgemeyen Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne, doktora eğitimim boyunca her türlü idari işlerimizde kolaylıklarını esirgemeyen Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü ve çalışanlarına teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xvi
1.GİRİŞ	1
1.1. Sinir Sistemi, Fonksiyonel Nöroanatomi ve Beynin Kısımları	7
1.1.1. Beyin	7
1.1.1.1. Frontal (Ön) Lob	10
1.1.1.2. Temporal Lob (sağ ve sol kısım)	10
1.1.1.3. Parietal Lob	11
1.1.1.4. Oksipital Lob.....	11
1.1.2. Beyincik (Cerebellum).....	12
1.1.3. Beyin Sapı (Brain Stem)	12
1.1.4. Omurilik (Medulla Spinalis)	12
1.2. Beyin ve Sinir Sistemi Kanseri.....	12
1.2.1. Epidemiyoloji.....	12
1.2.2. Etiyoloji.....	13
1.2.3. Beyin Tümörü Risk Faktörleri	14
1.2.3.1. Genetik Faktörler	14

1.2.3.2. Çevresel Faktörler	14
1.2.4. Beyin Tümörlerinin Sınıflandırılması ve Özellikleri	14
1.2.5. Patoloji	16
1.2.5.1. Malign (Kötü Huylu) Beyin Tümörleri.....	16
1.2.5.2. Bening (İyi Huylu) Beyin Tümörleri	17
1.2.6. Ksenobiyotik Mekanizması.....	18
1.2.7. I.Faz Reaksiyonları	21
1.2.8. II. Faz Reaksiyonları	22
1.2.8.1. Glutasyon-S Transferaz (GST).....	23
1.2.9. Tümör Baskılayıcı p53.....	27
1.3. Beyin Kanseriinde GST ve p53 Enzimlerinin Gen ve Protein İfadeleri...	28
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	31
2.1. Kullanılan Malzemeler	31
2.1.1. Kullanılan Laboratuvar Cihaz ve Malzemeleri.....	31
2.1.2. Kullanılan Kitler ve Kimyasal Malzemeler	32
2.1.3. Kullanılan İlgili Gen Bölgesi Primerleri ve Antikorlar	33
2.2. Materyal.....	33
2.2.1. Hasta Dokularının Toplanması ve Klinik Bilgiler	33
2.3. Yöntem	34
2.3.1. Parafine Gömülü Dokulardan Protein Ekspresyonu Tayini.....	34
2.3.1.1. İmmunohistokimyasal Boyama Yöntemi.....	34
2.3.2. Parafine Gömülü Dokulardan Mutasyon Analizi.....	35
2.3.2.1. Parafin Bloktan Elde Edilmiş Dokulardan cDNA İzolasyonu.....	35
2.3.2.2. İzole Edilen cDNA'ların Ölçümlendirilmesi	36
2.3.2.3. Çalışmada Kullanılacak Primerlerin Belirlenmesi.....	36
2.3.2.4. Real Time PCR ile Gen ifadelerinin Melting Curve Analizi	40

2.3.2.5. Dizi (Sekans) Analizi Sistemi ve Nokta Mutasyon Analizi (SNP) ..	41
2.3.3. İstatistiksel Analiz	42
3. BULGULAR	43
3.1. GST ve P53 Enzimlerinin Protein İfadelerinin Sonuçları	43
3.2. GST ve P53 Enzimlerinin Gen İfadelerinin Sonuçları	55
3.2.1. Dokulardan İzole Edilen cDNA Miktarları	55
3.2.2. GST Enzimlerinin Gen İfadeleri ve Klinik Hasta Bilgileri ile Karşılaştırılması	57
3.2.3. P53 Enzimlerinin Gen İfadeleri ve Klinik Hasta Bilgileri ile Karşılaştırılması	78
4. TARTIŞMA VE SONUÇ	85
KAYNAKLAR	95
EKLER	107
EK 1. Etik Kurul Onay Formu	107
ÖZGEÇMİŞ	108

ÇİZELGELER DİZİNİ

ÇİZELGE

Sayfa

1.1. Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ); hücresel kökene ve histolojik görünüşe göre yaptığı sınıflandırması	15
1.2. Beyin Tümörünün Evrelerine Göre Özellikleri.....	16
1.3. Faz I ve Faz II'de gerçekleşen reaksiyonlar	19
1.4. Glutasyon-S Transferaz enziminin substratları	26
2.1. Çalışmada kullanılacak GST-T1, GST-M1 ve TP53 primer yapıları	37
3.1. Çalışmada ki hasta grubuna ait demografik veriler.....	43
3.2. Çalışmada ki hasta grubuna ait klinik veriler.....	44
3.3. İmmunohistokimya metodu sonrası GST-M, GST-T ve p53 Enzim Ekspresyonlarının Skorlanma Sonrası Elde Edilen Sonuçlar ve Hastaların Klinik Verilerinin Genel Durumu.....	46
3.4. GST-M, GST-T ve p53 proteinleri için hastaların beyin tümörü ve normal dokularının immünohistokimyasal boyama skorları ve anlamlılık değerleri ..	50
3.5. Cinsiyete bağlı GST izozimleri ve p53 ekspresyon skorlamalarının istatistiksel dağılımı ve anlamlılık ifadeleri.....	51
3.6.adyoterapi tedavisi gören ve görmeyen hastalarda GST izozimleri ve p53 enzim ekspresyon ifadelerinin skorlamalarına bağlı anlamlılık dağılımları....	51
3.7.emoterapi tedavisi gören ve görmeyen hastalarda GST izozimleri ve p53 enzim ekspresyon ifadelerinin skorlamalarına bağlı anlamlılık dağılımları....	52
3.8. GST-M, GST-T ve p53 ekspresyonlarının, hastaların alkol kullanım durumlarına bağlı dağılımları	52
3.9. GST-M, GST-T ve p53 ekspresyonlarının, hastaların sigara kullanım durumlarına bağlı dağılımları	53

3.10. GST-M1, GST-T1 ve p53 hastanın hayatta kalım durumuna göre beyin tümörü ve normal dokulardaki ifadeler.	53
3.11. Lezyon lokalizasyonlarına göre GST-M1, GST-T1 ve p53 ekspresyon.....	54
3.12. 60 yaşın altında ki hastalar ile 60 yaş ve üstü hastaların GST-M, GST-T ve p53 protein ekspresyon oranlarının normal ve tümörlü dokulardaki dağılımları ...	54
3.13. İzolasyon sonrası cDNA miktarları.....	55
3.14. Beyin tümörlü hastalarda qPCR çalışması sonrası GST-T1 gen bölgelerine ait delesyon ve gen dozu ifadeleri	59
3.15. Beyin tümörlü hastalarda qPCR çalışması sonrası GST-M1 gen bölgelerine ait delesyon ve gen dozu ifadeleri	63
3.16. GST-M ve GST-T Gen bölgelerinde ki mevcut allelik gen durumları ile “null” allel durumlarının istatistiksel anlamlılık ifadeleri	67
3.17. Hastaların GST-M1 gen dozu ve delesyon bilgileri.....	67
3.18. Hastaların GSTT1 gen dozu ve delesyon bilgileri	71
3.19. GST-M1 genotiplemesinin hastaların demografik ve klinik özelliklerine göre dağılımı	75
3.20. GSTT1 genotiplemesinin hastaların demografik ve klinik özelliklerine göre dağılımı	77
3.21. Türk popülasyonunda beyin tümörü teşhisi konulmuş hastalarda ve sağlıklı kontrollerde p53 ekzon 4 kodon 72 (SNP) polimorfizminin genotipi ve allelik ifadesi.....	80
3.22. P53 genotip oranları	81
3.23. Beyin tümörlü hastalarda demografik ve klinik özellikler açısından p53 geni ekzon 4 kodon 72 bölgesinde ki allelik Arg/Arg, Arg/Pro ve Pro/Pro genotiplerinin genel ilişki durumu.....	82

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>ŞEKİL</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. Türkiye’de kanserin görülme sıklığı	4
1.2. Ülkemizde en sık görülen kanser türlerinin yaşa standardize insidans hızları (YSH)	4
1.3. Ülkemizde Beyin Kanserlerinin Yaşa Standardize İnsidans Hızlarının Cinsiyete Göre 2009-2013 Yılları Arasındaki Dağılımı.	5
1.4. Korpus kallosum	8
1.5. Beynin Genel Yapısı	9
1.6. İnsan Beyninin Genel Kısımları.....	10
1.7. Faz I ve Faz II Enzim Mekanizması	19
1.8. Glutasyon oluşum yolağı.....	24
1.9. Glutasyon Sisteminde Görevli Ezimler	25
1.10. GST izozimlerinin Spesifik Substratları	26
1.11. Glutasyon-S Transferaz Supergen Ailesi	27
2.1. GST-M1, GST-T1 ve TP53 primerlerinin aktivasyonu ve konfirmasyonu amacıyla ilgili gen bölgesine ait baz büyüklüklerinin kontrolü amaçlı elde edilen elektroforez jel görüntüsü.	39
2.2. Real Time PCR koşulları	40
3.1. İmmunohistokimyasal metod sonrası GST-M,GST-T ve p53 ekspresyonları analiz edilerek skorlanan, beyin tümörü dokularının mikroskopik görüntüsü.	45
3.2. Beyin tümürlü dokularda qPCR ile yapılan analiz sonrası Melting-Curve grafiklerinin genel görüntüsü	58

3.3. Beyin tümörlü hastalarda p53 gen bölgesinde dizi analizi sonrası SNP (Single Nucleotide Polymorphism) metodu ile elde edilen üç farklı genotipin dizi analizi sisteminde ki genel görüntüsü.	79
--	----



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

Δ	Delta
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat
β	Beta
μ	Mikron
χ^2	Ki kare (Chi-square)

KISALTMALAR

ACN	Asetonitril
cDNA	Komplementer deoksiribo nükleik asit
CPG	Kontrollü por cam
ddNTP	Dideoksinükleotid trifosfat
DNA	Deoksiribo nükleik asit
dNTP	Deoksinükleotid trifosfat
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
GST	Glutasyon-S Transferaz
GST-M	Glutasyon-S Transferaz-Mu
GST-T	Glutasyon-S Transferaz-Teta
HPLC	Yüksek performans likid kromatografisi
IR	Güven aralığı
NCBI	Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi
OR	Olasılık (Odds) oranı
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
qPCR	Kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu
SEM	Ortalamanın standart hatası
SNP	Tek nükleotid polimorfizmi
SPSS	Sosyal bilimler istatistik paket yazılımı
TEAA	Trietilaminasetat
T _m	Melting temprature
TNM	Tümör nodül metastaz (Derecelendirme değeri)

1.GİRİŞ

Tarihte Hippocrates'ten beri insan düşünce ve hareketlerinin kökeni ve davranışlarının incelenme süreci devam etmektedir. Hippocrates bu durumun köken aldığı tüm duygu ve düşüncelerin beyinden kaynaklandığını nörobiyolojik ilk kez ortaya koymuştur. Moleküler yaşam bilimleri her geçen gün yeni çalışmalar ile moleküllerin ve bunların gerisinde bulunan genlerin belirli hastalıkların sorumluluğunda olduğunu, genlerde karşılaşılan anomallikler ve bu anomalliklerin beyinin işlevini yerine getirmesinde ki etkileri, yapılan bilimsel çalışmalarla da gösterilmektedir. Her geçen gün gelişen teknolojik olanaklar ile beyin görüntüleme tekniklerinin geliştirilmesi sağlanmaktadır. Bu gelişmeler ile insan davranışlarının, düşünce ve duysal aktivitelerin beyindeki etkileşimleri konusunda karşılıklarının sağlanması hakkında oldukça gelişme kaydetmesinin önünü açmıştır. İnsanların tüm yaşam içersinde karşılaştığı duyguların beyinde aktive olan bölgenin keşfedilmesinin yanı sıra, her bir duygu esnasında fizyolojik olarak karşılaşılan nörotransmitter sistemleri arasında ki ilişkili durumlar ile netliğe kavuşmuştur. Genel olarak beyin, tüm bu ifadelerin metabolik hareketler içerisinde ki yöneticisidir. Ayrıca tüm çevrenin algılanmasını, bu durumu veriye dönüştürerek hafızada tutulmasını yöneten, edinilen bilgiyi işleyen bir organdır. Beynin tüm bu özellikleri, insanın davranışının ve kişiliğinin eşsiz ve kişiye özgü özelliğini oluşturması nedeniyle insan vücudunun en önemli kısımlarının başında gelmektedir. Beyinde gerçekleşen herhangi bir anomali, dejenerasyon veya işlevsizlik durumları sonucu oluşan hastalıklar, insanoğlunun çözümü konusunda en çok önem arz eden konular arasındadır [1].

Günümüzde hızla ilerleyen teknoloji ve endüstriyel ürünler ile toplumların artan ihtiyacını karşılama talebi, tabiattan temin edilen hammadde ihtiyacını artırmaktadır. Nüfus artışı baz alındığında, bu gereksinimleri karşılarken kullanılan doğal madde ihtiyacı aynı şekilde artış göstermektedir. Mevcut bu durum, bazı hususlarda doğa tahribatı yaşanmasına neden olabilmektedir. Ayrıca üretim aşamasında veya tüketime bağlı açığa çıkan zararlı etkenler, yine doğayı tahribat olarak yansıtmaktadır. Örneğin; klima ve soğutma sistemlerinde kullanılan gazların veya

kozmetik sanayinde kullanılan materyallerin üretim veya tüketim esnasında atmosfere salınımı, ısınma veya hammadde işleme sırasında kullanılan petrol ürünlerinin baca gazları, zararlı tüm endüstriyel gaz atıklar, sera gazlarının etkisi ile atmosferde ozon tabakasında meydana gelen deformasyonlarla, güneşin kızıl ötesi ışınlarına ve eşik değerleri üzerinde ki radyasyona doğrudan maruz kalınmasına neden olmaktadır. Ulaştırma ve haberleşme yönünden sürekli bilgisayar sistemlerine ihtiyaç duyulması ile maruz kalınan radyasyonun artması, beslenme alışkanlıklarının günlük hayat içerisinde ki çalışma temposuna bağlı olarak önemsenmemesi, sağlıklı ürünlerin kullanılmamasının yanında, kimyasal içerikli gıda katkı maddelerinin özellikle beslenme ürünlerinin kullanım sürelerinin arttırılması amacıyla gıdaların içerisine kontrolsüzce katılması, insanların iş ortamlarında mesleki maruziyetlerinin artması, kirlenen doğa ile çevrede mutajen bakteri ve virüs gibi biyolojik risklerin artması, stres ve psikolojik buhran ile birlikte sigara içimi, alkol kullanımı, kalıtsal ve genetik yatkınlık öyküleri gibi fiziksel, kimyasal ve biyolojik faktörler, küresel olarak hızla artış gösteren ve ölümcül nitelikte ki kanser hastalıklarının çoğalması ile sonuçlanmaktadır.

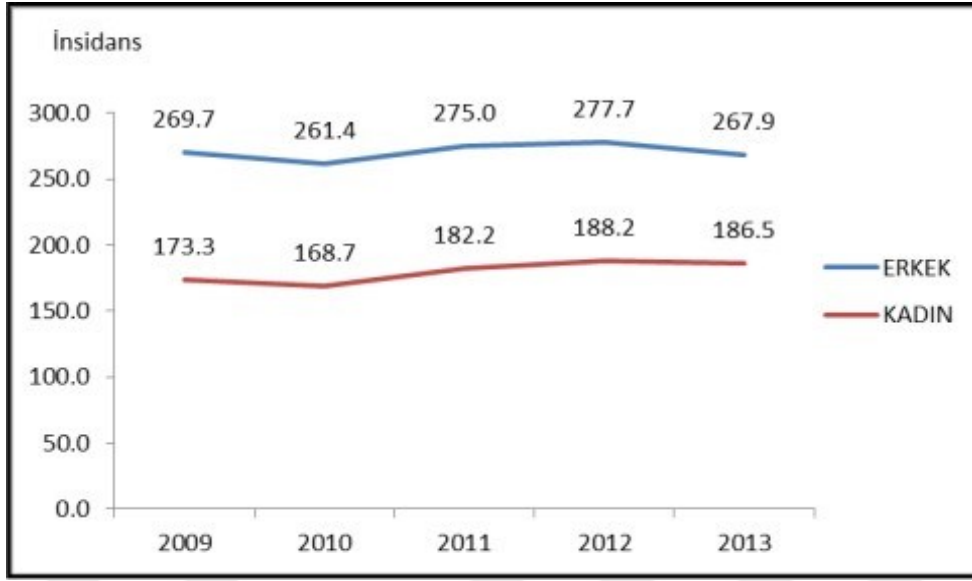
Canlı tüm türlerin temel yapısı hücreler hem kendi metabolik dengesinden hem de bulunduğu organizmanın ilgili lokalizasyonunda ki metabolik dengesinin korunmasında da temel rolü üstlenmektedir. Bu genel metabolik dengeye hemoostazi adı verilir. Hücre çekirdeğinde yer alan kromozomlar üzerinde taşınan genler üzerinde bu bilgiler yer almaktadır. Hücreler, büyüme hormonlarının etkisiyle belirli bir morfolojik görünüm ve özellik kazandığında, ihtiyaca göre kontrollü olarak bölünüp çoğalır ve bir taraftan da organizmadaki fonksiyonunu yitirmiş olanlar ise programlı bir şekilde ölürler. Bu döngü sonucu programlanmış hücre ölümü mekanizmasına apoptozis adı verilir. Bu programda hücrenin sahip olduğu genler, bu dengenin yani hemoostazinin daimi olmasını sağlar. Hücre gelişimi ve çoğalması gerektiğinde, ilgili sinyal mekanizması ve hormonal uyarılar devreye girer. Programlanmış hücre ölümü, hücre döngüsü kontrolü, bölünme sırasında DNA onarımının yapılması gibi işlevler, fiziksel, kimyasal ve biyolojik karsinojenlere maruziyet durumunda, aktive olan onkogenlerin ekspresyonu ile gerçekleşir. Bunun dışında tümör oluşumunu engelleyici görevde bulunan, tümör baskılayıcı genlerin aktivasyonu gibi durumlarda, hücre ve barındırdığı genler ile bu genlerin ürünü olan protein yapıda ki enzimler sayesinde tümör oluşumunun baskılanması şeklinde de

gerçekleşmektedir. Genel olarak kanser; fiziksel, kimyasal ve biyolojik etkilerle değişikliğe uğramış moleküler materyale sahip hücrelerin, vücudun bir lokalizasyonunda kontrolsüz ve düzensiz bir şekilde çoğalması, bazı durumlarda da diğer doku ve organlara sirayet ederek yayılıştaki bulunması ile karakterize edilen bir hastalık olarak tanımlanabilir.

Karsinojenler, kansere yol açan faktörler olarak isimlendirilmektedir. Fiziksel, kimyasal karsinojenler ve biyolojik karsinojenler şeklinde üç şekilde sınıflandırılırlar. Fiziksel karsinojenler; güneş ışınları, ultraviyole ışınlar ve radyasyon gibi parametrelerle örneklendirilebilir. Kimyasal karsinojenlere örnek olarak ise alkol, sigara, polisiklik bileşikler, hidrokarbonlar verilebilir. Biyolojik karsinojenler viral enfeksiyon sonrası oluşan mutasyonlar ile kalıtsal aktarımlar ve sonrası oluşan genetik yatkınlık durumları şeklinde gözlemlenmektedir. Bu etkilere maruziyet sonucu kanser; başlama (initiation), gelişme (promotion) ve ilerleme (progresyon) gibi aşamalarda seyretmektedir. Görülme sıklığı olarak kanser; bir toplumda bir yılda ortaya çıkan yeni kanser hasta sayılarının, o toplumda yüz binde nüfusa oranı şeklinde ifade edilmektedir. Toplumlarda, yaş, cinsiyet, kanserin türü, çeşidi ve bölgesel farklılıklara göre değişiklik göstermektedir.

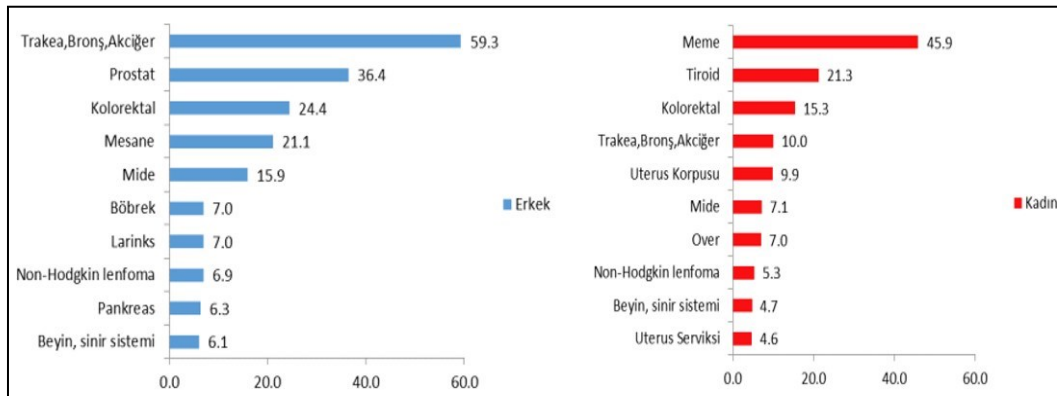
Dünya Sağlık Örgütü (WHO), Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC)'nın 2018 Dünya Kanser Raporu verilerine göre; 2018 yılında en sık teşhis edilen kanser akciğer kanseri olup (tüm vakaların %11.6'sı), bunu (kadın) meme (% 11.6) ve kolorektal kanser (%10.2) izlemektedir. Akciğer kanseri aynı zamanda kanserden ölümün önde gelen nedenidir (Tüm ölümlerin %18.4'ü). Kolorektal (%9.2) ve mide kanserleri (%8.2) bu kanser tiplerinden sonra en yoğun görülen kanser tipleri olarak rapor edilmektedir. En sık görülen 10 kanser, kanser insidansı ve mortalitesinin %60-70'inden sorumlu olduğu bildirilmiştir [2,3].

Ülkemizde kanser istatistiklerine bakıldığında T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Kanser Daire Başkanlığının 2009-2013 yılları arasında yayınladığı verilere göre erkeklerde kanserin görülme sıklığı 267,9/100.000 iken, kadınlarda 186,5/100.000 olarak belirlenmiştir (Şekil 1.1.) [4].



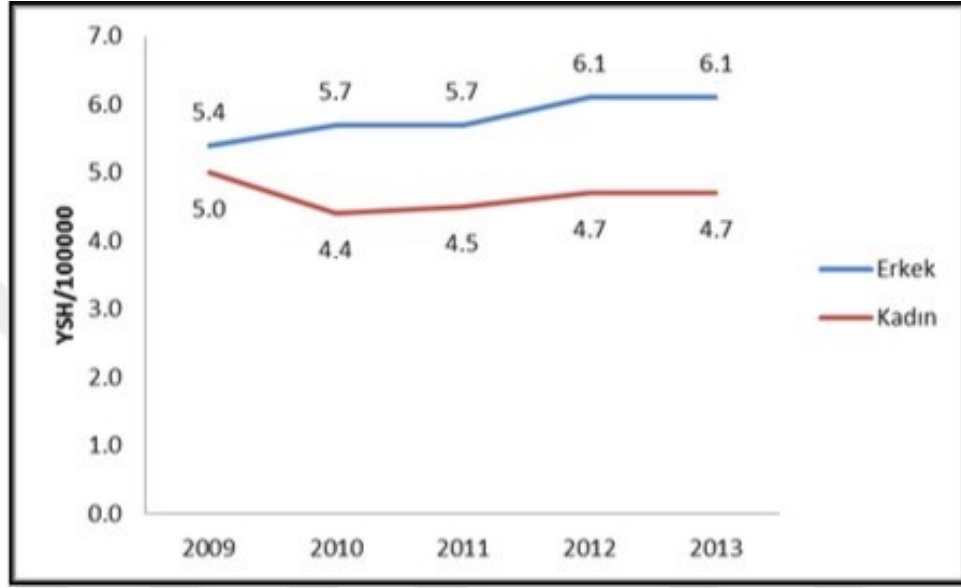
Şekil 1.1. Türkiye’de kanserin görülme sıklığı, 2013 [3].

Ülkemizde erkek ve kadınlarda yaşa standardize insidans hızlarına (YSH) göre en çok görülen kanser türlerine bakıldığında, erkeklerde; 59,3/100.000 ile en yüksek oranda görülen kanser bronş, trakeve akciğer kanser grubu olmakla birlikte, bunu sırasıyla 36,4/100.000 YSH ile prostat, 24,4/100.000 YSH ile kolorektal, 21,1/100.000 YSH ile mesane, 15,9/100.000 YSH ile mide kanserleri izlemektedir. Beyin ve sinir sistemi kanserleri erkeklerde 6,1/100.000 YSH ile son sırada görülmektedir. Kadınlarda ise en yüksek oranda gözlenen kanser türü 45,9/100.000 YSH ile meme kanseri ve sırasıyla 21,3/100.000 YSH ile tiroid, 15,3/100.000 YSH ile kolorektal, 10/100.000 YSH ile akciğer kanserleri ve 9,9/100.000 YSH ile de uterus izlemektedir. Kadınlar da beyin ve sinir sistemi kanserleri erkeklerde olduğu gibi 4,7/100.000 YSH ile son sıralarda görülmektedir. (Şekil 1.2.) [4].



Şekil 1.2. Ülkemizde en sık görülen kanser türlerinin yaşa standardize insidans hızları (YSH), 2008 [4].

Ülkemizde beyin kanseri görülme sıklığı, diğer kanserlere görülme sıklığına oranla son sıralarda gelmektedir. Sağlık Bakanlığı Türkiye Bileşik Veri Tabanı'nın verilerine göre; Kadınlarda bu oran 4.7/100.000 iken, Erkeklerde ise 6.1/100.000 şeklinde görülmektedir. 2009-2013 yılları arasındaki süreç baz alındığında Erkeklerde görülme oranı bu süreçte 0,7/100.000 artış gösterirken, Kadınlarda bu süreçte bu oran 0.3/100.000 azalmıştır.



Şekil 1.3. Ülkemizde Beyin Kanserlerinin Yaşa Standardize İnsidans Hızlarının Cinsiyete Göre 2009-2013 Yılları Arasındaki Dağılımı (Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2009-2013) [4].

Fiziksel, kimyasal ve biyolojik karsinojenlere maruziyet ile kansere yakalanma arasında uzun ve sessiz dönemin olması, ileri yaşlarda bu hastalığa yakalanmanın sebebini açıklamaktadır. Ne var ki, hücre ve oluşturduğu iç denge maruziyet sonucunda hasarı ve etkiyi en aza indirmek için de kendi metabolik yollarını kurar. Bu anlamda karsinojenlerin vücutta oluşturduğu etkilerin en aza indirgenmesi ve sistemin korunması ksenobiyotik mekanizması (detoksifikasyon) ile açıklanır.

Detoksifikasyon (biyotransformasyon); toksik maddeler, metabolitler, epoksidler gibi ksenobiyotiklerin zararlı etkilerinin çeşitli enzim ya da moleküller yardımı ile zararsız hale getirilerek vücuttan dışarı atılımını sağlama mekanizmaları olarak açıklanabilir [5,6]. Bu mekanizmalarda görev alan enzimler ya da moleküller de bu hayati olguyu desteklemektedirler. I. Faz ve II. Faz reaksiyonları olmak üzere başlıca iki ana grupta toplanan ksenobiyotik mekanizmasında; karsinojenler, sırasıyla I. Faz reaksiyonları ile ya reaktif olmayan ürünlere yıkılarak vücuttan

doğrudan atılırlar, ya da reaktif metabolitlere transforme olurlar. Vücutta birikmesi ve atılmamasıyla DNA hasarı, doku hasarı, mutasyon, hücre yaşlanması, kanser gibi metabolik ve kalıtsal rahatsızlıklara yol açan bu reaktif metaboliteler, II. Faz reaksiyonları ile konjugasyon reaksiyonlarına uğratılarak idrar, safra, ter yoluyla vücuttan dışarı atılırlar. Detoksifikasyon metabolizmasını oluşturan enzimleri kodlayan genlerin mutasyona uğraması ya da polimorfik olması, gen ifadelerinin yeterince sağlanamaması, gen ürünleri olan proteinlerinin ifadelerinin olmaması ya da aşırı veya çok az ifadeleri gibi faktörler doğrudan kanser oluşumunu etkileyen ve başlatan faktörlerdir. Detoksifikasyon metabolizmasının üyelerinin ayrıca platin bazlı kanser ilaçları başta olmak üzere, antikanser ilaç etkileşimleri, ilaçların etkilerinin azaltılması veya inaktivasyonunda da görev aldığı düşünüldüğünde de kanser hastalığı sonrası kemoterapötiklerin uygulanması hususunda önemli ön görüler sağlamaktadır. Çoklu ilaç direncinde de görev alan bu enzimlerin hücrelerdeki ifadeleri bahsedilen sebeplerden dolayı çok büyük önem arz etmektedir. Ayrıca; tümör hücrelerinin hasarlı DNA'ya sahip olmasına rağmen normal hücrelerde görülen bölünme sürecindeki kontrol moleküllerini etkisiz hale getirerek bölünmeye devam ettiği bilinmektedir.

P53 hücre çoğalmasında görev alan anahtar pozisyonundaki önemli bir tümör supresör genidir (7). Tümör supresör genler hücre çoğalmasında negatif yönde rol oynayan genlerdir. Hücre siklusunu denetler. Tamir edilemeyen DNA hasarı bulunan hücrelerde hücreyi apoptoza yönlendirir (8). P53 DNA'da meydana gelen mutasyonlar sonucu tamir mekanizmalarının devreye girmesini sağlayarak DNA stabilitesini korur. Apoptozdan kaçışa neden olan moleküllerden biri olan mutant P53 molekülünün apoptozdaki kaçış mekanizmasında görevi ve apoptozdan kaçış mekanizması aydınlatılarak tümör hücrelerinin kontrolsüz çoğalması kontrol altına alınabileceği düşünülmektedir.

Bu tez çalışmasında da, ksenobiyotik mekanizmasının başlıca iki reaksiyonda görev alan ve II. Faz reaksiyonlarını katalizleyen Glutasyon-S Transferaz (GST) enzim sisteminin üyelerinden GSTT1 ve GSTM1 izozimleri ile tümör oluşum mekanizması moleküler yolağında direnç rolü oynayan p53 gen ve protein ifadelerinin, Beyin Tümörü teşhisi konmuş hastaların parafine gömülü dokularında, klinik veriler ile birlikte değerlendirilmek suretiyle, immunohistokimyasal metod, real time pcr sistemi ile melt-curve analizi ve dizileme (sekans) sistemi ile tek nükleotid

polimorfizm (SNP) analizi metodlarından yararlanılarak, karşılaştırmalı protein ekspresyonu ve gen mutasyonu düzeyinde incelenmesi amaçlanmıştır.

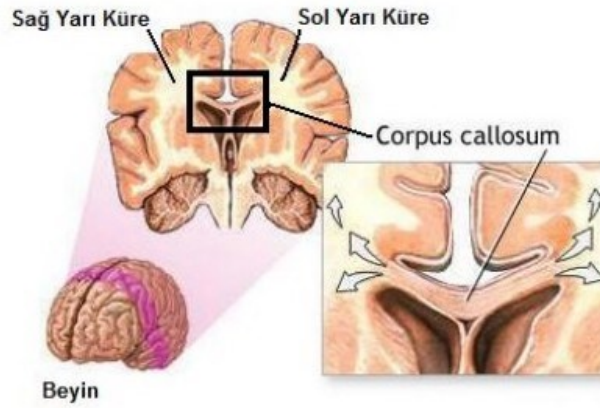
1.1. Sinir Sistemi, Fonksiyonel Nöroanatomi ve Beynin Kısımları

Tüm çevresel algıların duyu organlarıyla eldesini veriye dönüştüren, bu verileri işleyen, metabolizma içerisinde ki sistemler arasında iletişimi sürdürerek organizasyonu sağlayan, sistemlerde yer alan organların ve hareket etmede yer alan kasların aktivitelerini düzenleyen sistem olarak bilinmektedir. Sinir sistemi tüm vücuttan gelen sinyalleri alır, işler ve koordine edilmesini ve düzenlenmesini sağlar. Bu nedenle vücutta bulunan tüm kısımlar, sinir sistemiyle sürekli ilişki halindedir. Bununla birlikte sinir sistemi, hafıza ve nesnel anlamlandırma, motivasyon şeklinde ki üst düzey bilişsel faaliyetlerden de sorumludur. Bu tarz ifadeler, sinir sisteminin, “insan davranışlarının” yönlendirilmesi esasını açıklamaktadır. Sinir sistemi, tüm bu özellikleri nedeniyle gelişmiş canlıları diğer organizmalardan ayıran en önemli bileşen durumundadır [9]. Sinir sistemi vücudun toplam ağırlığının %2 sini oluşturuyor olmasına rağmen vücudun en kompleks sistemi olarak bilinir. Bu sistemin en önemli organı, duyu ve düşüncelerin üretilmesinden sorumlu olan beyindir. Tüm bu ihtiyaçları insan vücudunda beyin yönetiminde bulunan ve tüm vücudu saran sinir sistemi tarafından sağlanmaktadır. Sinir sistemi, merkezi ve periferik (çevresel sinir sistemi) sinir sistemi olmak üzere iki bölümden oluşur [1].

Merkezi sinir sistemi, beyin, beyincik, beyin sapı ve omurilikten merkezi sinir sistemini meydana getirir. Bu kısımlar birbiri ile yapısal ve işlevsel ilişkiler içerisinde. Bu bölümlerin önem sırası, vücutta lokasyon olarak aşağıdan yukarı doğru gidildikçe artmaktadır [1].

1.1.1. Beyin

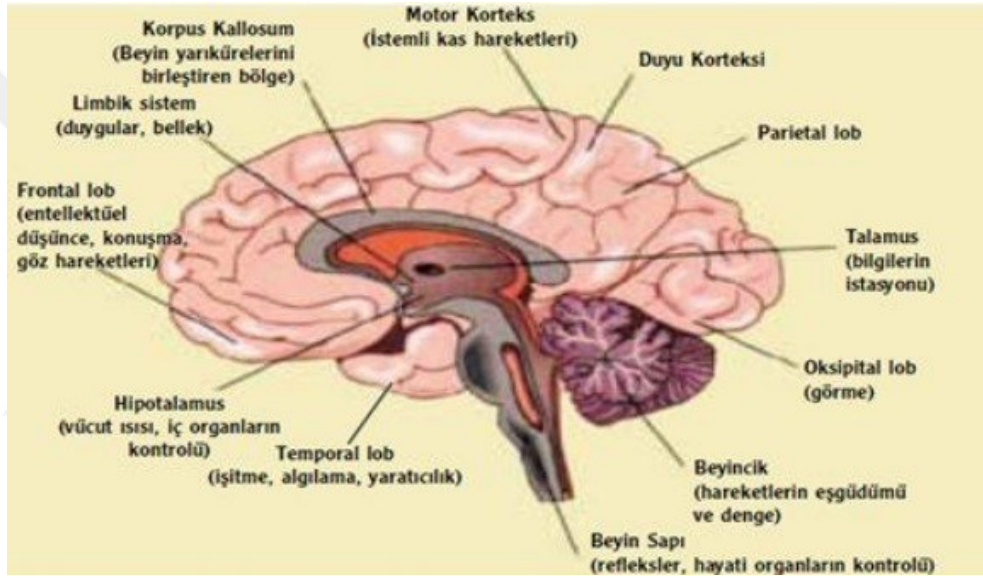
Yapısal olarak beyin, yaklaşık 1200 gramdan ağırlığındadır. Fiziksel olarak gözlemlendiğinde, küflü peynire benzer bir kokuda, kolloid bir yapıyla çevrili, kafatası kemiği içinde bulunan, üç katlı özel bir zar ile örtülü, beyaz renk tonlarına yakın gri renkli, iki ayrı lobtan oluşan, girintili (suklus) çıkıntılı (girus) bir organdır. Sağ lob vücudun sol, sol lob ise vücudun sağ tarafının kontrolünü sağlar [1,10]. Beyin yapısal olarak; % 78'i su, % 10 yağ ve % 8 proteinden meydana gelir [11].



Şekil.1.4. Korus kallosum [1]

Hücre olarak beyin, 100 milyar sinir hücresi (nöron) ve trilyonlarca “glia” adı verilen hücrelerinden oluşmaktadır. Yapısal ve fonksiyonel olarak nöronların on binden fazla çeşidinin olduğu bilinmektedir. Nöronlar, çevresel uyarıları alır ve komşu nöronlara iletir. Oluşan bu algılar doğrultusunda metabolik faaliyetler, veri elde edilmesini sağlanmaktadır. Vücut tepkilerinin yönetimi bu uyarılar ile başlamaktadır. Beynin büyük bölümünün oluşturan glia hücreleri, nöronları bir arada bulunmalarını, beslenmelerini ve nöronların dışındaki zararlı maddelerin yapıdan ayrıştırılmasında rol oynamaktadır [1,12,13]. Beynin başlıca yapı maddesi aminoasitlerden farklı dizilimleri ile oluşan proteinlerdir. Beyin hücrelerinin sürekli olarak oksijen ve glikoza ihtiyaç duymaktadırlar. Sinir sisteminde gerçekleşen aktivitelerin tüm enerji kaynağı kimyasal olarak glukozun oksijenle yanmasından elde edilir. Oksijensiz veya glukozsuz kalan beyin fonksiyonel olarak işlev göremez. Bu durumda beyin hücre ve dokularında hasar meydana gelir. Oksijensizliğe en duyarlı organ bu sebeple beyin olarak bilinmektedir. Vücut ağırlığının %2’sini kapsayan insan beyni, kan ve oksijenin yaklaşık %20’sini kullanmaktadır. Beyin bu durumda dakikada yarım litre kana ihtiyaç duyarak sirkülasyonun sağlandığı bir organdır. Bu nedenle beyine sürekli kan iletilmesi gerekliliği bulunmaktadır. Aksi halde kanın beyine ulaşmadığı durumlarda bilinç kaybı olur ve kısa süre içerisinde dokuda geri dönüşsüz hasar meydana gelmektedir [1,14]. Vücut, beyin tarafından kontrolü sağlanan birçok sistem ve bu sistemleri oluşturan organlardan oluşur. Yani beyin vücudun merkezi kontrol organıdır. Beyin ölümü gerçekleştiği durumlarda devre dışı kalır. Bu tarz durumlarda kas kontrolü yoktur. Ayrıca solunum durur ve tüm refleksler yok olur. Bağlantılı olarak kalbin çalışması da durur. Sonuç olarak

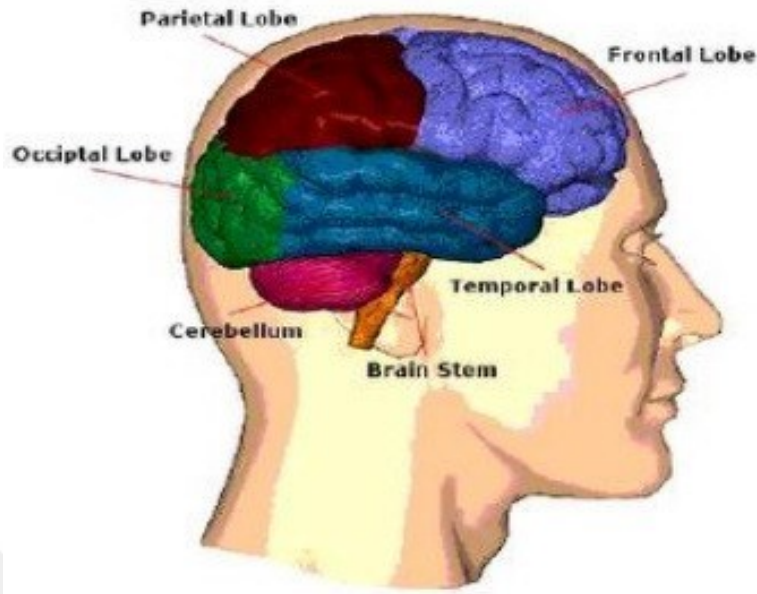
beynin ölmesi, kişinin ölmesi anlamına gelmektedir [1]. Beyine morfolojik olarak bakıldığında; önden geriye büyük bir yarık ile sağ ve sol iki ayrı yarımküreden (hemisfere) oluştuğu görülmektedir [15,16]. Beynin sol kısmı fonksiyonel olarak genellikle bilişsel işlerde, algılama, düşünme, düşündüklerini ifade edebilme, anlama, matematiksel kabiliyetlerde, mantıksal altyapılar ve temellerde ve konuşmada etken olduğu görülmüştür. Sağ lob ise daha çok duyguların ifadesi ve dışa vurma, yüz tanıma, sözel olmayan (non-verbal) iletişimi takibi ve kabiliyeti ile sezgisel ve sanatsal yeteneklerle bağlantılı fonksiyonel olduğu anlaşılmıştır. Beyin iki yarım lopta da derin yarıklarla başlıca dört bölüme ayrılır. Bu bölümler; Frontal Lob, Parietal Lob, Oksipital Lob, ve Temporal Lob şeklindedir [1,17,18].



Şekil.1.5. Beynin Genel Yapısı [1]

Beynin sağ ve sol yarımküreleri, korpus kallosum (corpus callosum) şeklinde adlandırılan bir sinir ağ dokusu ile bağlantı sağlamaktadır. Bu kısım aynı zamanda iki lob arasında ki sürekli bilgi iletişimini de sağlamaktadır [15,19].

Beynin bu ana dört bölgesinin yanı sıra, duygularla ilişkili olduğu düşünülen limbik sistem bulunmaktadır. Beynin tüm bu kısımları birbirleriyle iletişimleri ve bağlantıları bulunsa da fonksiyonel olarak her birinin görevinin farklı olduğu bilinmektedir [1].



Şekil.1.6. İnsan Beyninin Genel Kısımları [1]

1.1.1.1. Frontal (Ön) Lob

Kafanın ön bölgesinde yer almaktadır. Beynin üçte biri bu kısımdan oluşmaktadır [20]. Yaratıcılık, problem çözme, karar verme, planlama, yürütme, basamaklı düşünce, sıraya koyma, yargılama, strateji değiştirme, davranış esnekliği, istenç, iç görü, hayalinde canlandırma, olayların muhtemel uzak sonucunu kestirme, işlem belleği gibi bilişsel işlevlerin bu bölgenin kontrolündedir. Frontal lob işlevsel açıdan motor korteks, premotor korteks ve prefrontal korteks olmak üzere üç bölümden oluşur [1].

1.1.1.2. Temporal Lob (sağ ve sol kısım)

Kulakların çevresi ve üst kısmında karşılık gelen lokalizasyonda bulunur. Beynin alt kısmındadır. Genellikle duyma (işitme), hafıza, anlama ve dil becerilerinin kontrol edildiği kısımdır. Hipokampus temporal lobda yer almaktadır. Bu sebeple beyin bu kısmı hafızanın birleştirildiği lokasyondur. Sağ frontotemporal bölgede hasara veya lezyona bağlı doku dejenerasyonu olanların, olaysal verilere (epizodik bellek) geri ulaşmakta zorlandıkları tespit edilmiştir. Sol yarıküre (hemisfer) hasarı olanların ise anlamsal verilere ulaşmakta güçlük çektikleri belirtilmiştir. Temporal lob, konuşmayı, anlama ve edinilen veriyi işlemeyi, orta ve uzun dönem hafıza, dilin ve sözcüklerin oluşturulmasını, duygusal açıdan denge sağlanmasını, işitilen ve görülen

verilerin depolanarak işlenmesini sağlamaktadır [1]. İşitsel duyu ve algı bozukluğu, işitsel ve görsel seçicilik dikkat bozukluğu, görsel algılama bozuklukları, kelimelerin sınıflandırılmaması, uzun süreli hafıza bozukluğu, duygusal davranış ve kişilik değişimi gibi durumlar temporal lobta meydana gelen hasarlar sonucu görüldüğü belirlenmiştir [17]. Bu sebepler ele alındığında, temporal lob kaynaklı nöbetlerin, bireyin kişiliği üzerinde sosyolojik ve psikolojik olarak oldukça derin ve dramatik etkileri olduğu öngörülmektedir. Temporal lob epilepsisi, tekrarlayıcı konuşmalara, paranoya, saldırgan ve öfkeli davranışlara neden olabilir [21]. Tüm bu belirtilerin dışında bu bölgede görülen lezyonlar dominant lob kökenli olması durumunda çoğunlukla neolojizm, afazi, bellekte görülen fonksiyon bozuklukları ve amusia belirtileri gözlemlenir. Non-dominant lob kökenli lezyonlar için ise konuşmada disprozodi belirtileri şeklinde gözlemlenir. Çift taraflı (bilateral) temporal lob lezyonlarında ise görsel agnozi, apatiye rastlanmaktadır [1].

1.1.1.3. Parietal Lob

Beynin orta kısmında bulunmaktadır. Frontal lobun arka kısmında duyu merkezi olarak bilinir. Sıcaklık, soğukluk, basınç, dokunma, tat alma ve bedenin genel hareket fonksiyonlarının kontrol lokalizasyonudur [1]. Yüksek algılama ve dil işlevlerini kapsayan süreçleri de yerine getirir [15]. Beynin bu bölümü; parmak, el, kol, ayak ve bacak gibi uzuvların his, algı ve kontrollerinin sağlandığı bölümdür. Parietal lob lezyonlarında, dil ve konuşma güçlükleri, apraksi, disfazi gibi durumlar gözlemlenmektedir [1].

1.1.1.4. Oksipital Lob

Beynin arka kısmında bulunur. Görme fonksiyonu ile ilgili fonksiyonun ve verilerin işlendiği kısımdır. Bu bölümde ki bir hasar görme yeteneğinin yok olmasına neden olabilmektedir. Görme yetilerinde ki kayıplar veya fonksiyonel bozukluklar, yapılan deneysel çalışmalar, lezyonlar ile birlikte kazalar sonucu oluşan bu bölgede ki yapısal dejenerasyonun, fonksiyon kaybı ilişkisiyle ortaya konulmuştur [1].

Beyinde bu majör dört kısmın dışında “limbik sistem” adı verilen bir bölge bulunur. Limbik Latince kökenli bir kelime olup, anlam olarak “sınır” anlamına gelir. Duygusal (emosyonel) algı ve hislerin kontrol edildiği, nöron iletişim ağının tümünü kapsayan anlama gelmektedir. Limbik sistem; Amigdala, hipokampus, hipotalamus ve talamus gibi kısımlardan oluşur [1].

1.1.2. Beyincik (Cerebellum)

Beyin ile beyin sapı arasında bulunmaktadır. Korteks ile kaplıdır. Girintili çıkıntılı bir yapıya sahiptir. Bu yapı aynı zamanda küçük beyin olarak isimlendirilir. Bu bölüm hareket koordinasyonu ve yer çekimi gibi kuvvetler karşısında da vücudun dengesi durumundan sorumludur [1].

1.1.3. Beyin Sapı (Brain Stem)

Beyin ile omuriliği birbirine bağlayan yapıdır. Omurilikten gelen sinirler, bu kısımdan geçerek beyne iletilir. Sindirim, boşaltım ve dolaşım organlarının hareketleri ile kalp ritmi gibi istem dışı çalışan temel yaşamsal faaliyetler, beyin sapı tarafından kontrol edilmektedir. [1].

1.1.4. Omurilik (Medulla Spinalis)

Boyundan kuyruk sokumuna kadar uzanan, omurga sisteminin içerisinde kemik bir yapının iç kısmında kuyruk sokumuna kadar uzanmaktadır. Merkezi sinir sistemi içerisinde değerlendirilmektedir. Sistem, organ ve dokulardan gelen çevresel uyarıların merkezi sinir sistemine iletiildiği bölümdür [1].

1.2. Beyin ve Sinir Sistemi Kanseri

1.2.1. Epidemiyoloji

Dünya Sağlık Örgütü (WHO), Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC)'nın 2020 Dünya Kanser Raporu verilerine göre 2018 yılı tamamında 18,1 milyon tahmin edilen yeni kanser vakasında, insidans yönünden dünyada en yaygın kanser olarak (1,52 milyon, %11,6) oranla akciğer ve meme kanseri gelmektedir. Beyin ve sinir sistemine ait kanserler %3'ün altında bir insidans oranına sahip olduğundan son sıralarda olup, diğer kanser grupları olarak kategorize edilmektedir. Ayrıca kanser ölümleri bakımından değerlendirildiğinde dünya genelinde, 2018 yılı verilerine göre, akciğer kanseri yaklaşık 2 milyon toplam ölüm sayısı (%18,4), ile ilk sırada yer almaktadır. Ölüm oranı açısından da beyin ve sinir sistemi kanserleri son sıralarda gelmektedir [2]. Ülkemizde erkek ve kadınlarda yaşa standardize insidans hızlarına (YSH) göre en çok görülen kanser türlerine bakıldığında; Beyin ve sinir sistemi kanserleri erkeklerde 6,1/100.000 YSH ile son sırada yer alırken, kadınlarda bu oran 4,7/100.000 olarak rapor edilmiştir. (Şekil 1.2.) [4].

1.2.2. Etiyoloji

Beyin tümörü; beyinde kontrolsüz çoğalan ve büyüyen hücrelerin oluşturduğu kitledir [22,23,24]. Beyin tümörleri primer, metastatik (sekonder), benign ya da malign olarak görülebilir [25,26].

Primer beyin tümörü (PBT); beyindeki hücre ve yapılardan köken alan tümörlerdir [23,24,27,28]. Beyin yapısı içerisinde lenfatik kanallar olmadığı için nadiren metastaz yapar [26,29]. Metastazları, sıklıkla serebral kan dolaşımı, BOS (Beyin Omirilik Sıvısı), kranial cerrahi ve yapay shuntlar aracılığıyla gerçekleşir ve genellikle spinal korda metastaz yapar [29,30].

Sekonder beyin tümörü ya da metastatik beyin tümörleri; vücudun herhangi bir yerinde başlayıp daha sonra beyine yayılım gösterir [26,30,31]. Özellikle akciğer, göğüs, kolon, pankreas, böbrek ve cilt kanserleri arteriyel dolaşım aracılığıyla yayılarak sekonder beyin tümörüne neden olur [24,27,30,32,33]. Primer beyin tümörü (PBT), bireylerde lokal ve sistemik etkisi ile nörolojik, bilişsel, psikososyal ve ekonomik sorunlara neden olarak birey/ailenin yaşamını alt üst eder [34,35,36,37].

Ayrıca hastanın yaşı, fonksiyon düzeyi, tümör ve cerrahinin tipi, yeri, büyüklüğü, hastanın prognozunu veya sağkalımını ciddi şekilde etkiler [20]. Bu hastalar, ciddi fonksiyon kayıpları ve kişilik/benlik algısında değişim nedeniyle diğer kanserli bireylerden daha fazla sorun yaşamakta, maddi/manevi daha çok bakım ve desteğe gereksinim duymaktadır [38].

PBT'nin gelişimine genetik ve çevresel faktörlerin katkı sağlayabileceği düşünülmese de nedenleri tam olarak açıklanamamıştır [39]. Risk grubu olan hastaların yaşadıkları semptomlar gözönünde bulundurularak, klinik değerlendirme ve tanı testleri kullanılarak erken tanılanması erken müdahale edilmesi önerilmektedir. [22,24,28,39,40]

1.2.3. Beyin Tümörü Risk Faktörleri

1.2.3.1. Genetik Faktörler

Gliomalı hastaların %5'inden daha az bir kısmının ailesinde beyin tümörü öyküsü bulunduğu için genetik faktörlerin küçük bir rolü olduğu düşünülmektedir. Nörofibromatoz tip I, tuberoskleroz, turcot sendromu, li-fraumeni kanser sendromu, multipl endokrin neoplazi tip 1, nevoid bazal hücreli karsinoma sendromu, vonhippel-lindau ve polyposis gibi hastalıkların da ilgili olabilecek kalıtsal hastalıklar grubunda olduğu düşünülmektedir.

Primer beyin tümörlerinin oluşumunda açık kalıtsal faktörler küçük bir rol oynamaktadır; glioma hastalarının %5'inden azında ailede beyin tümörü öyküsü vardır. Tuberoskleroz, nörofibromatoz tip I, Turcot sendromu ve Li-Fraumeni kanser sendromu gibi kalıtsal hastalıklar, hastaları glioma gelişimine yatkın hale getirir. Bununla birlikte, bu tümörler çocuklarda veya genç yetişkinlerde ortaya çıkma eğilimindedir ve daha sonraki yaşamda görülen gliomaların çoğunu açıklamaz. Genom geneli geniş bir birliktelik çalışması, glioma duyarlılığı için beş risk lokusu tanımladı: 5p15.33 (TERT), 8q24.21 (CCDC26), 9p21.3 (CDKN2A-CDKN2B), 20q13.33 (RTEL1) ve 11q23.3 (PHLDB1). [39]

1.2.3.2. Çevresel Faktörler

Yüksek doz iyonize radyasyona maruz kalma, önceden kranial radyoterapi alma gibi durumlar bilinen risk faktörleri olarak değerlendirilmektedir. Beyin tümörü oluşumunda etkisi araştırılan risk faktörleri; Alkol kullanımı, mobil telefon kullanımı, kimyasal ajanlar (saç boyası, solventler/çözücü maddeler, böcek ilaçları, trafik ile ilgili hava kirliliği), düşük frekanslı elektromanyetik alanlar, kafa travması ya da beyin yaralanması, infeksiyonlar (virüsler, toksoplazmagondi, in utero influenza ve varicella), n-nitrosobileşikler, mesleki maruziyet (petrol alanında çalışanlar, vinil klorür ve plastik ile çalışanlarda), sigara kullanımı olarak değerlendirilmektedir.

1.2.4. Beyin Tümörlerinin Sınıflandırılması ve Özellikleri

Beyin tümörlerinin herkes tarafından kabul görebilecek bir sınıflandırılmasının yapılması, sinir sisteminin olağandışı biyolojisi ve çeşitliliği nedeniyle oldukça

zordur. Bu nedenle beyin tümörlerinin farklı kriterlere (benign ve malign olması; histolojik olarak köken aldığı hücre tipi, doku tipi ve tümör lokalizasyonu) temellendirilen birçok sınıflandırması yapılmıştır [32]. Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ); hücresel kökene ve histolojik görünüşe göre yaptığı sınıflandırma aşağıda verilmiştir (Çizelge 1.1) [40].

Çizelge 1.1. Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ); hücresel kökene ve histolojik görünüşe göre yaptığı sınıflandırması [40].

Nöroepitelyal Tümörler	
Astrositik Tümörler	Nöronal ve miks-Nöronal Glial Tümörler (Evre I-III)
*Pilositik Astrositoma (Evre I)	*Pineal Tümörler (Evre I-IV)
*Subependimal Büyük Hücreli Astrositoma (Evre I)	*Embriyonal Tümörler (Evre IV)
*Diffüz Astrositoma (Evre II)	Kranial ve Paraspinal Sinir Tümörleri
*Pleomorphic xanthoastrocitoma (Evre II)	*Schwannoma (Evre I)
*Anaplastik astrositoma (Evre III)	*Nörofibroma (Evre I)
*Glioblastoma (Evre IV)	*Perineuroma (Evre I-III)
Oligodendrogliyal Tümörler	*Periferik Sinir Kılıfı Tümörleri (Evre II-IV)
*Oligodendroglioma (Evre II)	Meninks Tümörleri
*Anaplastik Oligodendroglioma (Evre III)	*Meningioma (Evre I)
Oligoastrositik Tümörler	*Atipik Meningioma (Evre II)
*Oligoastrositoma (Evre II)	*Anaplastik Meningioma (Evre III)
*Anaplastik Oligositoma (Evre III)	Lenfoma ve Hematopoietik Tümörler
Ependimal Tümörler (Evre I-III)	*Malign Lenfoma (Düşük ve Yüksek Evre)
Chroid Plexus Tümörler (Evre I-III)	*Plasmacytoma
Diğer Nöroepitelyal Tümörler	*Granülozytik Sarcoma
*Anjiogenik glioma (Evre I)	Diğer Tümörler
*Üçüncü Ventrikülün Chordoid Glioması (Evre II)	*Germ Hücre Tümörleri
	*Sella Bölgesi Tümörleri (Evre I)

Gliomalar, nöroglialardan köken alan tümörlerdir ve dört evrede gruplandırılmaktadır. Evre I ve II düşük, III ve IV yüksek evreli tümörlerdir (Çizelge 1.2). Sekonder beyin tümörlerinin sınıflandırılmasının, primer kanserin histolojisine göre yapılması genel kabul görmektedir [40].

Çizelge 1.2. Beyin Tümörünün Evrelerine Göre Özellikleri [32].

Evre I;	Yavaş büyüyen ve doğal yapıdan en uzak özellik gösteren tümörlerdir.
Evre II;	Yavaş büyüyen, komşu dokuya bitişik olan, istila etme yeteneğine sahip ve daha yüksek malignite dereceleriyle tekrar edebilen tümörlerdir.
Evre III;	Aktif olarak anormal hücrelerin çoğaldığı ve sağlam dokuya infiltre olabilen tümörlerdir.
Evre IV;	En malign, çok hızlı şekilde çoğalan ve komşu dokulara hızla infiltre olan tümörlerdir. Bu tümörler hızlı büyüebilmek için yeni kan damarları oluştururlar ve merkezi alanda nekroz görülmektedir.

1.2.5. Patoloji

Tümörlerin sınıflandırılması; hastaların tedavisinde uyum sağlanmasının yanı sıra epidemiyolojik ve biyolojik çalışmaların temelini oluşturması açısından oldukça önem taşımaktadır. Genel olarak beyin tümörlerini malign (kötü huylu) ve bening (iyi huylu) olarak sınıflandırabiliriz. Klinik değerlendirme olarak, bilgisayarlı beyin tomografisi (BT) ya da manyetik rezonans görüntüleme (MRG) tetkikleri ile genellikle tanı konur. Tümör sınırlarının ve özelliklerinin daha iyi tanımlanması amacıyla bu tetkikler kontrast madde verilerek te tekrarlanabilir. Kesin tanı, patolojik incelemeler sonrası konur. Tanıda yardımcı bazı tetkikler arasında doğrudan kafa grafileri, EEG, tüm vücut kemik sintigrafisi, hormon incelemeleri sayılabilir [41].

1.2.5.1. Malign (Kötü Huylu) Beyin Tümörleri

- **Gliyal Tümörler:**

Beynin en sık görülen tümörleridir. Beyin kanserlerinin çoğunu bunlar yapar. Kontrolsüz çoğalma özelliği olan hücreleri içerir. Hızla büyüüp çevrelerindeki sağlıklı dokunun içine uzanır, çok nadir de olsa omuriliğe, hatta vücudun diğer organlarına da yayılabilirler. Evrelendirmesi dört grupta yapılır. Evre I ve Evre II "düşük evreli" olarak adlandırılırken, Evre III (anaplastik astrositom) ve Evre IV (glioblastoma multiforme) ise "yüksek evreli" kabul edilir. Bu gruptaki bazı diğer tümörler; endimom, medulloblastom, oligodendrogliomdur. Sağkalım süreleri,

patolojik evreleme, radyoterapi, kemoterapi alıp almama durumu, yaş ile ilişkilidir. Düşük evreli glial tümörlerde sağkalım süresi uzundur. Düşük evreli tümörler yüksek evreli tümörlere dönüşebilir. Yüksek evreli gliomlar için ortalama hayatta kalma şansı çok daha kısadır [41].

- **Metastatik Beyin Tümörleri**

Vücudun başka yerindeki bir tümörün beyne yayılması sonucu gelen tümörlerdir. En fazla akciğer, meme, kalın bağırsak, mide, cilt ya da prostattan kaynaklanırlar. Ancak bazen köken aldığı organ saptanamayabilir. Onkoloji kliniklerinde tanı konup, tedavi amacıyla yatırılmış hastaların %20-40'ında beyin metastazları görülmektedir. Bu oran tüm beyin tümörlerinin %10'unu oluşturur. Olanak varsa önce lokal anestezi ile yapılabilen stereotaksik cerrahi ile biyopsi alınarak kesin tanı konması tedavi seçimini kolaylaştırır. Kötü huylu beyin tümörlerinde tedavi seçenekleri; cerrahi girişim, biyopsi, ışın tedavisi, ilaç tedavisi ve radyo-cerrahidir. Tedaviye yanıt, tümörün köken aldığı odak, yayıldığı organ sayısı, metastatik lezyon sayısı, hastanın yaşı, ek hastalık bulunup bulunmaması gibi faktörlerle ilişkilidir. Bu nedenle sağkalım süreleri farklıdır [41].

1.2.5.2. Bening (İyi Huylu) Beyin Tümörleri

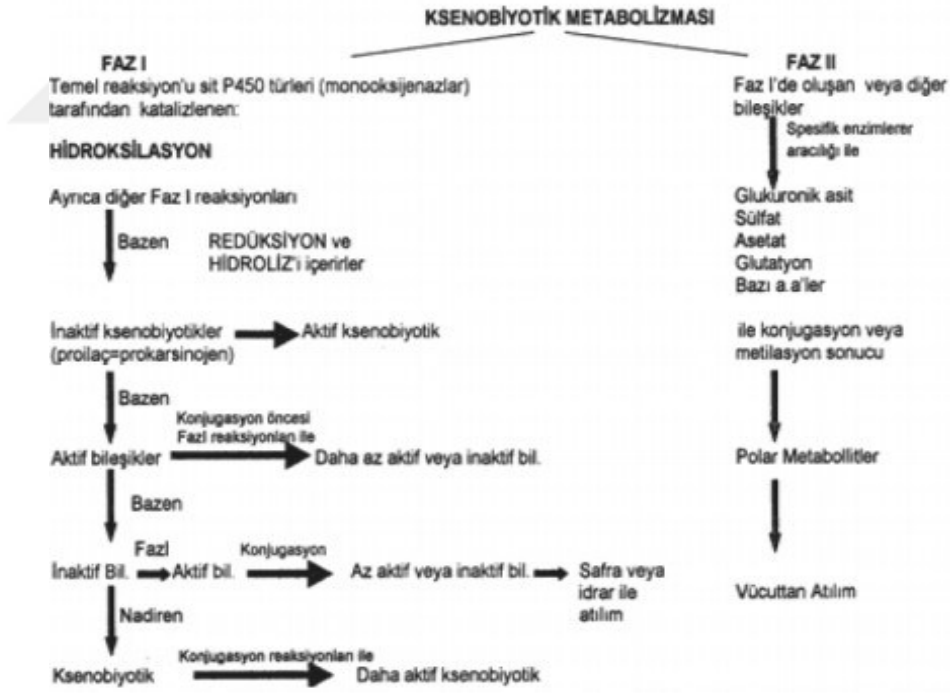
Bunlar genellikle kafatası içinde ama beyin dokusu dışında gelişen tümörlerdir. Meningiomalar, hipofiz adenomları, kraniyofaringiomalar, dermoid ve epidermoid tümörler, hemanjioblastom, kolloid kist, subependimal dev hücreli astrositom, nörinomlar bu grubun en sık karşılaşılan lezyonlarıdır. Meningiomalar bu grubun önemli bir kısmını oluşturur. Diğer organlardaki iyi huylu tümörlerin aksine, iyi huylu beyin tümörleri bazen hayatı tehdit edecek durumlara neden olabilirler. Bazıları (örneğin meningiomalar) nadir de olsa kötü huylu tümöre dönüşebilirler. Genellikle çevrelerindeki beyin dokusuna yayılım göstermedikleri için ameliyatla tam çıkarılabilme şansları yüksektir. Ancak az oranda da olsa yeniden ortaya çıkabilirler. Meningioma'nın tümüyle çıkarılma durumunda bile 10 yılda %20'sinin tekrarlayabildiği, özellikle önemli bölgelere yapışık olanlarda cerrahi sonrası komplikasyonların olabileceği bilinmektedir [41].

1.2.6. Ksenobiyotik Mekanizması

Ksenobiyotikler canlı organizmalar tarafından üretilmeyen, vücuda dışarıdan alınan yabancı kimyasallardır. Başlıca ksenobiyotikler arasında ilaçlar, böcek 10 öldürücüler, anestetikler, petrol ürünleri, diyet ve sigara dumanı içerisinde yer alan karsinojenler sayılabilir [42,43]. Canlı organizmalar çevre kaynaklı çok ve çeşitli sayıdaki ksenobiyotiklere maruz kalırlar. Bu kimyasalların çoğu lipofilik bileşiklerdir ve uzaklaştırılmadıkları sürece hücrelerde kolaylıkla birikip çok çabuk toksik ya da letal konsantrasyonlara ulaşabilirler. Böyle bir birikimi engellemek için organizmalar ksenobiyotikleri suda çözünen ve vücuttan kolaylıkla uzaklaştırılabilen bileşikler haline dönüştürerek elimine eden enzimatik yollar geliştirmişlerdir. Ksenobiyotiklerin enzimatik detoksifikasyonu iki faz da gerçekleştirilir. Faz I ve faz II reaksiyonlarıyla lipofilik ve nonpolar özellikteki ksenobiyotikler, suda çözünebilir, daha az toksik ve hücrelerden daha kolay uzaklaştırılabilen ürünlere dönüştürülür. Faz I reaksiyonları sitokrom P450 enzimleri tarafından katalizlenirken, faz II reaksiyonları N-asetiltransferaz, glutatyon S-transferaz, aldehit dehidrogenaz, sülfotransferaz, tiyopürin metiltransferaz ve epoksithidrolaz enzimlerinin katalizlediği reaksiyonlarla gerçekleşir. Kanserojen olan polisiklik aromatik hidrokarbonlar ve diğer bazı bileşikler, vücutta karaciğer mikrozomal enzimleri tarafından epoksid türevlerine dönüştürülür. Lipofilik ve son derece elektrofilik olan epoksidler, DNA, RNA gibi makromoleküllerin nükleofilik gruplarına kovalent bağlarla bağlanarak onları ariller, alkiller ve böylece yapılarını bozarlar. Epoksidler genelde çok kısa ömürlü ara metabolitler olmalarına rağmen, reaktivlikleri nedeni ile ksenobiyotiklerin ve bazı zehirli maddelerin karsinojenik, mutajenik, teratojenik, hepatotoksik ve diğer bazı toksik etkilerinden sorumludurlar [44]. Karsinojenlerin, metabolik aktivasyonu, faz I enzimleri tarafından hidroliz, oksidasyon-redüksiyon reaksiyonları aracılığı ile yürütülmektedir. Faz II enzimleri, faz I reaksiyonları sonucu aktive olan ara ürünlerin detoksifikasyonuna katılırlar (Çizelge 1.3) (Şekil 1.4).

Çizelge 1.3. Faz I ve Faz II'de gerçekleşen reaksiyonlar [44].

Faz I reaksiyonları			Faz II reaksiyonları
Oksidasyon	Redüksiyon	Hidroliz	Konjugasyon
Aromatik halka hidroksilasyonu (AHH)	Azo ve nitro grubu-amin dönüştürme reaksiyonları	Hidroliz	Glukuronik asitle birleşme
Alifatik hidroksilasyon (yan zincir oksitlenmesi)			Glutasyon konjugasyonu
N-,O-,S- dealkilasyon			N-,O-,S- metilasyon
Destülfürasyon	Nitro grubu - hidroksilamin dönüştürme reaksiyonları	Dekarboksillenme	Sülfat konjugasyonu
N-, S- oksidasyon (sülfidril oluşumu)			
N- hidroksilasyon			
α -metilli aminlerin oksidatif deaminasyonu	Aldehid-alkol dönüştürme reaksiyonları	Glikozidlerin hidrolizi	Asetilasyon
			Aminoasitlerle birleşme



Şekil 1.7. Faz I ve Faz II Enzim Mekanizması [43].

Tümör oluşum mekanizasında rol oynayan çevresel faktörlerden maruz kalınan karsinojen kimyasalların tamamı ile hastalığın kemoterapi tedavisinde kullanıla kemoterapik etken maddelerin ve ilaç dirençliliğinde, metabolik yolda oluşturduğu toksik bileşenlerin tamamının detoksifikasyonunda FAZ I (CYP 1 & CYP 2 vb.) ve FAZ II (GST-T, GST-M, vb.) enzimlerinin izozimlerinin direk olarak görev aldığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir [45]. Çevresel faktörlerden maruz kalınan kimyasallar; karsinojenler, ko-karsinojenler ve tümör promotorları olmak üzere binlerce substrat içerir. Bu kimyasallarda ki majör karsinojenler; polisiklik hidrokarbonlar, aromatik aminler, nitrozaminler, piridin alkaloidler ve radyoaktif bileşenlerdir. Bu karsinojenlerin aktivasyonunda CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1, CYP2D6 ve CYP2E1 izozimlerinin ve detoksifikasyonunda GSTM1 ve GSTT1 izozimlerinin doğrudan ilişkili olduğu yapılan çalışmalar tarafından gösterilmiştir [46]. Detoksifikasyon mekanizması kullanılarak maruz kalınan kimyasal, kemoterapik etken madde ve ilaç dirençliliğinde rol oynayan I. Faz enzimler (CYP1A1, CYP1B1) tarafından reaktif olan ve DNA'ya bağlanan epol dioksitleri metabolize eder. Ancak II. Faz reaksiyonları tarafından (Glutatyona konjugasyon reaksiyonlarını katalizleyen GST'ler, glukuronik asitle konjugasyon reaksiyonlarını katalizleyen UGST'ler) bu reaktif DNA katılım ürünleri detoksifiye edilerek idrar ya da safra ile vücuttan atılırlar. Bu işlemler sırasında detoksifikasyonda görev alan enzimlerden bazılarının ya da tamamının ifade edilmemesi ya da mutant olması durumlarında, zararlı bu bileşenler nihai karsinojenlere aktive olur ve bu karsinojenler DNA ile kovalent reaksiyonlar gerçekleştirerek, DNA katılım ürünlerini oluştur. DNA'da hatalı kodlama ve mutasyon oluşturması yoluyla, bu kimyasallara maruz kalan tüm beyin hücrelerinde; sırasıyla, hiperplazi, metaplazi, displazi, karsinoma insitu ve invaziv kanser şeklinde meydana gelen morfolojik değişimlerle kanser başlamış olur [47]. Sitokromlar P450 (CYP) en önemli faz I ilaç metabolizması enzimleri olup, bu düzeyde incelenen enzimler, mekanizmaları gereği önemli göründükleri için özellikle ilgi çekicidir. Ekstra hepatik fonksiyon ve her ikisi de çeşitli malignitelerle ilişkilendirilmiştir. Metabolizmasındaki rolleri aldehit oksidaz ve dehidrogenazlar ve alkileyici ajanlar, hali hazırda malign gliomanın tedavisi için birincil kemoterapötik ajan olan temozolomide direncin aracılık edilmesinde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Faz II GST enzimleri glutatyon-S-konjugatlarının oluşumunu katalizlemekten sorumludur. Bu toksik moleküllerin atılmasını inaktive eden ve kolaylaştıran elektrofiller, beyinde GST'ler öncelikle

astrositlerde bulunur, muhtemelen nöroprotektif bir rol oynar. Diğer yandan, GST'lerin yüksek ekspresyonunun kemoterapötik etki üzerinde, doğrudan ilaç metabolizması veya ilaçların DNA ile etkileşime girme potansiyelini azaltmasında rol oynamaktadır [48]. Temelde, CYP süperailisi, GST ve N-asetiltransferaz süper ailesi bu gen gruplarını oluşturmaktadır. I. Faz enzim sistemi, ekzojen maddeleri reaktif bileşenlere dönüştürme yeteneğine sahiptir. II. Faz ise, konjugasyon veya suda çözünürlüğü değiştirerek bu maddelerin eliminasyonunu sağlayabilmektedir. Bu enzim sistemlerinin karsinojenlere karşı az veya daha fazla başarılı olmasının genetik aktarım ile ilgili olduğu ileri sürülmektedir. [49,50].

1.2.7. I.Faz Reaksiyonları

I. Faz reaksiyonları ksenobiyotik mekanizmasının en önemli yolunu oluşturur. I. Faz reaksiyonları yükseltgenme (oksidasyon), indirgenme (redüksiyon) ve hidroliz reaksiyonları olmak üzere 3'e ayrılır (Çizelge 1.3.). Bu sistemde rol oynayan en önemli enzim sistemleri, hücrede düz endoplazmik retikulum membranlarında bulunan CYP enzim sistemidir. Başlıca yükseltgenme (oksidasyon) reaksiyonlarında, demir grubu içeren CYP enzimleri, alifatik hidroksilasyon, alifatik epoksidasyon, aromatik epoksidasyon ve hidroksilasyon, N-, O- veya S-oksidasyon (dealkilasyon), N-hidroksilasyon, Deaminasyon, S-oksidasyon, P-oksidasyon, desülfürasyon ve ester kırılması, oksidatif dehalojenasyon yolları ile bir oksijen atomu getirir. Bu sistemde oksijen, NADP ve NADP-CYP Redüktaz enzimi gereklidir. Oksijen atomlarından sadece bir tanesi ksenobiyotiğe transfer edilirken, diğeri de suya indirgenir. Çünkü bu sistem hem bir oksidant (O_2), hem de bir redüktant (NADPH) içerir. Alkollerin aldehitlere ve aldehitlerinde karboksilik asitlere olan oksidasyonu, alkol dehidrogenaz ve aldehit dehidrogenaz enzimleri tarafından yürütülür [51]. İndirgenme (Redüksiyon) reaksiyonları, genelde nitro ve azo bileşenlerin indirgendiği reaksiyonlardır. Bu reaksiyonlar CYP ve NADPH-CYP Redüktaz enzimleri tarafından NADPH kullanılarak katalizlenir, oksijen tarafından da inhibe edilirler. Hidroliz reaksiyonlarını kataliz eden enzimler hücrede hem granüllü endoplazmik retikulumda hem de mitokondrilerde bulunur. Hidrolazlar: esterazlar, amidazlar, epoksithidrolaz ve karboksihidrolaz enzimleri olmak üzere sınıflandırılabilirler. Bu enzimler normal (endojen) substratları ve yapıcı bunlara benzeyen ksenobiyotikleri hidroliz ederler. Karşılıklı olarak esterazlar amidleri, amidazlar da esterleri hidroliz edebilirler [51].

1.2.8. II. Faz Reaksiyonları

II.Faz reaksiyonları, çeşitli konjugasyon veya sentez olaylarını içerir. I. Faz reaksiyonlarıyla, lipitte çözünen ksenobiyotikler daha polar moleküller haline geçerler, II. Faz reaksiyonlarında ise endojen maddelerle birleşen bu polar metabolitler inaktif şekilde eliminasyona uğrarlar. II. Faz reaksiyonları glukuronik asit, sülfat ve GSH (Glutatyon) ile konjugasyon reaksiyonları, asetilasyon ve metilasyon olmak üzere başlıca 3 reaksiyondan oluşur (Çizelge 1.3.). En sık gerçekleşen konjugasyon reaksiyonlarından biri olan glukuronik asit ile konjugasyonda (Glukuronidasyon); glukuronid substratların oksijen, azot veya kükürt gruplarına bağlanarak glukuronatlar şeklinde atılıma uğramasını sağlarlar. Reaksiyonları kataliz eden enzim üridin difosfat glukuronozil transferaz (UDP-glukuronozil transferaz)'dır. Sülfat ile konjugasyon reaksiyonlarında (Sülfasyon); primer, sekonder, tersiyer alkoller, fenoller ve arilaminler endojen sülfat ile sülfat esterlerini oluştururlar. Bu konjugatlar iyonize oldukları ve suda çözündükleri için hızlı bir şekilde organizmadan atılırlar. Bu reaksiyonların katalizlenebilmesi için önce sülfotransferazların katalizörlüğü eşliğinde sülfat iyonlarının aktivasyonu ile aktif sülfat oluşması (3-fosfoadenozin-5-fosfosülfat) gerekir. Böylelikle, fenol, alkol ve amin grubu taşıyan birçok ksenobiyotik aktif sülfat ile aril sülfat, alkil sülfat veya sülfamatları oluşturur. Sülfotransferazlar ayrıca steroidler, karbohidratlar ve proteinler gibi endojen maddelerin de sülfat esterlerinin oluşmasını kataliz ederler. Glutatyon ile konjugasyon da Glutatyon GSH (γ glutamil sisteinil glisin) molekülü; glutamik asit, sistein ve glisin aminoasitlerinden oluşur. $-SH$, sülfidril grubuna işaret eder ve molekülün alışveriş yapan kısmıdır. Karsinogenik etkilerden korunmada glutatyonun önemli bir rolü vardır. Reaktif ara metabolitleri olan epoksidler ve diğer bazı toksik bileşikler dokularda nükleofilik endojen bileşiklerle, özellikle glutatyon ile konjuge edilerek inaktif duruma getirilirler. Glutatyon molekülündeki sülfidril grubu, güçlü bir nükleofilik grup gibi hareket eder, epoksid veya bazı toksik bileşiklerin veya metabolitlerin elektrofilik merkezlerine bağlanarak onları nötralize yani detoksifiye eder. Eğer toksik potansiyeli olan ksenobiyotikler GSH ile konjugasyona uğramasalardı; DNA, RNA veya hücre proteini ile kovalent olarak birleşmekte serbest olacaklar ve sonuçta ciddi hücre hasarlarına yol açabileceklerdi. Bundan dolayı GSH, bazı ilaçlar ve karsinogenler gibi çeşitli toksik bileşiklere karşı önemli bir savunma mekanizmasıdır [51].

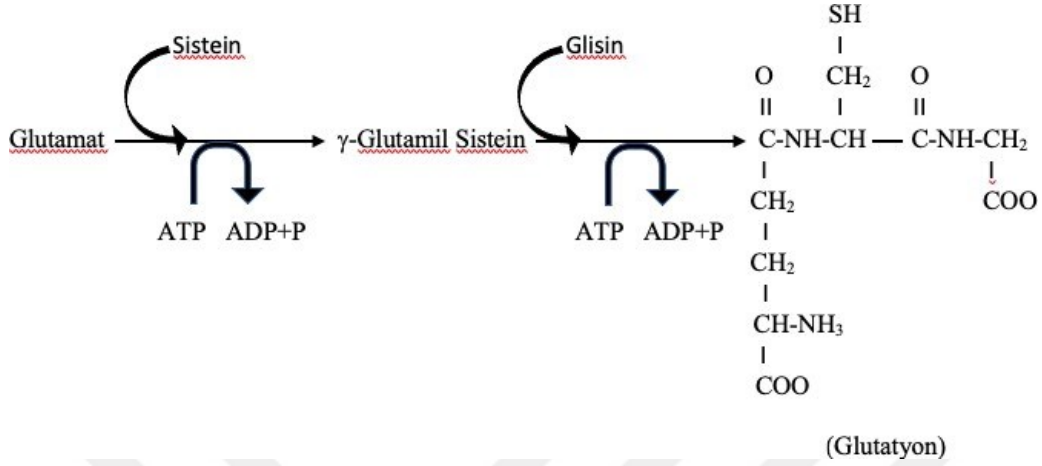
Glutasyon konjugeleri vücuttan atılmadan önce daha ileri metabolizasyona uğrarlar. Glutasyona ait glutamil ve glisin grupları spesifik enzimler tarafından uzaklaştırılırlar ve geri kalan sisteinil kısmının amino grubuna bir asetil grubu (asetil KoA'dan sağlanan) eklenir. Sonuçta meydana gelen bileşik idrarla atılıma uğrayan L-asetil sisteinin konjugesi olan merkapturik asittir [52]. Asetilasyon reaksiyonlarında, KoA ile endojenaçil grubu (asetil) aktive olur ve oluşan asetil KoA ile ksenobiyotik konjuge olur. Asetilasyonu, multiple şekilleri bulunan ve genelde karaciğer, dalak, akciğer ve bağırsak mukozasında bulunan, N-asetil-transferaz enzimleri kataliz eder. Aromatik aminler, arilsubstitüe sulfonamidler, substitüe hidrazin ve bazı aminoasitler N-asetilasyona uğrarlarken, alifatik ve fenil substitüe alifatik aminler asetile olmazlar. Metilasyon, diğer birçok konjugasyon reaksiyonlarına göre farklılık gösterir.

Konjugasyonla ksenobiyotik veya metabolitin fonksiyonel grubu maskelenir ve suda çözünürlüğü azalabilir. Metilasyonda; aminler, fenol yapısındaki bileşiklerle, tiyol grubunu içeren maddeler aktif metil grupları ile N-, O- ve S-metil konjugatlarını oluştururlar. Metil grubunu transfer eden koenzimler S-adenozilmetiyonin, N5-metil-tetrahidrofolat ve vitamin B12 türevleridir. Ksenobiyotiklerin metilasyonunda S-adenozilmetiyonin daha önemlidir. Metiltransferaz enzimleri reaksiyonu katalize ederler. Bu enzimlerin bir kısmı hücrenin çözünen fraksiyonlarında, bir kısmı ise mikrozomlarda yerleşmiştir. Organizmanın normal maddeleri yanında ksenobiyotiklerden kinolin, normikotin, 3,4-dihidroksibenzoik asit mikrozomal enzimle ve daha az miktarda da etilmerkaptan, merkaptetan, tiyourasil, merkaptasetik asit, dimerkaprol metil grubu ile konjuge olurlar [51].

1.2.8.1. Glutasyon-S Transferaz (GST)

Glutasyon, glisin, sistein ve glutamik asitten oluşan bir tripeptittir. Glutasyon konjugasyonu sonucunda tiyoeter yapıdaki maddeler oluşur. Substratların, elektrofilik karbon, oksijen, nitrojen veya sülfür atomları, glutasyonun sülfür grubu ile reaksiyona girmektedir (Şekil.1.5.). Glutasyon sentezinin ilk basamağında, glutamik asit ve sistein, α -glutamil sistein sentaz enzimi aracılığıyla peptid bağı oluşturur, bu şekilde α -glutamil sistein yapısı oluşur. İkinci basamakta ise, oluşan bu yapıya glutatyonsentaz enzimi aracılığıyla glisin aminoasiti peptid bağı ile bağlanır

ve sonunda glutatyon oluşur. Glutatyon karaciğerde oluşur, safrayla veya merkaptürik asite dönüşerek böbreklerden atılır [52].



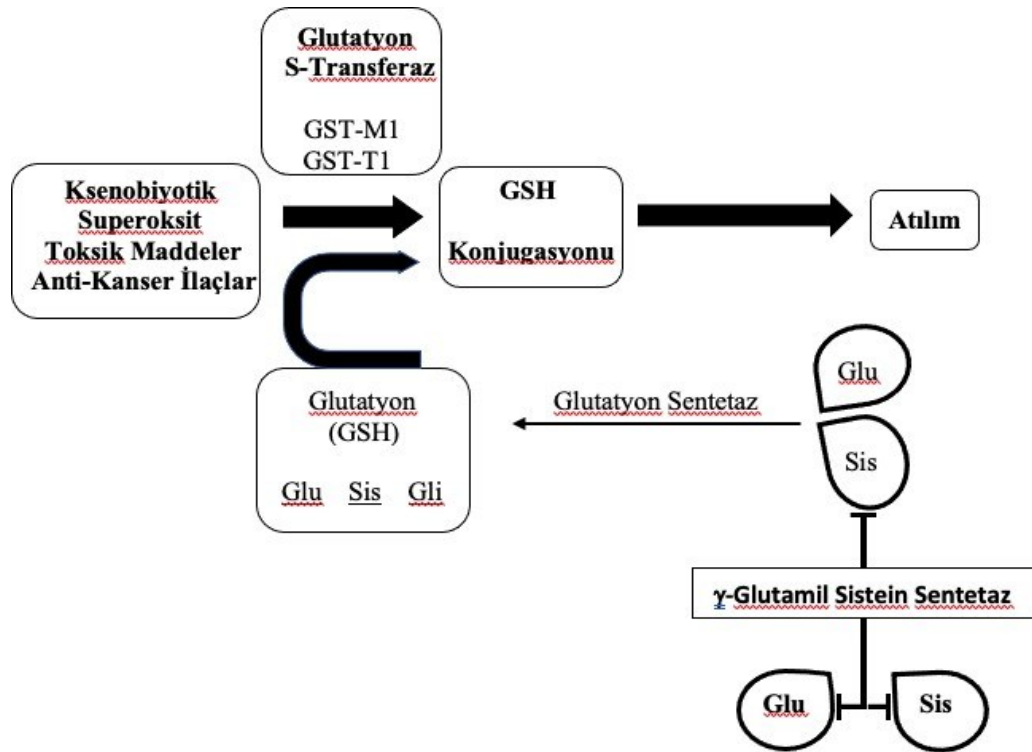
Şekil 1.8. Glutatyon oluşum yolağı

İnsanların birçok doku ve organında bulunan çok işlevli ve geniş spektrumlu substrat özgülüğü olan GST'ler, toksik kimyasallara maruz kalan canlı organizmalarda savunma görevini üstlenirler. GST'ler detoksifikasyon görevini, indirgenmiş glutatyonun (GSH), tiyol (-SH) grupları ile elektrofilik fonksiyonel gruba sahip olan ksenobiyotiklerin (oksidatif strese neden olanlar, çevresel kirleticiler ve karsinojenler gibi) büyük bir kısmının elektrofilik bölgelerini nötralize ederek gerçekleştirir. Oluşan ürün suda çözünen merkaptürik asittir (N-asetilsistein) ve vücuttan idrarla atılır [53,54,55]. GST'ler substratları olan, 4-hidroksil-2-nonenal, kolesterol-5,6-oksit, adeninpropenal, 9-hidroperoksilinoleik asit, dopaminokrom, aminokrom gibi endojen moleküllerin; bütadien, akrolein, aflatoksin B1-8, 9-epoksit, hekza klorobütadien, trikloroetilen, stiren oksit, metilen klorid, etilenoksit, nitrokinolin oksit gibi çevresel karsinojenlerin; lindan, atrazin, DDT gibi pestisitlerin ksenobiyotik metabolizmasında detoksifikasyonunu sağlarken, başta cis-platin gibi, platin bazlı kanser ilaçları olmak üzere, klorambusil, siklosofamid, tiyotepe, fosfomisin, etakrinik asit, nitrogliserin, adriamisin, asetaminofen gibi ilaçlarında aktivitelerini inhibe ederek hücrede bu ilaçlara karşı direncin gelişmesine neden olurlar [56,57]. Primer yapılarına, enzimatik özelliklerine, antikorlarla ilgili reaksiyonlarına, yapısal karakteristiklerine, kimyasal affinitelerine, aminoasit dizilerine ve enzimlerin kimyasal davranışlarına göre GST'ler sitozolik, mikrozomal ve mitokondriyal olmak üzere üç ailede sınıflandırılmıştır. Buna göre sitoplazmik

GST'ler: GST Alfa (GSTA1-1, GSTA2-2, GSTA3-3, GSTA4-4, GSTA5-5), GST Mü (GSTM1-1, GSTM 2-2, GSTM3-3, GSTM4-4, GSTM5-5), GST Pi (GSTP1-1), GST Sigma (GSTS1-1), GST Teta (GSTT1-1, GSTT2-2), GST Zeta (GSTZ1-1), ve GST Omega (GSTO1-1, GSTO2-2) olmak üzere 7 sınıfa, eicosanoid ve glutatyon metabolizmasında membrana bağlı proteinler (MAPEG: Membrane-Associated Proteins in Eicosanoid and Glutathione metabolism) olarak da adlandırılan mirozomal GST'ler; MGST1, MGST2 ve MGST3 olarak üç sınıfa ve son olarak mitokondriyal GST sınıfını oluşturan GST Kappa (GSTK1-1) olmak üzere toplam 11 sınıfta incelenmektedir [58].

- **Glutatyon S-Transferazların Detoksifikasyondaki Rolü**

Glutatyon sentezi ve bu sistemde görev alan enzimler birçok antikanser ilacın inaktivasyonuna veya detoksifikasyonuna doğrudan karışmaktadır [59,60]. Platinyum bazlı bileşikler ve alkilleyici ajanlar akciğer kanseri tedavisinde kullanılan önemli ilaçlardır. Bu ilaçlar başlıca glutatyon sistemi vasıtasıyla inaktive edilmektedir. Bu sistemde görev alan önemli enzimler Şekil 1.6.'da gösterilmiştir. Bu enzimler, γ -gutamil sistein sentetaz, glutatyon S-transferaz pi, glutatyon S-transferaz mu ve glutatyon S-transferaz teta'dır [61].



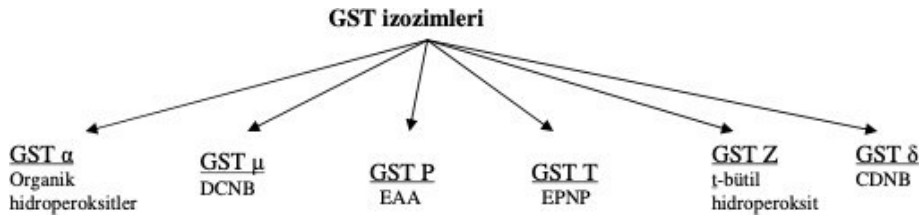
- **Glutasyon S-transferaz Enzimlerinin Substratları**

Glutasyon S-transferaz enzimleri, kemoterapötik ilaçlar, çevresel karsinojenler ve endojen moleküller olmak üzere xenobiyotiklerin geniş bir spektrumunu detoksifiye ederler. GST enzimlerinin substratları Çizelge 1.4.'da gösterilmiştir [63].

Çizelge 1.4. Glutasyon-S Transferaz enziminin substratları [63].

Endojen moleküller	İlaçlar	Çevresel karsinojenler	Pestisitler
4-Hidroksil-2-nonenal	Sisplatin	Bütadien	Lindan
Kolesterol-5,6-oksit	Klorambusil	Akrolein	Atrazin
Adenin propenal	Siklofosfamid	Aflatoksin B1-8,9-epoksit	DDT
9-Hidroperoksi-linoleikasit	Tiyotepe	Hekzaklorobütadien	
Dopaminokrom	Fosfomisin	Trikloroetilen	
Aminokrom	Etakrinik asit	Stiren oksit	
	Nitrogliserin	Metilen klorid	
	Adriamisin	Etilenoksit	
	Asetaminofen	Nitrokinolin oksit	

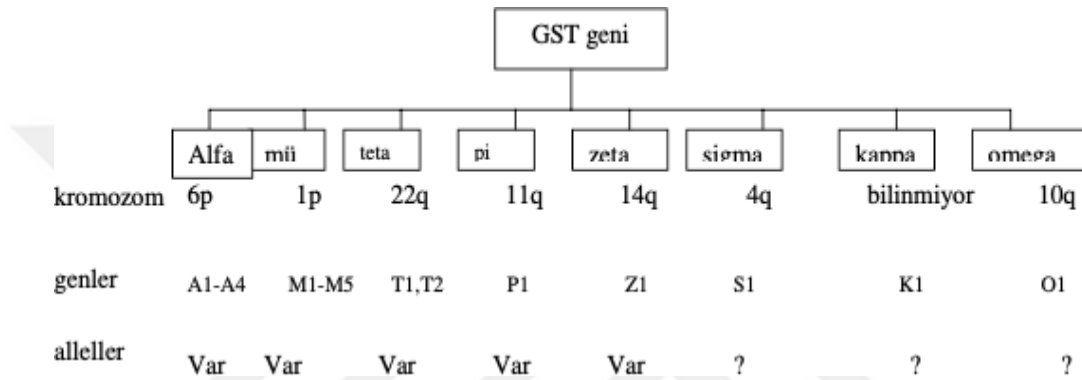
GST izozimlerinin spesifik substratları ise Şekil 1.7.'de gösterilmiştir [64]. Buna göre, GSTA için organik hidroperoksitler, GSTM için 1,2-dikloro-4-nitrobenzen, GSTP için 3-dikloro-4-(2-metilen bütiril) fenoksi asetik asit (Etakrinik asit), GSTT için 1,2-epoksi-3-(p-nitrofenoksi) propen, GSTZ için t-bütıl hidroperoksit, GSTS için 1-kloro-2,4-dinitrobenzen spesifik substratlardır.



Şekil.1.10. GST izozimlerinin Spesifik Substratları [64].

- **Glutatyon-S Transferazların Sınıflandırılması**

Glutatyon S-transferazların tek bir ortak genden kaynaklandığı, bunların substrat seçiciliği ve çeşitlerinin gen duplikasyonu, gen rekombinasyonu ve mutasyonların birikmesi ile yeniden biçimlendirildiği varsayılmaktadır [65]. Sitozolikglutatyon S-transferazlar Şekil 1.8.'de görüldüğü gibi 8 alt sınıfa ayrılmaktadır. Bunlardan GST alfa; 6. kromozomda, mü; 1. kromozomda, teta; 22. kromozomda, pi; 11. kromozomda, zeta; 14. kromozomda, sigma; 4. kromozomda, omega; 10. kromozomdadır, kappa' nın kromozomu ise bilinmemektedir [66].



Şekil.1.11. Glutatyon-S Transferaz Supergen Ailesi [67].

1.2.9. Tümör Baskılayıcı p53

İlk olarak 1979 yılında, onkogen olarak tanımlanan p53 geni, ürünü transkripsiyon faktörü olarak işlev gören 393 aminoasitten oluşan, tetramerik yapılı nükleer bir fosfoproteindir. “Genomun gardiyanı” olarak tanımlanan normal p53 (wild-type) tümör baskılayıcı geni, genomun bütünlüğünü koruyarak hücresel döngünün güvenli bir şekilde devam etmesini sağlar [68,69]. Tüm kanser vakalarının yarısının p53 genindeki mutasyonlarla ilişkili olduğu tahmin edilmektedir. Bu tahmin, p53’ün hücre çoğalmasında anahtar bir olayı kontrol ettiğini ve bu regulasyonun hücreye veya dokuya özgül olmadığını akla getirir. Çalışmalar normal hücrelerin düşük düzeyde p53 proteini içerdiğini göstermiştir [70]. P53 proteini radyasyona duyarlılığından dolayı iki yola girer:

Birinci yolda; DNA’da hasar oluşturan U.V. ışınlar, doğal tip (normal) p53 protein düzeyini güçlü bir şekilde artırır ve bu yüzden hücresel döngüyü G1 fazında durdurarak, DNA hasarının onarımı için uygun zaman sağlar [71]. İkinci yolda ise hata tamir edilmezse p53, hücrenin bölünmesini durdurur ve hücreyi apoptoza

yönlendirir [72]. Farklı mutasyonlar p53'ü değiştirerek farklı özellikler kazanmasına neden olurlar [73]. Proteinin yapısı değiştiği için DNA'ya bağlanamaz. Genin tek alelinde meydana gelen mutasyon hücrede fonksiyonel p53 proteini yokmuş gibi davranır. Mutant alel normal alelin fonksiyonunu engellediği için “dominant negatif” denir. Bu genin homozigot kaybı, DNA hasarının onarılmamasıyla sonuçlanır ve hücre malign yönde değişime uğrar [74]. Hücre döngüsünün kontrolünde p53 geninin esas rolü, kanser ve hücre döngüsüyle, kanser ve hücre büyümesini düzenleyen genler arasındaki ilişkilerin önemini ortaya koymaktadır [70].

1.3. Beyin Kanserinde GST ve p53 Enzimlerinin Gen ve Protein İfadeleri

Kromozomun 1p13 bölgesinde GST enzime ait çeşitli sınıflara ait gen tespit edilmiştir. Bunlardan GSTM ve GSTT1 genine ait enzim, sigara dumanında bulunan karsinojenlerden, benzo [α] piren'nin hidroksilat metabolitleri ve epoksid bileşikler gibi polisiklik aromatik hidrokarbonların detoksifikasyonunda rol alan izoenzimdir [75]. GSTM1 lokusları katalitik aktivite gösteren aktif enzimler oluşturabilirken, GSTM1'in homozigot delesyonu sonucu oluşan GSTM1 (null alel) katalitik olarak aktif enzim oluşturamamaktadır [76]. GST enzimlerinin detoksifikasyon metabolizmasında önemli görevlere sahip olması nedeniyle, bu enzimleri kodlayan lokuslarda meydana gelen mutasyonların enzim aktivitesini değiştirmesi sonucu, bireylerde kanser riskinin artırabileceği düşünülmektedir [77]. Bazı çalışmalarda GSTM1 null genotip ile meme, mesane, kolon kanser tipleri ve beyin tümörü gelişimi ilişkilendirilmiş olmasına rağmen [78,79], diğer çalışmalar GSTM1 null genotipin kanser gelişimine katkısı olmadığını göstermektedir [80,81]. Ayrıca sigara kullanımına bağlı bazı kanserlerin gelişimine GSTM1 null genotipin etkisi tartışmalı bir konudur [78,82,83,84]. Bazı çalışmalarda farklı histopatolojik tip beyin tümörü gelişiminde GSTM1 nullgenotip etkisi istatistiksel olarak önemli bulunurken diğerlerinde önemsiz bulmuştur [78,82]. Ayrıca yapılan çalışmalarda gen düzeyinde ekspresyonun protein düzeyinde sentez durumunu engelleyecek mutasyonların yol açtığı durumlar birçok çalışma ile ortaya konularak beyin tümörü oluşum mekanizmasında GSTT1 enzim etkinliği izozimi durumunda olan GSTM1 kadar efektif role sahip olduğu gösterilmiştir [85,86,87,88,89]. Kanser vakalarının yüzde

ellisinde mutasyona uğrayan tümör baskılayıcı gen TP53 tarafından kodlanan p53 proteini en çok çalışılmış genlerden biridir. Bu protein mutasyona uğramadığında, doğal koşullarda hücrel stres yanıtlarında rol oynar. DNA hasarı, oksidatif stres, hipoksi, ribozomal stres, telomer kısalması, enerjetik kısıtlamalar ve onkogen aktivasyonu gibi biyolojik olaylar p53 proteininin aktivasyonuna neden olur. Aktif p53, tetramer oluşturan ve DNA'ya bağlanan bir transkripsiyon faktörüdür. Bu transkripsiyon faktörü pek çok geni kontrol etmekte ve hücrelerin stres sonrasında hasarı tamir edebilmeleri için hücre döngüsünü yavaşlatır, gerekirse senesens'e yönlendirir ya da hasar tamir edilemez ise apoptoza yönlendirir. Kanselerde görünen mutant p53 proteinleri DNA bağlanma bölgelerinde taşıdıkları mutasyonlar sonucunda bağlanamaz, aktivitelerini kaybeder ve hücrelerin apoptotik ölümden kaçmalarına neden olur. p53 proteini insan sağlığı için bu kadar temel bir konumda olsa bile hale fonksiyonu hakkında bilinmeyen pek çok detay bulunmaktadır. Bu bağlamda hem temel bilimsel araştırmaların hem de ilaç geliştirme girişimlerinin önemli bir hedefi olmaya devam etmektedir. Onkogenlerin mutasyonel aktivasyonu, tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonu, hücre döngüsünün ve apoptozisin düzenlenmesinde görev alan özellikle p53 gibi genlerde ortaya çıkan değişiklikler, DNA tamirinde görev alan genlerde ortaya çıkan değişiklikler, büyüme faktörleri ve reseptörlerine ilişkin değişiklikler kanser oluşumunda etiyolojik açıdan moleküler düzeyde incelenen genetik olaylardır [90]. Ağırlıklı olarak tümör baskılayıcı aktivitesi olan p53 proteininin 200'den fazla hedef gen üzerinde transaktivasyon ve transkripsiyon faktörü olarak davrandığı bilinmektedir. Ayrıca p53 doğal ve adaptif immün yanıtlar, üreme-gelişme, nöral dejenerasyon ve yaşlanmayı yöneten kritik bir faktör olarak bulunmuştur [91,92]. En yaygın p53 polimorfizmi aminoasit kodon 72 de meydana gelir, CCC veya CGC nükleotid sekansları sırasıyla prolin (P72) ya da arjinin (R72) residülerini kodlar [93]. Yapılan çalışmalardan bazıları kodon 72 polimorfizminin p53 fonksiyonunda değişim olduğunu göstermiştir [94]. DNA hasarına cevap olarak R72 varyantı apoptozisinsüper bir uyarıcısıyken, P72 varyantı hücre döngüsünü durdurmaya teşvik etmektedir [95]. P53 mutasyonları insan kanserlerinde en sık genetik değişikliktir. Bu mutasyonlar birçok organda gelişme gösteren tümörde sıklıkla gösterilmiştir. Normal dokuda p53 proteini hızlı turn-over ve kısa yarılanma süresi nedeniyle immunohistokimyasal olarak belirlenemez. Bununla birlikte mutasyona uğramış, stabilize p53 proteini saptanabilir. Hipofiz adenomları yavaş büyüyen benign tümörler olmakla birlikte, sellayı aşip optik

kiazmaya baskı oluşturarak kavernöz sinüse, hatta sfenoid sinüse invazyon gösterme eğilimi taşırlar. İnvaziv adenomların kemiğe ve çok daha nadir olarak beyine infiltrasyonu da mümkündür. Agresif davranış gösterebilen ve nüks edebilen hipofiz adenomlarının bu eğilimlerinin önceden belirlenebilmesi ve tedavi seğeneklerinin kullanılabilmesi için uygun bir parametre henüz belirlenememiştir [96].



2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Kullanılan Malzemeler

2.1.1. Kullanılan Laboratuvar Cihaz ve Malzemeleri

- Real Time PCR (Roche LightCycler 480-qPCR)
- ThermalCycler PCR (Techne-TCPLUS-BioRad T100)
- Dizi Analizi Sistemi-Sekanslama Cihazı (Applied Bioscience-ABI-3130xl Genetic Analyzer)
- Oligonükleotid Sentez Sistemi (Applied Bioscience-ABI 394 Synthesizer)
- Yüksek Performans Sıvı Kromatografi Sistemi (Agilent-HPLC)
- Saflaştırma Kolonu (Thermofisher Scientific Accucore™ XL C8 HPLC Column)
- Jel Elektrophoresis Sistemi (Thermofisher Scientific)
- Florometre (Invitrogen- Qubit)
- Thermomixer (Tetra)
- Soğutmalı Santrifüj (Hettich-Rotina)
- Tam otomatik RotaryMikrotom (Leica-RM2255)
- Floresan Ataçmanlı Araştırma Mikroskobu (Leica 5000B)
- pH metre (MettlerToledo)
- Işık Mikroskobu (Zeiss- Primostar)
- Otomatik mikropipet seti (CAPP)
- Lamiarflow kabin (Ecco-Class II)
- Kit saklama dolabı (Efostar)
- Isıtıcı manyetik karıştırıcı (Heidolph-MRHei)

- Vortex (Heidolph)
- Etüv (Binder-ED53)
- Ultra distile Su sistemi (ElgaPurelabOptia)
- Otoklav (Hirayama HG-80)
- Buzdolabı (Beko-9621)
- Isıtıcılı manyetik karıştırıcı (IKA C-Mag H58)
- Ocak (Arçelik021)
- Dödüklü Tencere (Hisar)
- Boyama tablası (Biogen)
- Mikrotom bıçağı (Shandon MB35)
- Lamel (Isolab)
- Poly-L-lysin kaplı lamalar (Thermo)
- -80 °C Buzdolabı (GFL6485)
- Mezür, beher, erlenmayer, balon joje (isolab)
- Multiwellplate (Roche)

2.1.2. Kullanılan Kitler ve Kimyasal Malzemeler

- DNA Sentez kiti (Invitrogen-Thermofisher DNA Isolation Kit)
- BIORAD SyberGreen Master MixforqPCR
- BIORAD Thermal Cycler Master Mix
- Adenin, Timin, Guanin, Sitozin bazları (Phosphoramidites-Sigma Alderich)
- Oligonükleotid Sentez Standart Kolonları (CPG,1000°A)
- Oligonükleotid Sentez Kimyasalları (Aktivatör, CAP, Oksidasyon Sıvısı, Bloklama Sıvısı- Sigma Alderich)
- Hi-Di™ Formamide (Thermofisher Scientific)
- Tavşan-Fare Polivalan HRP (Horse radish peroxidase) kiti

- 3,3-Diaminobenzidine (DAB) kromojen kit
- Sitrat Tamponu
- Fosfat Tamponu
- Ksilol
- Alkol (Etanol)
- %3'lük H₂O₂ (Hidrojen Peroksit)
- Trietilamin Asetat (TEAA)
- Asetonitril (ACN)
- %33 Amonyum Hidroksit (NH₃OH)

2.1.3. Kullanılan İlgili Gen Bölgesi Primerleri ve Antikorlar

- GSTM1 Glutasyon S-Transferaz Mü1 Primeri (Oligonükleotid Sentez)
- GSTT1 Glutasyon S-Transferaz Teta1 Primeri (Oligonükleotid Sentez)
- TP53 Tümör baskılayıcı gen primeri (Oligonükleotid Sentez)
- Anti-GSTM1 (Boster Biological, Pleasanton, CA, USA)
- Anti-GSTT1 (Cloud-Clone Corp.)
- Anti-p53 (Santa Cruz Biotechnology Inc., USA)

2.2. Materyal

2.2.1. Hasta Dokularının Toplanması ve Klinik Bilgiler

Çalışma kapsamında, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı'na 27.02.2019 tarih, 2012 toplantı sayılı ve 15/1810 karar sayısı alınan etik kurul onayı [Ek 1.] doğrultusunda, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Beyin Cerrahisi Kliniği Arşivi'nden alınan parafine gömülü, 142 adet beyin tümörü teşhisi konulmuş hasta dokusu ve bunların normal periferik dokuları kullanılmıştır. Çalışmaya konu olan 142 beyin tümürlü hastanın 83 (%58,45)'i erkek, 59 (41,55)'u kadın hastalardan oluşmakta olup, hastaların yaş ortalamaları 49,44±8,09 dur. Hasta

bilgileri ve tümör TNM sınıflandırmalarına göre üç farklı tümör evresinde gruplanan hastaların toplamda 114 (%80,28)'i Evre 1, 17 (%11,97)'si Evre 2 ve diğer 11 (%7,75)'i de Evre 3 hastalardır. Hastaların, 45 (%31,69)'i, hastalık teşhisleri konulduğu güne kadar sigara içmekteyken, 97 (%68,31) hasta ise hayatları boyunca sigara içmediği bilinmektedir. Hastaların, 15 (%10,56)'i alkol kullanırken, 127 (%89,44)'sinin alkol kullanmadığı rapor edilmiştir. Klinik verilere göre 55 hasta radyoterapi (RT) tedavisi alırken, 32 hastanın ise kemoterapi (KT) tedavisi aldığı kayıtlarda yer almıştır.

2.3. Yöntem

2.3.1. Parafine Gömülü Dokulardan Protein Ekspresyonu Tayini

2.3.1.1. İmmunohistokimyasal Boyama Yöntemi

Hastaların normal ve tümörlü dokularından her bir izozim için 4-5 µm kalınlığında poly-L-lysin kaplı lamlara ince kesitler alındı. Dokular, deparafinizasyon için etüvde 70°C'de 1 saat, ısınmış ksilolde 10 dakika bekletildi. Etüvden çıkarılan preparatlar soğuması için oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi ve ardından alçalan alkol serilerinden 1'er dakika geçirildi. Distile suda 1-2 dakika bekletilen preparatlar endojen peroksidaz aktivitesinin inhibisyonu için 10 dakika H₂O₂ blokajında bekletildi. Çeşme suyunda 5 dakika yıkanan preparatlar PBS tampona batırılıp çıkarıldıktan sonra antijen retrieval solüsyonu içerisinde düdüklü tencerede 3 dakika kaynatıldı. Nonspesifik boyanmanın engellenmesi amacıyla protein blocking solüsyonunda 10 dakika bekletilen preparatlara 1 saat süreyle uygun dilüsyon oranlarında hazırlanan antikorlar (GSTM1 1/100; GSTT1 1/50; P53 1/50) uygulandı. Aralarda PBS tamponla 3 kere yıkanmak şartıyla örneklerle sırasıyla, 10 dakika sekonder antikor ardından streptavidin-proksidaz kompleksi uygulandı. Tekrar 3 kere PBS tamponla yıkanan preparatlar 5 dakika DAB da tutulduktan sonra 1 dakika distile suda yıkandı. 2 dakika hemotoksilende bekletilen preparatlar yükselen alkol serilerinden 1'er dakika geçirilerek ksilolde 5 dakika bekletildi. Son olarak entellan ile preparatlar kapatıldı. İmmunohistokimyasal değerlendirmeler ışık mikroskopunda, dokuların boyanma derecelerine göre;

(0): negatif boyanma (protein ifadesi yok), (+1): hafif şiddette protein ifadesi, (+2): orta şiddette protein ifadesi, (+3): şiddetli boyanma ifadesi şeklinde yapıldı [99].

2.3.2. Parafine Gömülü Dokulardan Mutasyon Analizi

2.3.2.1. Parafin Bloktan Elde Edilmiş Dokulardan cDNA İzolasyonu

Deparafinize edilen dokulardan cDNA izolasyonu, parafine gömülü dokulardan genomik DNA izolasyon kiti (Invitrogen PureLink DNA Mini Extraction Kit) protokölüne uygun olarak yapıldı. Buna göre; 2 ayrı su banyosu veya ısı bloğunu sırasıyla 37°C ve 50°C'ye ayarlayınıldı. 20–50 mm² doku yüzey alanına sahip 5–15 µm kalınlığında 1–8 bölüm kadar steril bir mikrosantrifüj tüpü içine yerleştirildi (20 mg'dan fazla doku). Ürüne 1 mL CitriSolv™ Temizleme Maddesi (Fisher kat. No. 22-143-975) eklendi. Numuneler birkaç saniye kuvvetlice vorteks uygulandı. Parafin ekstraksiyonu için CitriSolv™ temizleme maddesi, ksilen için biyo bozunur bir alternatiftir. CitriSolv™ yerine ksilen de kullanabilmektedir. Ksilen kullanırken alınması gereken önlemler kurulan kurumsal yönergeler ve ksilenin uygun şekilde kullanılması gerekmektedir. Dokunun pelet haline getirilmesi için oda sıcaklığında maksimum hızda 3 dakika santrifüjlenerek, süpernatantı pelet etkilenmeden dikkatlice çıkarıldı. Doku peletini yeniden süspanse etmek için 1 mL %96-100 etanol eklendi ve vorteks uygulandı. Doku pelet haline getirmek için oda sıcaklığında maksimum hızda 3 dakika santrifüjlendi. Süpernatantı pelet etkilenmeden dikkatlice çıkarıldı. 1 mL %96-100 etanol tekrar eklendi ve vorteks uygulandı. Bu işlemin ardından oda sıcaklığında maksimum hızda santrifüj 3 dakika tekrar uygulanarak süpernatant pelet kısmı etkilenmeden dikkatlice çıkarıldı. Tüpte kalan az miktarda ki etanolün uzaklaştırılması için tüpleri kapak açıkken 37°C de 5-10 dakika inkübe edildi. Ve etanolün ortamdan uzaklaşması sağlandı. 180 µLPureLink® Genomik Sindirim Tamponu ve 20 µLProteinaz K eklendi. Kısa vortekslenerek iyice karıştırıldı. Gece boyunca 50 °C'de inkübe edildi. Lizatı oda sıcaklığında 3 dakika boyunca maksimum hızda santrifüjlendi. Partiküllü ve diğer kalıntı malzemeleri çıkarmak için lizate yeni, sterilize mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı. Lizata 20 µLRNase A eklendi, vorteks uygulandı ve oda sıcaklığında 2 dakika inkübe edildi. 200 µLPureLink® Genomik Lizat / Bağlama Tamponu eklendi ve kısa süreli vorteks uygulayarak iyice karıştırıldı. Lizata 200 µL %96-100 etanol eklendi. Homojen bir çözelti elde etmek için vortekslenerek 5 saniye kadar iyice karıştırıldı. PureLink®

spin kolonuna PureLink® Genomik Liziz/Bağlayıcı ile hazırlanan tampon ve etanol lizati ~ 640 µL kadar eklendi. Spin kolon için, oda sıcaklığında 1 dakika boyunca 10,000×g'de santrifüj uygulandı. Toplama tüpü atıldı ve döndürme kolonunu kitle birlikte verilen temiz bir toplama tüpü PureLink® içine yerleştirildi. Kolona etanol ile hazırlanmış 500 uL yıkama tamponu 1 eklendi. Kolonu 1 dakika boyunca oda sıcaklığında 10,000×g'de santrifüjlendi. Toplama tüpü atıldı ve döndürme kolonunu kitle birlikte verilen temiz bir toplama tüpü olan PureLink® içine yerleştirildi. Kolona etanol ile hazırlanmış 500 uL yıkama tamponu 2 eklendi. Kolonu oda sıcaklığında 3 dakika boyunca maksimum hızda santrifüj uygulandı. Toplama tüpünü atıldı. Spin kolonunu 1.5 mL steril mikrosantrifüj tüpüne yerleştirildi. Kolona 25–200 µL PureLink® genomik elüsyon tamponu eklendi. Oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edilmesi sağlandı. Kolonu oda sıcaklığında 1 dakika maksimum hız ile santrifüjlendi ve tüp içerisinde saflaştırılmış genomik DNA eldesi sağlanmış oldu. Daha fazla DNA geri kazanmak için, aynı elüsyonu kullanarak ikinci bir elüsyon adımı gerçekleştirmek için başka bir steril, 1.5 mL mikrosantrifüj tüpünde aynı tampon kullanılarak oda sıcaklığında 1.5 dakika boyunca maksimum hızda santrifüjlendi ve ikinci tekrar ile yeni bir stok DNA eldesi sağlandı. Elde edilen DNA'lar yoğunluk ve saflık ölçümleri veya çalışma sürecine kadar -20°C'de muhafaza edildi.

2.3.2.2. İzole Edilen cDNA'ların Ölçümlendirilmesi

Dokulardan izole edilen mgenomik DNA'ların miktarları, nanodrop cihazında ölçülerek raporlandı. Bu raporlama sırasında moleküler materyalin konsantrasyon ve saflık değerlerine ulaşıldı. Ölçümlendirilen genomik DNA'ların konsantrasyonları qPCR sisteminde “melting curve” analizi metoduna uygun olarak 50ng/uL ye dilüe edilerek bütün numuneler standart konsantrasyona sahip olacak şekilde dilüsyonları yapıldı. Saflıkları 260/280 nmabsorbans aralığında 1,8-2,0 aralığında olmasına dikkat edilerek yapının saflığından emin olunması ve polimeraz zincir aktivitesi sırasında gerçekleşecek reaksiyonlara engel teşkil edecek bir durumun ortadan kaldırılması sağlandı. Tüm bu durumlara uygunluk göstermeyen numuneler çalışma dışı bırakıldı.

2.3.2.3. Çalışmada Kullanılacak Primerlerin Belirlenmesi

Çalışmada kullanılacak ve mutajenik gen bölgelerinin yapılmış olan çalışmalarda sık rastlanan gen dizileri belirlenerek çalışmada kullanılmak üzere tespit edilmiştir.

GST-T1, GST-M1 ve TP53 gen bölgelerine ait çalışmada kullanılan primer yapıları Tablo 1.9. da belirtilmiştir.

Çizelge.2.1. Çalışmada kullanılacak GST-T1, GST-M1 ve TP53 primer yapıları [97,98].

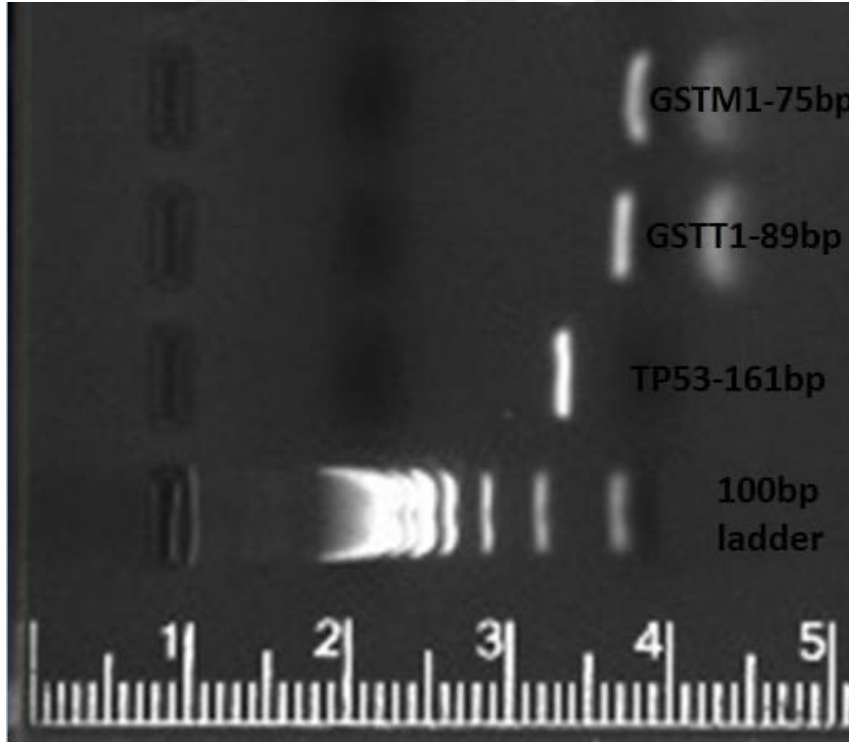
Çalışmada Kullanılan Primer Adı	Dizi 5'>3'	T _m (°C) Melting Temperature
GST-T1 (NM_000853) Forward	5-CAAGTCCCAGAGCACCTCACCTC-3'	60,1
GST-T1 (NM_000853) Reverse	5-GTGTGCATCATTCTCATTGTGGCTT-3'	56,6
GST-M1 (NM000561) Forward	5'-TGCATTTCGTTTCATGTGACAGTATTCT-3'	55,3
GST-M1 (NM000561) Reverse	5'-GAGAGGAGACCGGGCACTCA-3'	57,2
TP53 (NM000546.6) Forward	5'-CGGACGATATTGAACAATGG-3'	48,9
TP53 (NM000546.6) Reverse	5'-CTGGGAAGGGACAGAAGATG-3'	51,4

Çalışmada kullanılan primerlerden TP53 primer dizisi, “Applied BioScience 394” sistemi kullanılarak, reaksiyon başlangıcında taze olarak uygun derişimlerde hazırlandı ve sisteme yüklenmiş uygun reaksiyon kimyasalları, fosforamidite’lar ve sistem üzerinde yüklü olan “50nmol oligonükleotid sentez” protokolü uygulanarak standart sentez kolonları içerisinde sentezlendi. Sistemde tamamlanan sentez işlemi sonrası, sentez kolonları içerisinde ki filtrelerde reaksiyon sonrası oluşan hedef primer yapılarının 1000°A CPG (Controlled Pore Glass) sentez kolonu içerisinde yer alan “support” gruplarından koparılması için %33’lük saf Amonyum Hidroksit (NH₃OH)’in gaz halinde maruziyeti için dışarıdan izole korunaklı bir aparat

içerisinde 70°C’de sıvı banyosunda üç saat inkübasyona bırakıldı. Bu aşama sentezde “cleavage” aşaması olarak bilinir. Ayrıca yapıda, zincir uçlarında ki fosforamidite kısmında sentez sonrası halen yer alan “koruma grupları”nın da uzaklaştırılması için “de-protection” basamağı olarak uygulandı. Koruma gruplarından ayrılan hedef primer dizinin eldesinden önce ortamda oluşan reaksiyon yan ürünleri ile kontaminasyona neden olabilecek bileşenlerden ayırmak üzere sırasıyla; %80 ve %100 etanolden geçirildi. Ardından sentez kolonları içerisinde yer alan hedef primer dizisinin eldesi uygun steril kapaklı tüplere %30 saflıkta asetonitril (ACN) ile elüsyon yapılarak alındı. Hedef primer zincirimizin bulunduğu bu tüplerde ki asetonitril 10 dakika kapakları açılmış tüplerden oda sıcaklığında uçurulması sağlandı. Tüplerde saf su içerisinde hedef primer zincirimizin kaldığı öngörüldü. Ancak bu aşamada saflığından kesin olunması ve kalitesinin kontrolü için nanodrop sistemi ile tek zincirli primer dizilerimizin ölçümü yapılarak kromotografik saflaştırma işlemine geçilmeden önce tüplerde yeralan saf su vakum santrifüjü ile ortamdan uzaklaştırıldı, tüplerin içerisinde “solid” halde moleküler yapının kalması sağlandı. Ardından tüpler içerisinde yer alan moleküler yapı “High Performance Liquid Chromotography” (HPLC) sisteminin tampon sıvısı (akış materyali) olarak kullanılan 0,1M trietilaminasetat (TEAA) sıvısı ile dilüsyonu yapıldı ve homojen olması için kısa süreli (2-3 saniye) vorteks uygulandı. Ardından gradient program uygulanarak “Agilent” marka HPLC sisteminde C8 kolonu kullanılarak oda sıcaklığında yine 0,1M trietilaminasetat (TEAA) tamponundan yararlanılarak TP53 primer dizisinin saflaştırma ve analiz işlemi yapıldı. Uygun koşullarda gerçekleştirilen bu işlemin ardından elde edilen saf primer dizileri HPLC sisteminin “fractional collector” ünitesinden toplandı. Elde edilen tüpler de yer alan bu numuneler içerisinde 0,1M trietilaminasetat yine vakum santrifüjü yardımıyla uzaklaştırıldı ve reaksiyon sonucu oluşan tuzlar “desalting” işlemi uygulanarak uzaklaştırıldı ve primer dizileri “DNase/RNase free” su ile dilüsyonu gerçekleştirilerek kullanıma hazır hale getirildi.

Çalışmamızda kullanılan primer dizilerinin “genetik” olarak kullanımının uygunluğunun kontrolü için, NCBI (National Center For Biotechnology Information) internette ki veri tabanından yararlanılarak GST-M1, GST-T1 ve TP53 gen bölgelerinin analizinde kullanılacak primerlerin, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) sonucu oluşacak baz büyüklüklerinin kontrolü sağlandı. Buna göre; GST-M1 primeri

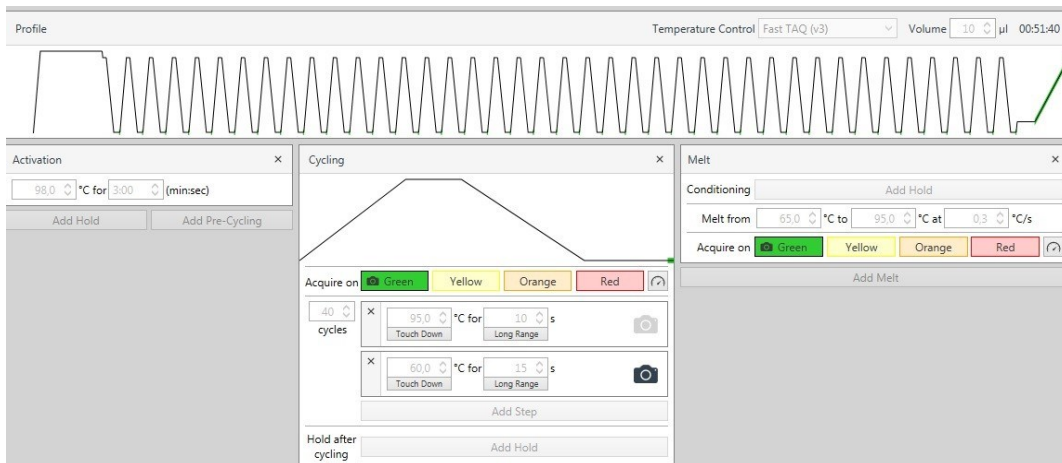
75baz çifti büyüklüğünde, GST-T1 primeri 89baz çifti büyüklüğünde ve TP53 primeri ise 161 baz çifti büyüklüğünde bir gen bölgesinin, polimeraz enzimi aktivitesi ile eşleşmek suretiyle zincir rekasiyon oluşmasını sağlamakta olduğu verileri elde edilmiştir. Bununla birlikte; Tablo 1.9’da verildiği üzere, Tm (Melting Temperature) değerleri sistem üzerinde yer alan gereçler (tool) kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonunda, enzim ile aktivasyonunda ki optimum sıcaklıkları hesaplanmıştır. Buna göre rastgele bir genomik DNA, “patern” olarak kullanılmış ve konvensiyonel polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) işlemi uygulanarak bu gen bölgeleri çoğaltılmıştır. Elde edilen PCR ürünleri konfirmasyon amaçlı 100bp boyutunda ki “ladder” ile karşılaştırmak suretiyle oluşan bantların oluşumunun gözlemlenmesi için %1,5’lik agaroz jel elektroforez işlemi uygulanmıştır. Ve Şekil.2.1.’de belirtildiği üzere elde edilen elektroforez jel görüntüsünün NCBI veritabanında, bu dizilerin sorumlu olduğu gen bölgesinde ki baz büyüklükleri verileri ile aynı olduğu gözlemlenerek, böylece primer etkinliğinin konfirmasyonu gerçekleştirilmiştir.



Şekil.2.1. GST-M1, GST-T1 ve TP53 primerlerinin aktivasyonu ve konfirmasyonu amacıyla ilgili gen bölgesine ait baz büyüklüklerinin kontrolü amaçlı elde edilen elektroforez jel görüntüsü.

2.3.2.4. Real Time PCR ile Gen ifadelerinin Melting Curve Analizi

Deoksiribonükleid asit (DNA) üzerinde yer alan bir gen dizisi üzerinde ki bölgeleri primer baz dizileri ile polimeraz enzim aktivitesinden yararlanılarak, çeşitli sıcaklık durumlarını, belirli zamanlar ile uygulanmasıyla hücre çekirdeği içerisinde ki moleküler materyalin çoğalmasını simüle eden sistemlere “polimeraz zincir reaksiyonu” (PCR) sistemleri adı verilir. Real Time PCR sistemleri, konvensiyonel PCR sistemlerinden farklı olarak, çoğalan moleküler materyalin ışımaya prensibine bağlı olarak spektrofotometrik yöntem ile miktar tayinini kantitatif olarak belirlemektedir. Bu nedenle bu sistemlere aynı zamanda “kantitatif PCR” adı verilir. Hastaların normal ve tümörlü dokularında gen ifadelerinin belirlenmesi amacıyla, GSTM1 primer, GSTT1 hedef genleri kullanıldı. Her bir hedef bölgesi gen primerleri ile Bio-Rad SyberGreen Master Miks kullanılarak her bir örnek için 0,8uL µl primer (0,4uL Forward ve 0,4uL Reverse primeri olmak üzere), 5µl syber gren mastermiks ve 2µl örneklerin cDNA’sı ve 2,2uL su (DNase/RNasefree) olacak şekilde hazırlanan karışım Roche LightCycler 480- 96 multi well plate kuyucuklarına steril laminar flow kabin içerisinde aktarıldı. Dokularda hedef genlerin, gen ifadelerinin belirlenebilmesi amacıyla; 98°C’de 3 dk. 1 döngü olacak şekilde denatürasyon işlemi; her döngüsü, 95°C’de 10 sn, 60°C’de 15sn, olacak şekilde 40 döngülü çoğaltma işlemi ve son olarak da 65°C’den, 95°C’ye 0,3°C/sn olacak şekilde melting curve aşamalarından oluşan PCR koşullarında (Şekil 1.9.), Roche Lightcycler 480 Real Time PCR cihazında, sybergreen kanalında “Melting Curve” analizi yapıldı.



Şekil 2.2. Real Time PCR koşulları

Çalışmada kullanılan metod ve protokol ile gen ifadeleri oranı (gen dozu ifadesi ile gen kaybı durumu diğer bir ifade ile “delesyon” durumu), BMS MIC Real Time PCR

yazılım programında otomatik olarak hesaplandı. Yapılan bu analiz de elde edilen veriler yine aynı yazılım ile “normalize” edilerek literatürde yer alan diğer çalışmalar ile karşılaştırılmak suretiyle standardize edilmiştir.

2.3.2.5. Dizi (Sekans) Analizi Sistemi ve Nokta Mutasyon Analizi (SNP)

Deoksiribonükleid asit (DNA) üzerinde yer alan gen dizisini tamamen veya kısmen (istenilen hedef bölge), nükleotid seviyesinde sıralı bilgisinin elde edildiği dizi okuma sistemleridir. Bu sistemler spektrofotometrik analiz esasına dayanarak, her bir bazın lazer ünitesi önünde farklı dalga boylarına karşı vermiş olduğu absorbans yanıtı ile yazılıma aktarılarak istenilen dizinin verisinin elde edilmesi prensibine dayalı olarak çalışır. Öncesinde verileri elde edilmek istenilen gen bölgesi, uygun primer yapıları kullanılmak suretiyle konvensiyonel polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) sistemi çoğaltıldı. Çoğalan bölgenin uygunluğunun kontrolü agaroz jel elektoroforezi kullanılarak tayin edilmesi önerilmektedir. Bu aşamada kullanılan sarf malzeme materyal oldukça ciddi maliyetlere sahip olduğundan dizi analizleme sistemine geçilmeden istenilen bölgenin kontrolünün sağlanması önerilmektedir. Çalışmamızda primerlerin uygunluğunun kontrolü primer seçimi aşaması sonrası %1,5’luk agaroz jel elektroforezi aşaması ile aynı şekilde yapılmış ve uygun ölçüm oranına sahip 100bp kontrol “ladder” kuyucuğunda ki bant büyüklükleri ile uygunlukları kontrol edildi. Konvensiyonel polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) sonrası, istenilen bölge dışında kalan tüm yapılar, kontaminasyona neden olabilecek veya dizi analizi esnasında yanıltıcı bir veri oluşmasını sağlayacak reaksiyon yan ürünleri, dNTP ve ddNTP seviyelerinin tamamı “spin kolon” kullanılarak uygun gözenek boyutlarına sahip ayırıcı filtre yardımıyla ve sırasıyla %80, %90 ve %100 etanol purifikasyonu uygulanarak hedef yapının fiksasyonu sağlandı. Bununla birlikte istenmeyen yapıların çözünerek uzaklaştırılması sağlandı. Spin kolon aparatında yer alan filtredeki gözeneklerde fikse edilen hedef dizi “Hi-Di™ Formamide” kimyasalı kullanılarak hem dizi analiz sistemin okuyacağı hem de filtrede fikse olmuş ve saf halde bulunan hedef dizinin 96 hazneli okuma tepsisine alınması için “elution buffer” olarak kullanıldı. Daha sonra 16 kapiler okuma kapasitesine sahip “Applied Bioscience (ABI) 3130xl” sisteminde bu standart tepsi gerekli septa aparatıda kullanılarak, sistemde yer alan optimize edilmiş orta seviyede ki okuma hızında, veri eldesi işlemi başlatıldı. Elde edilen verilerin ham data

formatları “Seqscape Ver.2.6” yazılımının bulunduğu bir bilgisayara aktarılarak genetik analizleri gerçekleştirildi.

2.3.3. İstatistiksel Analiz

Tüm istatistiksel analizler, SPSS v.25.0 (IBM Corp., Armonk, NY, ABD) İstatistik Paket Programı kullanılarak yapıldı. Sürekli sayısal veriler ortalama±standart sapma (SS) veya ortalama±ortalamanın standart hatası (SEM) olarak ifade edildi. Kategorik değişkenler ise sayı (n) ve yüzde (%) olarak ifade edildi. İmmunohistokimyasal analizlerde boyama skorları, pozitif boyanan dokuların yoğunluğuna göre hesaplandı ve derecelendirildi. Verilerin dağılım profili grupların özelliklerine göre Shapiro-Wilk ve Kolmogorov-Smirnov testi kullanılarak değerlendirildi. Varyansların homojenliği Levene testi ile analiz edildi. Demografik ve klinik veriler ile immunohistokimyasal skorlar arasındaki ilişkiler incelendi. Verilerin normal dağılım gösterdiği iki bağımsız grup arasındaki farklar student-t testi kullanılarak incelendi. Verilerin normal dağılım göstermediği iki bağımsız grup arasındaki farklar Mann Whitney-U Testi kullanılarak incelendi. İki'den daha fazla bağımsız grup arasındaki farkların değerlendirilmesi amacıyla Kruskal Wallis-H Testi kullanıldı ve Bonferroni düzeltmesi yapıldı. Korelasyon analizleri için Spearman's rank korelasyon analizi kullanıldı. Kategorik değişkenler Ki-Kare Testi, Fisher's Exact Test ve Fisher-Freeman-Halton Exact Test kullanılarak analiz edildi. Beklenen frekansın 5'in altında olduğu; ikili kategorilere sahip iki değişkenin arasındaki ilişkinin incelendiği tabloların analizinde Fisher's Exact Test, ikiden fazla kategorinin bulunduğu değişkenlerin analizinde Fisher-Freeman-Halton Exact Test kullanıldı. Beklenen frekansın 5'in üzerinde olduğu tabloların analizinde Ki-Kare Testi kullanılarak değerlendirme yapıldı. Demografik ve klinik veriler ile genotipler arasındaki ilişkiler incelendi. Hasta gruplarındaki her katılımcının ilgili gen dozları hesaplandı. Genotipler ve delesyon durumları tablolarda ifade edildi. Genotip frekanslarının uyumluluğu Hardy-Weinberg denkleminde değerlendirildi. İlgili genlere dair genetik veriler ile demografik ve klinik veriler arasındaki ilişkiler incelendi. İkili ve çoklu lojistik regresyon modelleri kullanılarak demografik ve klinik verilerden elde edilen her bir değişken için odds ratio (odds oranı) ve %95 güven aralığı hesaplandı. $p < 0,05$ düzeyindeki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR

3.1. GST ve P53 Enzimlerinin Protein İfadelerinin Sonuçları

Çalışmamıza dahil olan hasta grubuna ait demografik ve klinik veriler Çizelge 3.1. ve Çizelge 3.2.'de verilmiştir.

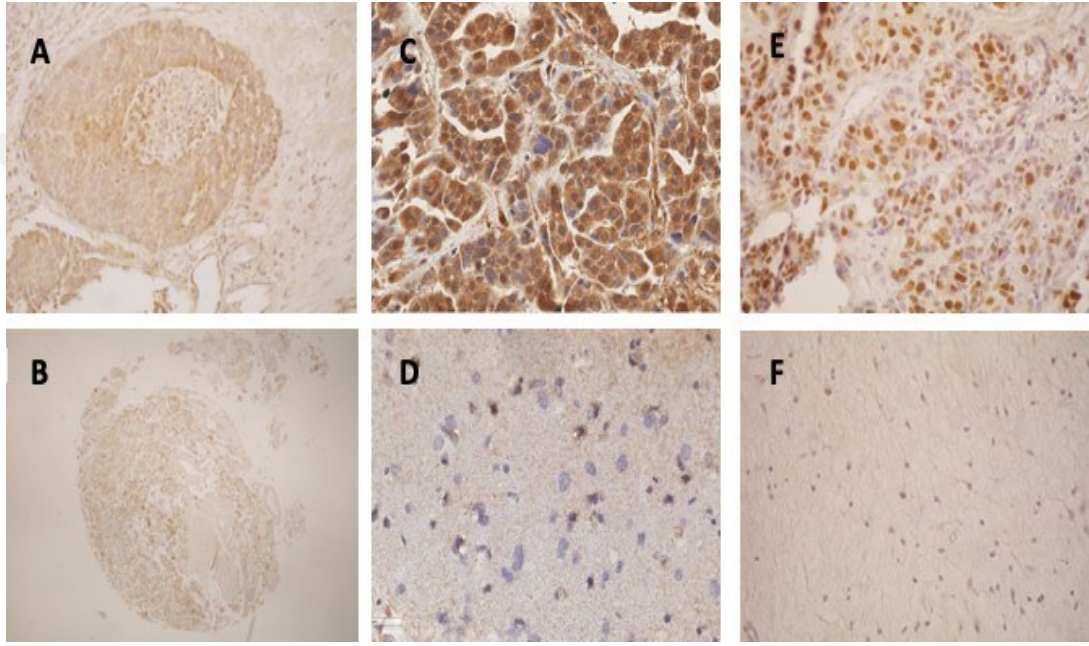
Çizelge 3.1. Çalışmada ki hasta grubuna ait demografik veriler.

	SAYI (n) (%)
CİNSİYET	
Kadın	62 (41,7%)
Erkek	87 (58,3%)
Toplam	149 (100%)
YAŞ	
<30	25 (16,8%)
30-45	31 (20,8%)
46-60	43 (28,9%)
>60	50 (33,6%)
Toplam	149 (100%)
SİĞARA KULLANIMI	
Var	45 (30,2%)
Yok	103 (69,1%)
Bilinmeyen	1 (0,7%)
Toplam	149 (100%)
ALKOL KULLANIMI	
Var	15 (10,0%)
Yok	133 (89,3%)
Bilinmeyen	1 (0,7%)
Toplam	149 (100%)
RADYOTERAPİ	
Var	55 (36,9%)
Yok	92 (61,7%)
Bilinmeyen	2 (1,3%)
Toplam	149 (100%)
KEMOTEREAPİ	
Var	32 (21,5%)
Yok	116 (77,9%)
Bilinmeyen	1 (0,7 %)
Toplam	149 (100%)

Çizelge 3.2. Çalışmada ki hasta grubuna ait klinik veriler.

	Sayı (n) (%)
Cerrahi Müdahale Sayısı	
1,00	113 (75,8%)
2,00	30 (20,1%)
3,00	2 (1,3 %)
4,00	1 (0,7%)
5,00	1 (0,7%)
7,00	1 (0,7%)
10,00	1 (0,7%)
Toplam	149 (100%)
Beynin Kısmı	
Bilateral	1 (0,7%)
Orta	24 (16,1%)
Sol	66 (44,3%)
Sağ	58 (38,9%)
Toplam	149 (100%)
Rezeksiyon Kenarı	
Gross	91 (61,1%)
Parsiel	5 (3,4%)
Subtotal	52 (34,9%)
Bilinmeyen	1 (0,7%)
Total	149 (100%)
Lezyon Lokalizasyonu	
Frontal	43 (28,9%)
Parietal	20 (13,4%)
Temporal	17(11,4%)
Cerebellar	15(10,1%)
Diğer kısımlar	54 (36,4%)
hypophysis	7 (4,7%)
sella	7 (4,7%)
frontobasal	6 (4,0%)
occipital	6 (4,0%)
frontotemporal	5 (3,4%)
frontoparietal	4 (2,7%)
parietooccipital	4 (2,7%)
posterior fossa	4 (2,7%)
lateral ventricle	3 (2,0%)
cerebellopontine angle	3 (2,0%)
temporoparietal	2 (1,3%)
4th ventricle	1 (0,7%)
intraventricular	1 (0,7%)
parafalxian	1 (0,7%)
Toplam	149 (100%)
Operasyon sonrası durumu	
Sağ kalım	97 (65,1%)
Ölüm	52 (34,9%)
Toplam	149 (100%)

Beyin tümörü teşhisi konulmuş ve cerrahi müdahale sonrası elde edilen hastalara ait parafine gömülü tümörlü dokulardan kesitler alınarak preparasyonu tamamlanmış numuneler, immunohistokimya metodu uygulaması sonrası uzman patolog tarafından Sağlık Bilimleri Üniversitesi Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji bölümünde incelenerek, enzim ekspresyonları durumları boyanma şiddetlerine göre skorlanmıştır. Bu skorlama sonucu; GST-M, GST-T ve p53 enzimlerine ekspresyon durumları ile yine hastaların klinik bilgilerinin elde edildiği veriler genel olarak Çizelge 3.3.'de verilmiştir.



Şekil 3.1. İmmunohistokimyasal metod sonrası GST-M,GST-T ve p53 ekspresyonları analiz edilerek skorlanan, beyin tümörü dokularının mikroskopik görüntüsü. **(A)** Kahverengi (x20) ile boyanmış GSTM (+1) pozitif mikroskopik görüntüsü. **(B)** Kahverengi (x4) lekeli GST-M (+1) pozitif mikroskopik görüntüsü. **(C)** Koyu Kahverengi (x40) ile boyanmış GSTT (+3) pozitif mikroskopik görüntüsü. **(D)** Herhangi bir boyanma olmayan negatif (-) GSTT mikroskopik görüntüsü (x40) **(E)** Kahverengi (x40) lekeli p53 (+2) pozitif mikroskopik görüntüsü. **(F)** Herhangi bir boyanma olmayan negatif (-) p53 mikroskopik görüntüsü (x40).

Çizelge 3.3. İmmunohistokimya metodu sonrası GST-M, GST-T ve p53 Enzim Ekspresyonlarının Skorlanma Sonrası Elde Edilen Sonuçlar ve Hastaların Klinik Verilerinin Genel Durumu

Hasta No.	YAŞ	CİNSİYET	SİĞARA	ALKOL	RADYOTERAPİ	KEMOTERAPİ	GST-MÜ		GST-TETA		P53	
							NORMAL (IHC)	TUMOR (IHC)	NORMAL (IHC)	TUMOR (IHC)	NORMAL (IHC)	TUMOR (IHC)
1	56	Kadın	Yok	Yok	Var	Var	1	1	0	1	0	0
2	54	Kadın	Yok	Yok	Yok	Yok	0	0	0	0	0	0
3	45	Kadın	Yok	Yok	Var	Yok	0	0	0	0	0	0
4	25	Erkek	Var	Yok	Yok	Yok	0	0	0	0	0	0
5	59	Erkek	Var	Yok	Yok	Yok	0	0	0	1	0	0
6	26	Kadın	Yok	Yok	Yok	Yok	0	0	0	0	0	0
7	11	Erkek	Yok	Yok	Yok	Yok	0	0	0	0	0	1
8	60	Erkek	Yok	Yok	Var	Yok	0	0	0	0	0	0
9	25	Erkek	Yok	Yok	Yok	Yok	0	0	0	1	0	0
10	62	Erkek	Var	Yok	Yok	Yok	0	0	0	0	0	0
11	68	Kadın	Yok	Yok	Yok	Yok	0	0	0	0	0	0
12	44	Erkek	Yok	Yok	Yok	Yok	1	0	0	1	0	0
13	44	Erkek	Yok	Yok	Yok	Yok	0	0	0	3	0	1
14	70	Kadın	Yok	Yok	Var	Yok	0	0	0	0	0	0
15	21	Erkek	Yok	Yok	Yok	Yok	0	0	0	3	0	0
16	44	Erkek	Var	Yok	Var	Yok	0	0	0	2	0	0
17	30	Kadın	Yok	Var	Var	Yok	0	0	0	1	0	0
18	6	Kadın	Yok	Yok	Yok	Yok	0	0	0	0	0	0
19	49	Erkek	Yok	Yok	Yok	Yok	0	0	2	2	0	1
20	48	Kadın	Yok	Yok	Yok	Yok	0	0	0	3	0	0
21	24	Erkek	Yok	Yok	Yok	Yok	0	0	1	2	0	0
22	77	Erkek	Yok	Yok	Yok	Yok	0	0	0	0	0	0
23	32	Kadın	Var	Yok	Yok	Yok	2	1	0	0	0	0
24	51	Erkek	Yok	Yok	Yok	Yok	0	1	0	0	0	0
25	55	Kadın	Yok	Yok	Var	Var	0	1	0	3	0	1
26	69	Erkek	Yok	Yok	Yok	Yok	0	2	0	1	0	1
27	34	Kadın	Yok	Yok	Yok	Yok	0	0	0	0	0	0
28	40	Erkek	Yok	Yok	Var	Yok	0	0	0	0	0	0
29	67	Erkek	Yok	Yok	Yok	Yok	0	1	0	1	0	0
30	24	Erkek	Yok	Yok	Yok	Yok	0	0	0	2	0	1
31	39	Kadın	Yok	Yok	Yok	Yok	0	2	0	0	0	0
32	54	Kadın	Var	Yok	Yok	Yok	0	1	0	1	0	1
33	37	Kadın	Yok	Yok	Yok	Yok	0	0	0	0	0	0
34	48	Erkek	Yok	Yok	Var	Yok	0	0	0	2	0	0

35	47	Kadın	Yok	Yok	Yok	Yok	0	1	0	0	0	0
36	29	Kadın	Yok	Yok	Yok	Yok	0	2	0	1	0	1
37	35	Erkek	Var	Yok	Yok	Yok	0	0	0	1	0	0
38	63	Kadın	Yok	Yok	Var	Yok	0	2	0	1	0	0
39	40	Kadın	Var	Yok	Yok	Yok	0	1	0	3	0	1
40	66	Kadın	Yok	Yok	Yok	Yok	0	1	0	2	0	0
41	68	Kadın	Yok	Yok	Yok	Yok	0	1	0	0	0	0
42	47	Kadın	Yok	Yok	Yok	Yok	0	1	0	1	0	0
43	6	Kadın	Yok	Yok	Yok	Yok	0	0	0	0	0	0
44	39	Erkek	Yok	Yok	Yok	Yok	0	0	0	1	0	0
45	39	Kadın	Yok	Yok	Yok	Yok	0	1	0	0	0	0
46	50	Kadın	Var	Yok	Yok	Yok	0	0	0	3	0	1
47	16	Erkek	Yok	Yok	Yok	Yok	1	0	0	3	0	1
48	64	Erkek	Yok	Var	Yok	Yok	0	1	0	1	0	1
49	49	Erkek	Yok	Yok	Var	Yok	0	0	0	0	0	0
50	43	Kadın	Yok	Var	Yok	Yok	0	1	0	0	0	1
51	39	Kadın	Yok	Yok	Yok	Yok	0	1	0	3	0	0
52	61	Erkek	Var	Yok	Yok	Yok	0	0	0	0	0	0
53	76	Kadın	Yok	Yok	Yok	Yok	1	0	0	1	0	0
54	61	Erkek	Var	Yok	Yok	Yok	0	1	1	2	0	1
55	62	Kadın	Yok	Yok	Yok	Yok	0	0	0	3	0	0
56	63	Erkek	Var	Yok	Var	Yok	0	1	0	0	0	0
57	77	Erkek	Yok	Yok	Yok	Yok	1	1	0	0	0	0
58	68	Kadın	Yok	Yok	Yok	Yok	0	1	0	0	0	0
59	83	Erkek	Yok	Yok	Yok	Yok	1	1	0	1	0	0
60	45	Kadın	Var	Var	Var	Var	0	1	0	0	0	0
61	60	Erkek	Yok	Yok	Yok	Yok	0	0	0	0	0	0
62	51	Erkek	Var	Yok	Var	Var	0	0	0	0	0	0
63	50	Kadın	Yok	Yok	Yok	Yok	0	0	0	0	0	0
64	42	Erkek	Yok	Yok	Var	Yok	0	0	0	1	0	1
65	28	Erkek	Var	Var	Var	Var	0	1	0	2	0	0
66	57	Kadın	Var	Yok	Yok	Yok	0	1	0	0	0	0
67	37	Kadın	Yok	Yok	Yok	Yok	1	0	0	0	0	0
68	56	Erkek	Var	Yok	Var	Var	0	0	0	2	0	0
69	45	Kadın	Var	Yok	Var	Var	0	0	0	2	1	1
70	47	Kadın	Yok	Yok	Yok	Yok	0	0	0	0	0	1
71	73	Erkek	Yok	Yok	Var	Yok	0	0	0	3	0	0
72	21	Erkek	Var	Var	Yok	Yok	1	1	0	2	0	0
73	48	Erkek	Yok	Yok	Var	Yok	0	1	1	2	0	0
74	34	Erkek	Yok	Yok	Var	Var	0	2	0	1	0	0
75	73	Kadın	Yok	Yok	Yok	Yok	0	1	0	2	0	0
76	55	Erkek	Yok	Yok	Var	Yok	0	1	1	1	0	0
77	55	Kadın	Yok	Yok	Yok	Yok	2	2	0	1	0	0
78	14	Erkek	Yok	Yok	Yok	Yok	0	0	0	0	0	0
79	66	Erkek	Var	Var	Yok	Yok	1	0	0	0	0	0

80	22	Erkek	Var	Yok	Yok	Yok	0	0	1	1	0	1
81	69	Kadın	Yok	Yok	Var	Var	0	0	0	0	0	1
82	68	Erkek	Yok	Yok	Var	Var	1	0	0	0	0	0
83	21	Erkek	Yok	Yok	Yok	Var	1	1	0	2	1	1
84	21	Erkek	Yok	Yok	Yok	Var	0	0	0	3	0	1
85	46	Erkek	Var	Var	Var	Var	0	0	0	1	0	0
86	64	Erkek	Var	Var	Yok	Yok	0	0	0	0	0	0
87	20	Erkek	Yok	Yok	Var	Var	0	0	0	1	0	0
88	77	Erkek	Yok	Yok	Yok	Yok	0	0	0	1	0	0
89	62	Erkek	Yok	Yok	Var	Yok	0	0	1	3	0	0
90	21	Erkek	Yok	Yok	Yok	Var	0	0	0	3	0	1
91	65	Erkek	Yok	Yok	Yok	Yok	0	0	0	3	0	0
92	54	Erkek	Yok	Yok	Var	Var	0	0	0	3	0	0
93	69	Erkek	Var	Yok	Var	Var	0	1	0	2	0	0
94	15	Erkek	Yok	Yok	Yok	Yok	0	0	0	3	0	0
95	22	Erkek	Var	Yok	Var	Var	0	0	0	2	0	0
96	64	Erkek	Yok	Yok	Yok	Yok	0	0	0	0	0	0
97	82	Erkek	Yok	Yok	Var	Yok	0	0	0	0	0	0
98	49	Erkek	Var	Var	Var	Var	0	0	0	3	0	0
99	55	Kadın	Yok	Yok	Yok	Yok	0	0	0	0	0	0
100	61	Kadın	Yok	Yok	Var	Var	0	0	0	2	0	1
101	62	Kadın	Var	Yok	Yok	Yok	0	0	0	0	0	0
102	26	Erkek	Yok	Yok	Var	Yok	0	0	0	1	0	1
103	61	Erkek	Yok	Yok	Var	Var	0	0	0	1	0	0
104	43	Erkek	Var	Yok	Var	Var	0	1	0	1	0	0
105	56	Erkek	Var	Yok	Var	Yok	0	0	0	0	0	0
106	64	Erkek	Yok	Yok	Yok	Yok	0	0	0	0	0	0
107	73	Erkek	Var	Var	Var	Var	0	0	0	0	0	0
108	25	Erkek	Yok	Yok	Yok	Yok	0	0	0	0	0	0
109	51	Erkek	Yok	Yok	Yok	Yok	1	1	0	1	0	0
110	65	Kadın	Yok	Yok	Var	Yok	0	1	0	1	1	0
111	32	Erkek	Yok	Yok	Var	Yok	0	0	0	1	0	0
112	61	Erkek	Yok	Yok	Var	Var	0	1	0	1	0	1
113	59	Kadın	Yok	Yok	Var	Var	0	1	2	2	0	0
114	57	Erkek	Var	Var	Var	Var	0	1	0	1	0	1
115	75	Erkek	Var	Yok	Yok	Yok	1	0	0	1	0	0
116	32	Erkek	Var	Yok	Var	Yok	0	2	0	1	0	1
117	52	Kadın	Yok	Yok	Yok	Yok	0	2	0	3	0	0
118	63	Erkek	Yok	Yok	Yok	Var	2	1	0	1	0	0
119	73	Erkek	Yok	Yok	Var	Yok	0	2	0	2	0	0
120	35	Erkek	Var	Var	Var	Yok	1	1	0	0	0	0
121	49	Erkek	Var	Yok	Yok	Yok	0	2	1	2	0	1
122	32	Kadın	Yok	Yok	Yok	Yok	0	0	0	1	0	0
123	72	Erkek	Yok	Yok	Var	Yok	0	0	0	1	0	0
124	77	Erkek	Var	Var	Yok	Var	1	1	0	0	1	0

125	45	Kadın	Yok	Yok	Var	Yok	1	1	3	3	0	0
126	56	Erkek	Var	Yok	Yok	Yok	0	1	2	3	0	0
127	62	Kadın	Yok	Yok	Yok	Yok	1	2	0	2	0	0
128	52	Kadın	Var	Var	Yok	Var	0	0	0	3	0	1
129	72	Erkek	Yok	Yok	Var	Yok	0	0	0	0	0	1
130	47	Kadın	Yok	Yok	Var	Yok	0	0	0	2	0	0
131	63	Erkek	Var	Yok	Var	Var	0	0	0	0	0	0
132	42	Kadın	Yok	Yok	Var	Yok	0	0	0	1	0	1
133	17	Erkek	Var	Yok	Yok	Yok	0	0	0	0	0	0
134	30	Kadın	Yok	Yok	Yok	Yok	0	0	0	0	0	0
135	60	Erkek	Var	Yok	Var	Var	0	0	0	0	0	1
136	39	Erkek	Yok	Yok	Yok	Yok	0	0	0	1	0	0
137	67	Erkek	Yok	Yok	Yok	Yok	0	0	0	0	0	0
138	74	Kadın	Yok	Yok	Yok	Yok	0	0	0	1	0	0
139	53	Kadın	Yok	Yok	Yok	Yok	0	1	0	0	0	0
140	50	Kadın	Yok	Yok	Yok	Yok	0	0	0	2	0	0
141	23	Erkek	Var	Yok	Yok	Yok	0	0	0	2	0	0
142	54	Erkek	Var	Yok	Yok	Yok	0	0	0	2	0	0
143	45	Erkek	Var	Yok	Yok	Yok	0	0	1	1	0	0
144	63	Kadın	Yok	Yok	Var	Yok	0	0	0	1	0	0
145	59	Erkek	Yok	Yok	Var	Var	0	0	0	0	0	0
146	63	Erkek	Yok	Yok	Yok	Yok	0	0	0	0	0	0
147	46	Erkek	Var	Yok	Yok	Yok	0	0	0	0	0	0
148	55	Kadın	Yok	Yok	Yok	Yok	0	0	0	0	0	0
149	62	Erkek	Yok	Yok	Yok	Yok	0	1	0	0	0	0

İmmünohistokimyasal metod sonrası elde edilen boyanma skorları enzim ekspresyonlarının ifadesidir. Bu skorların elde edilmesi sonrası GST-M ve p53 enzimlerine ait ekspresyon değerlerinin anlamlılıkları SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) yazılımı kullanılarak “p” anlamlılık değerleri hesaplandı. Çalışmamızın sonuçlarına ilişkin bu anlamlılık durumları Çizelge 3.4.’te olduğu gibi elde edildi.

Çizelge 3.4. GST-M, GST-T ve p53 proteinleri için hastaların beyin tümörü ve normal dokularının immünohistokimyasal boyama skorları ve anlamlılık değerleri.

EKSPRESYON SKORLARI	GST-M1		GST-T1		p53	
	Normal	Tümör	Normal	Tümör	Normal	Tümör
0	129 (86,6%)	96 (64,4%)	61 (40,94%)	137 (91,95%)	145 (97,3%)	117 (78,5%)
1	17 (11,4%)	42 (28,2%)	42 (28,19%)	8 (5,37%)	4 (2,7%)	32 (21,5%)
2	3 (2,0%)	11 (7,4%)	25 (16,78%)	3 (2,01%)	-	-
3	-	-	21 (14,09%)	1 (0,67 %)	-	-
Toplam	149 (100%)	149 (100%)	149 (100%)	149 (100%)	149 (100%)	149 (100%)
Anlamlılık	0,15± 0,03 ^a (0-2) ^b	0,43± 0,05 ^a (0-2) ^b	1,04 ± 0,09 ^a (0-3) ^b	0,11 ± 0,04 ^a (0-3) ^b	0,03± 0,01 ^a (0-1) ^b	0,21± 0,03 ^a (0-1) ^b
T/N			9,46			
P	0,000		<0,0001*		0,000	

Boyama skorları, pozitif boyanan tümör dokularının yoğunluğuna göre hesaplandı. Boyama yoğunluğu şu şekilde derecelendirildi; 0: olumsuz ifade, +1 zayıf ifade, +2: güçlü ifade. a: ortalama ± sem; b: minimum ve maksimum boyama yoğunluğu. 0,05'ten küçük p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

GST-M, GST-T ve p53 protein ekspresyonlarının immunohistokimyasal metod sonrası patolojik değerlendirmeleri ile elde edilen skorlamaların cinsiyete göre dağılımları Çizelge 3.5'te verilmiştir.

Çizelge 3.5. Cinsiyete bağlı GST izozimleri ve p53 ekspresyon skorlamalarının istatistiksel dağılımı ve anlamlılık ifadeleri

CİNSİYET	GST-M1		GST-T1		p53	
	Normal	Tümör	Normal	Tümör	Normal	Tümör
Kadın	0,15±0,06 ^a (0-2) ^b	0,54±0,09 ^a (0-2) ^b	0,08 ± 0,06 ^a (0-3) ^b	1,02± 0,15 ^a (0-3) ^b	0,03±0,02 ^a (0-1) ^b	0,20±0,05 ^a (0-1) ^b
Erkek	0,16±0,04 ^a (0-2) ^b	0,36±0,06 ^a (0-2) ^b	0,13 ± 0,04 ^a (0-2) ^b	1,06 ± 0,11 ^a (0-3) ^b	0,02±0,02 ^a (0-1) ^b	0,22±0,04 ^a (0-1) ^b
P	0,699	0,073	0,107	0,638	0,667	0,785

Boyama skorları, pozitif boyanan tümör dokularının yoğunluğuna göre hesaplandı. Boyama yoğunluğu şu şekilde derecelendirildi; 0: olumsuz ifade, +1 zayıf ifade, +2: güçlü ifade. a: ortalama ± sem; b: minimum ve maksimum boyama yoğunluğu. 0,05'ten küçük p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

GST-M, GST-T ve p53 protein ekspresyonlarının immunohistokimyasal metod sonrası patolojik değerlendirmeleri ile elde edilen skorlamaların radyoterapi tedavi durumlarına göre dağılımları Çizelge 3.6 içerisinde verilmiştir.

Çizelge 3.6. Radyoterapi tedavisi gören ve görmeyen hastalarda GST izozimleri ve p53 enzim ekspresyon ifadelerinin skorlamalarına bağlı anlamlılık dağılımları.

RADYO TERAPİ	GST-M1		GST-T1		P53	
	Normal	Tümör	Normal	Tümör	Normal	Tümör
Evet	0,11±0,04 ^a (0-1) ^b	0,42±0,08 ^a (0-2) ^b	0,14 ± 0,07 ^a (0-3) ^b	1,11 ± 0,13 ^a (0-3) ^b	0,04±0,02 ^a (0-1) ^b	0,21±0,05 ^a (0-1) ^b
Hayır	0,18±0,05 ^a (0-2) ^b	0,43±0,07 ^a (0-2) ^b	0,10 ± 0,04 ^a (0-2) ^b	1,00±0,12 ^a (0-3) ^b	0,02±0,02 ^a (0-1) ^b	0,22±0,04 ^a (0-1) ^b
p	0,383	0,910	0,781	0,358	0,625	0,921

Boyama skorları, pozitif boyanan tümör dokularının yoğunluğuna göre hesaplandı. Boyama yoğunluğu şu şekilde derecelendirildi; 0: olumsuz ifade, +1 zayıf ifade, +2: güçlü ifade. a: ortalama ± sem; b: minimum ve maksimum boyama yoğunluğu. 0,05'ten küçük p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

GST-M, GST-T ve p53 protein ekspresyonlarının immunohistokimyasal metod sonrası patolojik değerlendirmeleri ile elde edilen skorlamaların kemoterapi tedavi durumlarına göre dağılımları Çizelge 3.7 içerisinde verilmiştir.

Çizelge 3.7. Kemoterapi tedavisi gören ve görmeyen hastalarda GST izozimleri ve p53 enzim ekspresyon ifadelerinin skorlamalarına bağlı anlamlılık dağılımları.

KEMOTERAPİ	GST-M1		GST-T1		P53	
	Normal	Tümör	Normal	Tümör	Normal	Tümör
Evet	0,21±0,08 ^a (0-2) ^b	0,45±0,10 ^a (0-2) ^b	0,06 ±0,06 ^a (0-2) ^b	1,36 ± 0,19 ^a (0-3) ^b	0,09±0,05 ^a (0-1) ^b	0,33±0,08 ^a (0-1) ^b
Hayır	0,14±0,04 ^a (0-2) ^b	0,42±0,06 ^a (0-2) ^b	0,13 ± 0,04 ^a (0-3) ^b	0,95 ± 0,10 ^a (0-3) ^b	0,01±0,01 ^a (0-1) ^b	0,18±0,04 ^a (0-1) ^b
p	0,362	0,522	0,245	0,041	0,010	0,061

Boyama skorları, pozitif boyanan tümör dokularının yoğunluğuna göre hesaplandı. Boyama yoğunluğu şu şekilde derecelendirildi; 0: negatif ifade, +1 zayıf ifade, +2: güçlü ifade. a: ortalama ± sem; b: minimum ve maksimum boyama yoğunluğu. 0,05'ten küçük p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Çalışmamıza dahil olan hastaların alkol kullanım durumlarına göre GST ve p53 protein ekspresyonlarının, istatistiksel olarak anlamlılık değerleri dağılımları Çizelge 3.8'de verilmiştir.

Çizelge 3.8. GST-M, GST-T ve p53 ekspresyonlarının, hastaların alkol kullanım durumlarına bağlı dağılımları.

ALKOL KULLANIMI	GST-M1		GST-T1		P53	
	Normal	Tümör	Normal	Tümör	Normal	Tümör
Evet	0,27±0,12 ^a (0-1) ^b	0,53±0,13 ^a (0-1) ^b	-	0,93 ± 0,28 ^a (0-3) ^b	0,07±0,07 ^a (0-1) ^b	0,27±0,12 ^a (0-1) ^b
Hayır	0,14±0,04 ^a (0-2) ^b	0,42±0,06 ^a (0-2) ^b	0,13 ± 0,04 ^a (0-3) ^b	1,06 ±0,09 ^a (0-3) ^b	0,02±0,01 ^a (0-1) ^b	0,21±0,04 ^a (0-1) ^b
p	0,134	0,257	0,227	0,630	0,320	0,618

Boyama skorları, pozitif boyanan tümör dokularının yoğunluğuna göre hesaplandı. Boyama yoğunluğu şu şekilde derecelendirildi; 0: olumsuz ifade, +1 zayıf ifade, +2: güçlü ifade. a: ortalama ± sem; b: minimum ve maksimum boyama yoğunluğu. 0,05'ten küçük p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Çalışmamıza dahil olan hastaların sigara kullanım durumlarına göre GST ve p53 protein ekspresyonlarının, istatistiksel olarak anlamlılık değerleri dağılımları Çizelge 3.9’de verilmiştir.

Çizelge 3.9. GST-M, GST-T ve p53 ekspresyonlarının, hastaların sigara kullanım durumlarına bağlı dağılımları.

SİĞARA KULLANIMI	GST-M1		GST-T1		P53	
	Normal	Tümör	Normal	Tümör	Normal	Tümör
Evet	0,16±0,06 ^a (0-2) ^b	0,42±0,09 ^a (0-2) ^b	0,13 ± 0,06 ^a (0-2) ^b	1,04 ± 0,16 ^a (0-3) ^b	0,04±0,03 ^a (0-1) ^b	0,24±0,06 ^a (0-1) ^b
Hayır	0,16±0,04 ^a (0-2) ^b	0,44±0,06 ^a (0-2) ^b	0,11 ± 0,04 ^a (0-3) ^b	1,05 ± 0,11 ^a (0-3) ^b	0,02±0,01 ^a (0-1) ^b	0,20±0,04 ^a (0-1) ^b
P	0,972	0,902	0,400	0,989	0,389	0,583

Pozitif boyanan tümör dokularının yoğunluğuna göre boyanma skorları hesaplandı. Boyama şiddeti şu şekilde derecelendirildi; 0: negatif ifade, +1 zayıf ifade, +2: güçlü ifade. a: ortalama ± sem; b: minimum ve maksimum boyama yoğunluğu. 0,05'ten küçük p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Çizelge 3.10. GST-M1, GST-T1 ve p53 hastanın hayatta kalım durumuna göre beyin tümörü ve normal dokulardaki ifadeler.

Hayatta Kalım Durumu	GST-M1		GST-T1		p53	
	Normal	Tümör	Normal	Tümör	Normal	Tümör
Hayatta Olan Bireyler	0,15±0,04 ^a (0-2) ^b	0,42±0,06 ^a (0-2) ^b	0,13 ±0,05 ^a (0-3) ^b	0,86± 0,10 ^a (0-3) ^b	0,02±0,01 ^a (0-1) ^b	0,19±0,04 ^a (0-1) ^b
Hayatta Olmayan Bireyler (Exitus)	0,15±0,06 ^a (0-2) ^b	0,44±0,09 ^a (0-2) ^b	0,08 ± 0,05 ^a (0-2) ^b	1,38 ± 0,16 ^a (0-3) ^b	0,04±0,03 ^a (0-1) ^b	0,27±0,06 ^a (0-1) ^b
p-value	0,995	0,987	0,452	0,004	0,522	0,237

Boyama skorları, pozitif boyanan tümör dokularının yoğunluğuna göre hesaplandı. Boyama yoğunluğu şu şekilde derecelendirildi; 0: negatif ifade, +1 zayıf ifade, +2: güçlü ifade. a: ortalama ± sem; b: minimum ve maksimum boyama yoğunluğu. 0,05'ten küçük P değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Çizelge 3.11. Lezyon lokalizasyonlarına göre GST-M1, GST-T1 ve p53 ekspresyon oranları.

Lezyon Lokalizasyonu	GST-M1		GST-T1		p53	
	Normal	Tümör	Normal	Tümör	Normal	Tümör
Frontal	0,21±0,08 ^a (0-2) ^b	0,54±0,10 ^a (0-2) ^b	0,09±0,04 ^a (0-1) ^b	1,30±0,15 ^a (0-3) ^b	0,02± 0,02 ^a (0-1) ^b	0,21±0,06 ^a (0-1) ^b
Parietal	-	0,25±0,25 ^a (0-1) ^b	-	0,75±0,75 ^a (0-3) ^b	-	0,25±0,25 ^a (0-1) ^b
Serebellar	0,13±0,09 ^a (0-1) ^b	0,47±0,17 ^a (0-2) ^b	0,27±0,2 ^a (0-3) ^b	1,00±0,28 ^a (0-3) ^b	0,07±0,07 ^a (0-1) ^b	0,20±0,11 ^a (0-1) ^b
Temporal	0,24±0,11 ^a (0-1) ^b	0,24±0,11 ^a (0-1) ^b	0,12±0,12 ^a (0-2) ^b	1,06±0,31 ^a (0-3) ^b	-	0,12±0,08 ^a (0-1) ^b
Diğer	0,11±0,04 ^a (0-2) ^b	0,41±0,08 ^a (0-2) ^b	0,10±0,05 ^a (0-2) ^b	0,90±0,12 ^a (0-3) ^b	0,03±0,02 ^a (0-1) ^b	0,24±0,05 ^a (0-1) ^b
<i>p-value</i>	0,553	0,527	0,254	0,880	0,825	0,857

Boyama skorları, pozitif boyanan tümör dokularının yoğunluğuna göre hesaplandı. Boyama yoğunluğu şu şekilde derecelendirildi; 0: negatif ifade, +1 zayıf ifade, +2: güçlü ifade. a: ortalama ± sem; b: minimum ve maksimum boyama yoğunluğu. 0,05'ten küçük P değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Çizelge 3.12. 60 yaşın altında ki hastalar ile 60 yaş ve üstü hastaların GST-M, GST-T ve p53 protein ekspresyon oranlarının normal ve tümörlü dokulardaki dağılımları.

Yaş	GST-M		GST-T1		p53	
	Normal	Tümör	Normal	Tümör	Normal	Tümör
<60	0,14 ± 0,04 ^a (0-2) ^b	0,42± 0,06 ^a (0-2) ^b	0,16 ± 0,05 ^a (0-3) ^b	1,19 ± 0,11 ^a (0-3) ^b	0,02 ± 0,01 ^a (0-1) ^b	0,25 ± 0,04 ^a (0-1) ^b
≥60	0,19 ± 0,06 ^a (0-2) ^b	0,45 ± 0,09 ^a (0-2) ^b	0,04 ± 0,03 ^a (0-1) ^b	0,77 ± 0,13 ^a (0-3) ^b	0,04 ± 0,03 ^a (0-1) ^b	0,15 ± 0,05 ^a (0-1) ^b
<i>p-value</i>	0,358	0,701	0,146	0,026	0,543	0,160

Boyama skorları, pozitif boyanan tümör dokularının yoğunluğuna göre hesaplandı. Boyama yoğunluğu şu şekilde derecelendirildi; 0: negatif ifade, +1 zayıf ifade, +2: güçlü ifade. a: ortalama ± sem; b: minimum ve maksimum boyama yoğunluğu. 0,05'ten küçük P değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3.2. GST ve P53 Enzimlerinin Gen İfadelerinin Sonuçları

3.2.1. Dokulardan İzole Edilen cDNA Miktarları

Parafin bloklar halinde ki dokulardan kit kullanılarak elde edilen genomik DNA'ların konsantrasyon (ng/μL) ve saflık (A260/A280) dereceleri nanodrop sistemi kullanılarak, Çizelge 3.13.'te belirtildiği şekilde gözlemlendi.

Çizelge 3.13. İzolasyon sonrası cDNA miktarları.

Numune No.	Konsantrasyon (ng/μL)	Saflık (A260/A280)
BT 1	107,1	1,82
BT 2	102,6	1,78
BT 3	100,7	1,81
BT 4	151,7	1,96
BT 5	62,5	1,75
BT 6	64,0	1,94
BT 7	112,2	1,96
BT 8	78,5	1,79
BT 9		
BT 10	90,8	1,81
BT 11	57,4	1,78
BT 12	78,3	1,82
BT 13	51	1,9
BT 14	95,6	1,77
BT 15	51,1	1,98
BT 16	56,4	1,91
BT 17	50,1	1,76
BT 18	64,8	1,9
BT 19	60,7	1,79
BT 20	73,3	1,84
BT 21	61	1,75
BT 22	92,9	1,95
BT 23	90,6	1,8
BT 24	130,8	1,86
BT 25	57,7	7,81
BT 26	51,3	1,9
BT 27	59,8	1,85
BT 28	50,2	1,85
BT 29	66,3	1,87
BT 30	52,4	1,86

Numune No.	Konsantrasyon (ng/μL)	Saflık (A260/A280)
BT 51	60,7	1,87
BT 52	58,0	1,86
BT 53	55,5	1,93
BT 54	79,1	1,88
BT 55	157,1	1,98
BT 56	88,7	1,78
BT 57	59,3	1,82
BT 58	72,1	1,82
BT 59	65,2	1,84
BT 60	55,5	1,81
BT 61		
BT 62	58,8	1,73
BT 63	55,4	1,99
BT 64	61,0	1,81
BT 65	78,0	1,87
BT 66	77,4	2,01
BT 67	59,9	1,87
BT 68	85,7	1,75
BT 69	52,4	1,78
BT 70	58,5	2,02
BT 71	70,1	1,86
BT 72	51,3	2,00
BT 73	50,9	1,66
BT 74	57,8	1,83
BT 75	51,2	1,98
BT 76		
BT 77	57,1	1,85
BT 78	64,0	1,94
BT 79	59,5	1,99
BT 80	63,6	1,92

BT 31	67,1	1,9
BT 32	66,9	1,77
BT 33	88,5	1,9
BT 34	83,6	1,88
BT 35	52,2	1,83
BT 36	51,7	1,86
BT 37	54,1	1,84
BT 38	50,7	1,76
BT 39	50,1	1,98
BT 40	53,3	1,91
BT 41	56,4	1,85
BT 42	58,7	1,81
BT 43	60,1	1,88
BT 44	62,7	1,95
BT 45	65,5	1,8
BT 46	51,1	1,83
BT 47	77,6	1,89
BT 48	70,1	1,89
BT 49	70,6	1,81
BT 50	98,43	1,84

BT 81	68,3	1,79
BT 82	88,1	1,85
BT 83	60,2	1,77
BT 84	50,5	1,96
BT 85	62,4	2,01
BT 86		
BT 87	70,8	1,85
BT 88	81,1	1,77
BT 89	75,2	1,82
BT 90	56,6	1,92
BT 91	60,1	1,95
BT 92	56,3	2,02
BT 93	51,8	1,82
BT 94	50,8	1,99
BT 95	51,7	1,75
BT 96	59,0	1,79
BT 97	70,5	1,85
BT 98	56,1	1,84
BT 99	57,9	1,78
BT 100	60,2	1,97

Numune No.	Konsantrasyon (ng/μL)	Safılık (A260/A280)
BT 101	57,1	1,76
BT 102	88,5	1,95
BT 103	57,6	1,76
BT 104	54,4	1,75
BT 105	50,1	1,78
BT 106	55,5	1,92
BT 107	90,3	1,90
BT 108	80,8	1,81
BT 109	51,5	1,86
BT 110	50,5	1,86
BT 111	89,7	1,93
BT 112	85,7	1,95
BT 113	80,2	2,02
BT 114	65,4	1,86
BT 115	59,0	1,87
BT 116	87,6	2,01
BT 117	58,4	1,76
BT 118	64,4	1,98
BT 119	52,5	1,96
BT 120	69,5	1,78

Numune No.	Konsantrasyon (ng/μL)	Safılık (A260/A280)
BT 125	60,3	1,81
BT 126	65,9	2,00
BT 127	70,1	1,80
BT 128	53,1	1,85
BT 129	60,3	1,82
BT 130	75,2	2,00
BT 131	50,9	1,86
BT 132	68,2	1,79
BT 133	77,2	1,85
BT 134		
BT 135		
BT 136	62,0	1,92
BT 137	56,1	1,80
BT 138	57,8	1,98
BT 139	60,3	1,80
BT 140	63,3	1,90
BT 141	58,7	1,82
BT 142	68,7	1,98
BT 143	54,4	1,90
BT 144	59,1	1,82

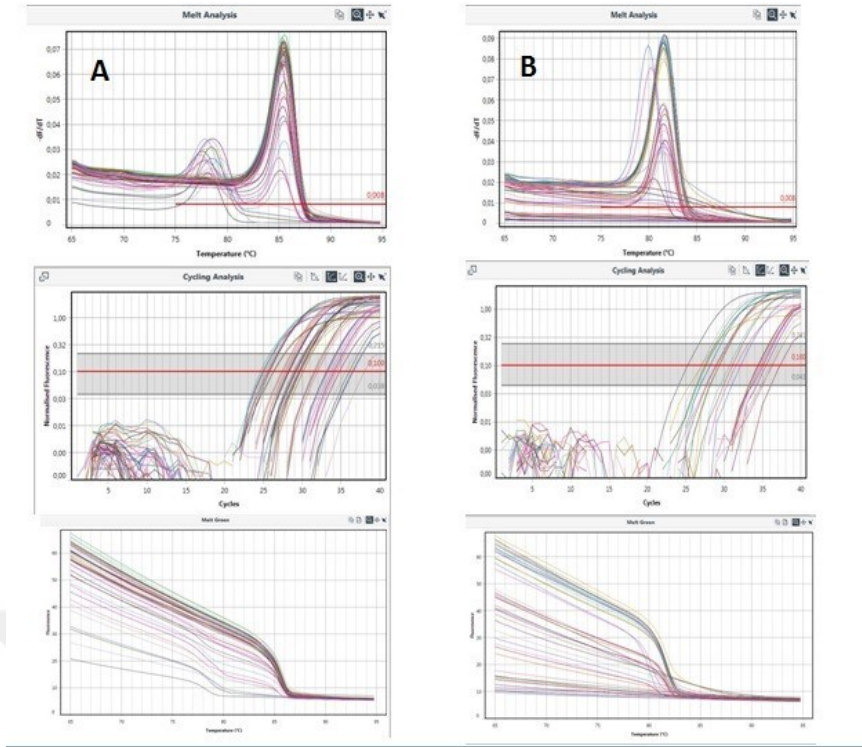
BT 121	60,1	1,92
BT 122	78,8	1,75
BT 123	51,8	1,95
BT 124	50,2	1,85

BT 145	51,1	1,84
BT 146	54,6	1,92
BT 147	52,5	1,75
BT 148	57,8	1,82
BT 149	52,2	1,87

İzolasyon kiti kullanım protokolüne bağlı kalınarak yapılan işlemler sonrası elde edilen cDNA numuneleri nanodrop cihazı ile ölçümlendirildi. Çizelge 3.13.'de spektrofotometrik analiz prensibine dayalı olarak nanodrop ölçümlendirmeleri sonrası, bazı satırlarda sayısal değerleri belirtilmemiş numuneler görülmektedir. Bu numunelere ait cDNA'lar, çalışmanın sonra ki basamakları olan qPCR ve dizi analizi (Sekans) metodlarında ki kullanımları açısından yeterli kalitede olmadıkları belirlenmiş ve bu aşamadan sonra çalışmaya dahil edilmedi. Bu kalite seviyesi; konsantrasyonda 50ng/μL derişim olarak, saflık açısından ise spektrofotometrik ölçümlendirmesi 1,80-2,00 (A260/A280) absorbans aralığı esas alındı. Ayrıca; bu ölçümler esas alınarak çalışmanın sonra ki basamaklarında ki standardizasyonu sağlamak açısından, qPCR ve dizi analizi (Sekans) çalışmaları öncesi herbir cDNA numunesi 50ng/μL seviyesine dilüsyonu gerçekleştirilmesi sağlandı.

3.2.2. GST Enzimlerinin Gen İfadeleri ve Klinik Hasta Bilgileri ile Karşılaştırılması

Quantitative-PCR metodu ile beyin tümörlü hastalara ait dokulardan elde edilen numunelerle yapılan çalışmamızda, GST-T1 ve GST-M1 gen bölgelerinin Melting-Curve grafiklerinin genel görüntüsü Şekil.3.2.'de görülmektedir.



Şekil.3.2. Beyin tümörlü dokularda qPCR ile yapılan analiz sonrası Melting-Curve grafiklerinin genel görüntüsü. **A:** GST-T1; **B:** GST-M1.

Quantitative-PCR çalışması sonrası hastalara ait numunelerin GST-T1 gen bölgesinde ki delesyon durumlarının genel ifadesi Çizelge 3.14.'de verildiği gibidir.

Çizelge 3.14. Beyin tümörlü hastalarda qPCR çalışması sonrası GST-T1 gen bölgelerine ait delesyon ve gen dozu ifadeleri.

Hasta No.	Numune No.	Cq	Efficiency	R ²	Tm		dF/dT	Normalize Edilmiş GST-T1 Gen Dozu	Delesyon Durumu	GST-T1 Delesyon Bağıntısı
					Ct 1	Ct 2				
1	BT1	24,8888861	0,98428152	0,99606	85,48		0,0689	1,08542615	(-/-)	(-)
2	BT2	27,2843844	0,9876984	0,99893	85,22		0,0693	1,09204076	(-/-)	(-)
3	BT3	29,1940935	0,94100281	0,99844	85,37		0,0693	1,09172578	(-/-)	(-)
4	BT4	29,0904845	1,01729403	0,99918	85,43		0,0732	1,15393462	(-/-)	(-)
5	BT5	36,0386483	0,95203354	0,99935	78,44		0,0309	0,48806379	(+/-)	(+)
6	BT6	31,8860702	1,01974762	0,99885	78,35	85,2	0,0528	0,83155108	(-/-)	(-)
7	BT7	24,5472076	1,08219915	0,9918	85,44		0,0718	1,13204340	(-/-)	(-)
8	BT8	33,0818165	1,00752214	0,99871	77,82	85,4	0,0512	0,80682504	(-/-)	(-)
9	BT9	DNA YETERSİZ.								
10	BT10	28,1816565	1,04005721	0,99887	85,39		0,0678	1,06920460	(-/-)	(-)
11	BT11	29,6931570	0,89141111	0,9976	85,38		0,0686	1,08101641	(-/-)	(-)
12	BT12	36,4435317	0,92312925	0,99872	78,09		0,0205	0,32317099	(+/+)	(+)
13	BT13	25,3054105	0,98550984	0,99802	85,47		0,0650	1,02479221	(-/-)	(-)
14	BT14	25,0743913	0,97200514	0,99844	85,28		0,0747	1,17661328	(-/-)	(-)
15	BT15	35,4777594	0,93346107	0,99874	79,3		0,0266	0,41892535	(+/-)	(+)
16	BT16	33,1388728	0,9870187	0,99915	77,57	85,3	0,0432	0,68051747	(+/-)	(+)
17	BT17	27,2914389	1,00761945	0,99891	85,43		0,0708	1,11503441	(-/-)	(-)
18	BT18	30,0779404	1,04359416	0,99928	85,52		0,0703	1,10810481	(-/-)	(-)
19	BT19	27,4321662	1,01733509	0,9987	85,37		0,0712	1,12227898	(-/-)	(-)
20	BT20	24,9441143	1,06332256	0,99742	85,51		0,0755	1,19	(-/-)	(-)
21	BT21	27,8407870	1,04801565	0,99871	85,36		0,0694	1,09345817	(-/-)	(-)
22	BT22	34,0986734	0,99383797	0,99938	78,4	85,2	0,0188	0,29655505	(+/+)	(+)
23	BT23	25,5668960	0,97257367	0,99824	85,35		0,0727	1,14621757	(-/-)	(-)
24	BT24	31,3821052	1,10528292	0,9964	77,23	85,4	0,0637	1,00368846	(-/-)	(-)
25	BT25	26,2133398	0,95721584	0,99491	85,51		0,0726	1,14369772	(-/-)	(-)
26	BT26	25,7519985	1,08483319	0,99834	85,51		0,0691	1,08936342	(-/-)	(-)
27	BT27	29,6836005	1,04969866	0,99848	77,63	85,4	0,0682	1,07518925	(-/-)	(-)
28	BT28	29,5520077	1,0160278	0,99896	85,41		0,0705	1,11093965	(-/-)	(-)
29	BT29	31,5554093	1,03554583	0,99858	77,33	85,3	0,0647	1,02006749	(-/-)	(-)
30	BT30	28,8267687	0,95969045	0,99665	85,31		0,0731	1,15125727	(-/-)	(-)
31	BT31	33,2956703	1,01832481	0,99898	77,81	85,4	0,0334	0,52680651	(+/-)	(+)
32	BT32	34,0247077	1,01663947	0,99904	78,55	85,0	0,0218	0,34364478	(+/+)	(+)
33	BT33	27,7161033	1,06728144	0,99797	85,36		0,0663	1,04526601	(-/-)	(-)
34	BT34	28,1267602	1,03582227	0,99899	75,13	85,3	0,0639	1,00731074	(-/-)	(-)
35	BT35	25,5536803	0,98037338	0,99869	85,47		0,0733	1,15519454	(-/-)	(-)
36	BT36	29,4549409	0,96677867	0,9993	85,43		0,0567	0,89360243	(-/-)	(-)
37	BT37	28,2455033	1,01847885	0,99854	85,45		0,0631	0,99471148	(-/-)	(-)

38	BT38	29,0399730	0,96300678	0,99855	85,31		0,0678	1,06857464	(-/-)	(-)
39	BT39	34,2983749	0,98058951	0,99957	77,37	84,9	0,0264	0,41672048	(+/-)	(+)
40	BT40	33,6507628	1,02917923	0,99911	77,95	85,4	0,0412	0,64917681	(+/-)	(+)
41	BT41	31,5253558	0,97574515	0,99773	77,63	85,3	0,0651	1,02668210	(-/-)	(-)
42	BT42	29,4979166	0,94048023	0,99691	85,43		0,0684	1,07818157	(-/-)	(-)
43	BT43	38,0147599	0,75693273	0,97892	77,7		0,0251	0,39530174	(+/-)	(+)
44	BT44	36,3832248	0,89874705	0,99947	78,52		0,0263	0,41546056	(+/-)	(+)
45	BT45	29,1147003	0,97676064	0,99867	85,39		0,0655	1,03203679	(-/-)	(-)
46	BT46	31,9895533	0,98151243	0,99783	77,92	85,4	0,0649	1,02242985	(-/-)	(-)
47	BT47	34,7275261	0,91566125	0,99846	78,18	85,3	0,0470	0,74115140	(+/-)	(+)
48	BT48	27,9367464	1,01869963	0,99859	85,15		0,0597	0,94132212	(-/-)	(-)
49	BT49	26,2580756	0,78393779	0,99782	75,43	85,0	0,0645	1,01707517	(-/-)	(-)
50	BT50	33,8913424	0,98727301	0,99895	78,62		0,0497	0,78398888	(+/-)	(+)
51	BT51	25,9690998	0,59933215	0,99162	85,37		0,0717	1,13062599	(-/-)	(-)
52	BT52	35,0519174	0,89829909	0,9979	78,16		0,0433	0,68335230	(+/-)	(+)
53	BT53	33,0277908	0,97358396	0,99954	77,9	85,3	0,0400	0,63059290	(+/-)	(+)
54	BT54	28,2538650	0,95876517	0,99919	77,15	85,4	0,0639	1,00699576	(-/-)	(-)
55	BT55	27,4481266	0,96138969	0,99902	75,54	85,3	0,0681	1,07251191	(-/-)	(-)
56	BT56	24,6907092	0,71477676	0,98858	85,49		0,0713	1,12322392	(-/-)	(-)
57	BT57	27,0643381	0,95054487	0,99883	85,51		0,0645	1,01581524	(-/-)	(-)
58	BT58	29,1233269	0,76838756	0,99294	75,73	85,4	0,0700	1,10290762	(-/-)	(-)
59	BT59	24,7482441	0,90296566	0,99472	75,05	85,5	0,0719	1,13314584	(-/-)	(-)
60	BT60	34,7155022	0,9210247	0,99948	78,06	85,5	0,0222	0,35041688	(+/+)	(+)
61	BT61	DNA YETERSİZ.								
62	BT62	35,3242421	0,87495851	0,99874	77,38	85,3	0,0328	0,51735706	(+/-)	(+)
63	BT63	26,9018574	0,92301655	0,99956	85,48		0,0655	1,03282424	(-/-)	(-)
64	BT64	32,6333691	0,91895379	0,9998	78,3	85,5	0,0259	0,40916093	(+/-)	(+)
65	BT65	27,4425009	0,90761928	0,9994	79	85,3	0,0683	1,07644917	(-/-)	(-)
66	BT66	25,1593590	1,03705573	0,99774	85,25		0,0655	1,03298173	(-/-)	(-)
67	BT67	31,6297691	0,99964841	0,99845	77,46	85,4	0,0541	0,85328480	(-/-)	(-)
68	BT68	27,7096410	0,94168813	0,9979	75,64	85,3	0,0702	1,10668740	(-/-)	(-)
69	BT69	25,8119923	0,90640333	0,9986	85,42		0,0682	1,0744018	(-/-)	(-)
70	BT70	24,1193998	0,91390922	0,99395	85,26		0,0664	1,04589597	(-/-)	(-)
71	BT71	28,6946610	0,9650168	0,99735	85,4		0,0614	0,96841053	(-/-)	(-)
72	BT72	25,2501641	0,86739564	0,99595	76,97	85,3	0,0704	1,10967972	(-/-)	(-)
73	BT73	34,0830545	0,89117188	0,99872	77,93	85,1	0,0264	0,41593303	(+/-)	(-)
74	BT74	31,7367713	0,94429533	0,99929	76,94	85,3	0,0614	0,96699311	(-/-)	(-)
75	BT75	36,0232138	0,72483391	0,99213	77,17	85,2	0,0395	0,62256087	(+/-)	(+)
76	BT76	DNA YETERSİZ.								
77	BT77	34,4718557	0,90780508	0,99813	78,26		0,0443	0,69878639	(+/-)	(+)
78	BT78	32,0344087	0,83807896	1	77,84	85,1	0,0493	0,77658681	(+/-)	(+)
79	BT79	33,5271712	0,88458981	0,9995	78,24	85,3	0,0423	0,66681577	(+/-)	(+)
80	BT80	31,0082776	1,05133916	0,99602	77,59	85,1	0,0503	0,79249338	(+/-)	(+)
81	BT81	36,7259865	0,91648409	0,99919	79,34		0,0203	0,32096612	(+/+)	(+)

82	BT82	28,4500304	0,96605372	0,99899	85,33		0,0685	1,08022895	(-/-)	(-)
83	BT83	26,9826269	0,96050661	0,99859	85,38		0,0693	1,09251323	(-/-)	(-)
84	BT84	26,3947495	1,00596566	0,99773	85,37		0,0693	1,09235574	(-/-)	(-)
85	BT85	28,8065036	0,8283875	0,99974	84,13		0,0541	0,85218237	(-/-)	(-)
86	BT86	DNA YETERSİZ.								
87	BT87	30,0501166	0,94362584	0,99847	77,8	85,2	0,0555	0,87438856	(-/-)	(-)
88	BT88	29,7388224	0,91235686	0,99961	77,26	85,2	0,0598	0,94258205	(-/-)	(-)
89	BT89	29,5354777	0,91888985	0,99881	76,67	85,2	0,0586	0,92384065	(-/-)	(-)
90	BT90	30,7771938	0,92979594	0,99878	77,11	85,3	0,0620	0,97770248	(-/-)	(-)
91	BT91	33,5261611	0,86957273	0,99895	76,2	83,7	0,0491	0,77406696	(+/-)	(+)
92	BT92	35,1686059	0,96305322	0,99465	76,68		0,0412	0,65027924	(+/-)	(+)
93	BT93	34,0670033	0,89327028	0,99955	78,37		0,0448	0,70697591	(+/-)	(+)
94	BT94	29,3289707	0,89572274	0,99989	77,82	85,3	0,0561	0,8839955	(-/-)	(-)
95	BT95	30,3166877	0,82520664	0,99991	75,56	83,4	0,0596	0,93911725	(-/-)	(-)
96	BT96	32,8858035	0,88411253	0,99989	78,11	85,2	0,0444	0,70051879	(+/-)	(+)
97	BT97	32,8986375	0,92988753	0,99935	78	85,4	0,0449	0,70729089	(+/-)	(+)
98	BT98	31,2181249	0,9277466	0,99902	77,14	85,2	0,0624	0,98352964	(-/-)	(-)
99	BT99	30,2954802	0,93741008	0,99887	77,61	85,3	0,0617	0,97297776	(-/-)	(-)
100	BT100	26,8420425	0,92759567	0,99976	85,38		0,0662	1,04321863	(-/-)	(-)
101	BT101	31,7498321	0,94181043	0,9992	78,05	85,3	0,0481	0,75753043	(+/-)	(+)
102	BT102	27,3073618	0,95880572	0,99843	85,31		0,0691	1,08857596	(-/-)	(-)
103	BT103	33,4401009	0,94002303	0,99917	78,49		0,0476	0,75060084	(+/-)	(+)
104	BT104	31,606518	0,87601189	0,99884	77,77	85,6	0,0426	0,67232795	(+/-)	(+)
105	BT105	28,5709250	0,94174909	0,99914	77,35	85,3	0,0702	1,10574245	(-/-)	(-)
106	BT106	32,1756151	0,96218704	0,99899	77,99	85,2	0,0394	0,62177342	(+/-)	(+)
107	BT107	29,8421269	0,94796329	0,99937	77,12	85,3	0,0668	1,05345553	(-/-)	(-)
108	BT108	27,7954414	0,93865071	0,99935	85,14		0,0715	1,12731868	(-/-)	(-)
109	BT109	30,6436093	0,81253147	0,99856	76,74	85,4	0,0703	1,10841979	(-/-)	(-)
110	BT110	28,8213544	0,93568894	0,99931	77,49	85,3	0,0639	1,00746823	(-/-)	(-)
111	BT111	36,1394478	0,85353527	0,99898	78	84,9	0,0088	0,13969428	(+/-)	(+)
112	BT112	27,4011107	0,94029454	0,99839	85,41		0,0738	1,16243912	(-/-)	(-)
113	BT113	26,8408745	0,92900608	0,99924	85,45		0,0738	1,16369904	(-/-)	(-)
114	BT114	28,8197181	0,802048	0,9982	85,93		0,0441	0,69532159	(+/-)	(+)
115	BT115	24,9147653	0,88396152	0,99778	85,3		0,0737	1,16196664	(-/-)	(-)
116	BT116	34,0787953	0,91603785	0,99928	77,63		0,0424	0,66854817	(+/-)	(+)
117	BT117	25,4622037	0,74912791	0,99703	85,98		0,0414	0,65311408	(+/-)	(+)
118	BT118	32,7217545	0,94497011	0,99928	77,73	85,4	0,0380	0,59972472	(+/-)	(+)
119	BT119	27,7131651	0,93178242	0,99921	77,68	85,3	0,0708	1,11582186	(-/-)	(-)
120	BT120	30,7529929	0,87304126	0,99852	77,53	85,4	0,0381	0,60145712	(+/-)	(+)
121	BT121	32,3627582	0,94534531	0,99897	78,56	85,3	0,0435	0,68539968	(+/-)	(+)
122	BT122	26,2368005	0,76996543	0,99758	85,17		0,0439	0,69185680	(+/-)	(+)
123	BT123	27,6112320	0,92755599	0,9992	76,92	85,3	0,0708	1,11645182	(-/-)	(-)
124	BT124	32,7866242	0,92341525	0,9994	77,88		0,0596	0,93880227	(-/-)	(-)
125	BT125	26,0035995	0,91774365	0,99924	85,11		0,0732	1,15424960	(-/-)	(-)

126	BT126	27,0718015	0,9124296	0,99902	84,4		0,0701	1,10511249	(-/-)	(-)
127	BT127	28,1290598	0,95705879	0,99869	76,82	85,3	0,0715	1,12731868	(-/-)	(-)
128	BT128	31,8427302	0,92161776	0,99946	77,5	85,3	0,0452	0,71311805	(+/-)	(+)
129	BT129	28,1605905	0,86020942	0,99795	85,4		0,0485	0,76477501	(+/-)	(+)
130	BT130	29,4736106	0,90681436	0,99932	76,8	85,2	0,0694	1,09393065	(-/-)	(-)
131	BT131	28,7441865	0,90250738	0,99899	85,12		0,0642	1,01172048	(-/-)	(-)
132	BT132	29,6595663	0,92273778	0,99911	77,34	85,3	0,0605	0,95392138	(-/-)	(-)
133	BT133	26,6507443	0,93429522	0,99912	85,4		0,0730	1,15078480	(-/-)	(-)
134	BT134	DNA YETERSİZ.								
135	BT135	DNA YETERSİZ.								
136	BT136	33,8926219	0,86218397	0,99877	78,19	85,7	0,0173	0,27245897	(+/+)	(+)
137	BT137	34,0091543	0,90292538	0,99931	77,41		0,0413	0,65122419	(+/-)	(+)
138	BT138	30,0695564	0,96365231	0,99918	77,28	85,1	0,0622	0,98069481	(-/-)	(-)
139	BT139	29,9238812	0,91955244	0,99948	77,1	85,0	0,0623	0,98148226	(-/-)	(-)
140	BT140	32,5676131	0,81494451	0,99857	78,48	85,2	0,0319	0,50365537	(+/-)	(+)
141	BT141	31,7345462	0,91818858	0,99938	78,25	85,1	0,0433	0,68224986	(+/-)	(+)
142	BT142	29,4070717	0,94558328	0,99906	77,14	85,0	0,0625	0,98541953	(-/-)	(-)
143	BT143	35,2100598	0,8299391	0,9979	78,56		0,0243	0,38317496	(+/-)	(+)
144	BT144	26,6168352	0,92179945	0,99914	85,4		0,0648	1,02069745	(-/-)	(-)
145	BT145	26,6339720	0,92773196	0,99916	85,44		0,0745	1,17425092	(-/-)	(-)
146	BT146	29,9711518	0,87209862	0,99882	77,55	85,4	0,0427	0,67248544	(+/-)	(+)
147	BT147	25,8221445	0,92112431	0,99926	85,39		0,0736	1,16007676	(-/-)	(-)
148	BT148	29,2827350	0,95530498	0,99885	77,96	85,3	0,0661	1,04101376	(-/-)	(-)
149	BT149	31,4219877	0,94210808	0,99916	77,69	85,2	0,0466	0,73469428	(+/-)	(+)

Girault ve arkadaşlarının 2005 yılında yayınlamış olduğu delesyon çalışmasında, kullanılan DNA oranları 100ng dır. Kullandığımız oran ise yarısı olan 50ng. Bu hesaplamalar GST-T1 gen bölgesi için yapıldığında; en yüksek elde edilen gen (dose) frekansı 0,07556'dır. Bu duruma istinaden, Girault ve arkadaşlarının 2005 çalışmasında da olduğu gibi kontrol grubu ortalaması alındığında bu oran “1,19” olduğundan dolayı şu formülüzasyon ile dF/dT oranı normalize edildikten sonra “mean” değerleri elde edilerek normalize edilir.

Normalized Mean=[Numuneye ait dF/dT değeri/1,19]/0,07556 (en yüksek dF/dT)
Ayrıca; Yine Girault et. al. (2005)'a göre, Normalized Mean değerleri; 1,00-0,80 ile >1,00 olan değerlerde delesyon olmadığı anlamına gelir, (-/-) veya “1/1” ile gösterilir. 0,79-0,36 arası (+/-) veya “1/0” şeklinde gösterilir bir miktar delesyona bağlı gen kaybı olduğu anlamına gelir. 0,35-0 arası gen frekansı oldukça düşük olduğundan, bu bölgede taraması yapılmış olan genin delesyon sonucu yok olma

durumuna geldiği ve delesyonun oldukça güçlü olduğu anlamını taşır, (+/+) veya “0/0” ile ifade edilir [97].

qPCR çalışması sonrası hastalara ait numunelerin GST-M1 gen bölgesinde ki delesyon durumlarının genel ifadesi Çizelge 3.15.’de verildiği gibidir.

Çizelge 3.15. Beyin tümörlü hastalarda qPCR çalışması sonrası GST-M1 gen bölgelerine ait delesyon ve gen dozu ifadeleri.

Hasta No.	Numune No.	Cq	Efficiency	R ²	Tm		dF/dT	Normalize Edilmiş GST-T1 Gen Dozu	Delesyon Durumu	GST-M1 Delesyon Bağıntısı
					Ct 1	Ct 2				
1	BT1	24,93813007	0,91144205	0,9995	81,51		0,08248	0,827198877	(-/-)	(-)
2	BT2	32,21653323	0,92062973	0,99993	81,5		0,06119	0,613679671	(+/-)	(+)
3	BT3	37,02913405	0,83508823	0,98287	81,37		0,02264	0,22705847	(+/+)	(+)
4	BT4	27,84409298	0,85325687	0,99983	81,59		0,08561	0,858589911	(-/-)	(-)
5	BT5	34,26097971	0,85476219	0,9998	81,5		0,03215	0,322435062	(+/+)	(+)
6	BT6	33,28794831	0,93403657	0,9998	81,53		0,04872	0,488616989	(+/-)	(+)
7	BT7	2,020958512	0,91968578	0,9991	81,46		0,0705	0,707050446	(+/-)	(+)
8	BT8	24,09872839	0,9734718	0,99995	81,57		0,08369	0,839334069	(-/-)	(-)
9	BT9	DNA YETERSİZ.								
10	BT10	26,79797671	0,94609794	0,99989	81,44		0,08536	0,85608264	(-/-)	(-)
11	BT11						0,00097	0,009728212	(+/+)	(+)
12	BT12	32,46094536	0,96452004	0,99979	81,82		0,04895	0,490923679	(+/-)	(+)
13	BT13	3,073182997	0,8696284	0,99991	81,52		0,03549	0,355932203	(+/+)	(+)
14	BT14	34,19084698	0,95687054	0,9996	81,37		0,04646	0,465951259	(+/-)	(+)
15	BT15	30,77560749	0,89664786	0,99983	81,98		0,06607	0,662621603	(+/-)	(+)
16	BT16						0,00062	0,006218032	(+/+)	(+)
17	BT17	33,02055106	0,92942956	0,99999	81,52		0,05258	0,527329255	(+/-)	(+)
18	BT18	28,72562052	0,90734313	0,99997	81,62		0,09195	0,922174305	(-/-)	(-)
19	BT19	33,27842854	0,9549618	0,99985	81,5		0,04854	0,486811754	(+/-)	(+)
20	BT20	35,16173091	0,98104641	0,99562	81,5		0,041	0,411192458	(+/+)	(+)
21	BT21						0,00057	0,005716578	(+/+)	(+)
22	BT22	28,69877474	0,87822361	0,99995	81,34		0,07805	0,782770033	(+/-)	(+)
23	BT23						0,00064	0,006418614	(+/+)	(+)
24	BT24	25,7876097	0,96237261	0,99977	81,53		0,09313	0,934008625	(-/-)	(-)
25	BT25				84,62		0,02821	0,282920469	(+/+)	(+)
26	BT26	35,02099687	0,92395148	0,99957	81,51		0,02431	0,24380704	(+/+)	(+)
27	BT27	27,17479291	0,89271487	0,99999	81,57		0,08999	0,9025173	(-/-)	(-)
28	BT28	27,26877535	0,87145186	0,99991	81,44		0,08845	0,88707251	(-/-)	(-)
29	BT29						0,00032	0,003209307	(+/+)	(+)
30	BT30	29,22816331	0,87867448	0,9999	81,37		0,07741	0,776351419	(+/-)	(+)
31	BT31	30,07835371	0,98082995	0,99984	81,55		0,08871	0,889680072	(-/-)	(-)
32	BT32	25,24854207	0,93460401	0,99991	81,53		0,0923	0,925684485	(-/-)	(-)
33	BT33						0,00055	0,005515996	(+/+)	(+)

34	BT34	27,10083896	0,92145972	0,9997	81,4		0,0842	0,844448902	(-/-)	(-)
35	BT35	33,80148521	0,95911674	0,99983	81,55		0,04728	0,474175108	(+/-)	(+)
36	BT36	28,88469889	0,92858601	0,99995	81,56		0,09037	0,906328352	(-/-)	(-)
37	BT37	33,63771918	0,96920408	0,99983	81,62		0,04178	0,419015144	(+/-)	(+)
38	BT38	34,06648509	0,93012744	0,99968	81,41		0,04239	0,425132885	(+/-)	(+)
39	BT39	30,95702095	0,89134439	0,99991	81,04		0,07597	0,761909538	(+/-)	(+)
40	BT40	35,14685345	0,93135861	0,99963	81,69		0,01933	0,1938622	(+/-)	(+)
41	BT41	30,34112232	0,9394745	0,99959	81,34		0,07715	0,773743857	(+/-)	(+)
42	BT42				75,2		0,00144	0,014441881	(+/-)	(+)
43	BT43	30,37160265	0,9166694	0,99938	81,42		0,07994	0,801725003	(-/-)	(-)
44	BT44	29,97799179	0,92463677	0,99995	81,46		0,08316	0,834018654	(-/-)	(-)
45	BT45						0,00049	0,004914251	(+/-)	(+)
46	BT46						0,00044	0,004412797	(+/-)	(+)
47	BT47				78,86		0,01234	0,123758901	(+/-)	(+)
48	BT48	26,07997527	0,9746217	0,99975	81,24		0,09292	0,931902517	(-/-)	(-)
49	BT49	26,82806844	0,90880447	0,99915	81,03		0,07588	0,76100692	(+/-)	(+)
50	BT50	35,39609322	0,91206692	0,99938	81,64		0,04054	0,406579079	(+/-)	(+)
51	BT51	-1	-1		81,19		0,02609	0,261658811	(+/-)	(+)
52	BT52						0,00052	0,005215124	(+/-)	(+)
53	BT53						0,0002	0,002005817	(+/-)	(+)
54	BT54						0,00014	0,001404072	(+/-)	(+)
55	BT55						0,00047	0,00471367	(+/-)	(+)
56	BT56	-1	-1		81,43		0,03694	0,370474376	(+/-)	(+)
57	BT57	34,71411003	0,89265814	0,99881	81,63		0,0553	0,554608364	(+/-)	(+)
58	BT58	-1	-1		75,21	77.44	0,01779	0,17841741	(+/-)	(+)
59	BT59	27,0917163	0,65476716	0,99877	81,52		0,07908	0,79309999	(+/-)	(+)
60	BT60	25,28044454	0,93923615	0,99694	81,64		0,09124	0,915053656	(-/-)	(-)
61	BT61	DNA YETERSİZ.								
62	BT62	36,17368143	0,86856303	0,99854	81,47		0,03861	0,387222947	(+/-)	(+)
63	BT63	28,12827434	0,93262014	0,99868	81,56		0,08631	0,86561027	(-/-)	(-)
64	BT64						0,00091	0,009126467	(+/-)	(+)
65	BT65	29,27907517	0,95225122	0,99957	81,55		0,09181	0,920770234	(-/-)	(-)
66	BT66	27,0303643	0,98061991	0,99781	81,41		0,09051	0,907732424	(-/-)	(-)
67	BT67	34,41941407	0,88794479	0,99904	81,62		0,05311	0,53264467	(+/-)	(+)
68	BT68	28,85135905	0,7965877	0,99782	81,3		0,08587	0,861197473	(-/-)	(-)
69	BT69	27,43042736	1,00310358	0,99766	81,53		0,08863	0,888877745	(-/-)	(-)
70	BT70	-1	-1		78,38		0,00999	0,100190553	(+/-)	(+)
71	BT71	29,31617706	0,96953751	0,99801	81,57		0,0905	0,907632133	(-/-)	(-)
72	BT72	-1	-1		79,93		0,01147	0,115033597	(+/-)	(+)
73	BT73	36,25387894	0,80104667	0,99877	81,38		0,03517	0,352722896	(+/-)	(+)
74	BT74	34,32984374	0,8757533	0,99943	81,5		0,05861	0,587804633	(+/-)	(+)
75	BT75	-1	-1		75,33		0,01517	0,15214121	(+/-)	(+)
76	BT76	DNA YETERSİZ.								
77	BT77						0,00173	0,017350316	(+/-)	(+)
78	BT78						0,00336	0,033697723	(+/-)	(+)
79	BT79	34,35000397	0,93746602	0,9975	81,44		0,05742	0,575870023	(+/-)	(+)

80	BT80	31,08470363	0,99426504	0,99936	81,54		0,08531	0,855581185	(-/-)	(-)
81	BT81	30,60402266	0,89741133	0,99914	81,51		0,0902	0,904623408	(-/-)	(-)
82	BT82	29,02531912	0,85454483	0,9994	81,44		0,08846	0,887172801	(-/-)	(-)
83	BT83	29,33438701	0,8997203	0,99954	81,52		0,08449	0,847357336	(-/-)	(-)
84	BT84	27,53411749	0,90055752	0,99604	81,48		0,08737	0,876241099	(-/-)	(-)
85	BT85	37,2451897	0,87808321	0,99741	80,45		0,02173	0,217932003	(+/-)	(+)
86	BT86	DNA YETERSİZ.								
87	BT87						0,00085	0,008524722	(+/-)	(+)
88	BT88						0,00122	0,012235483	(+/-)	(+)
89	BT89	28,18132874	0,88095044	0,99957	81,4		0,09078	0,910440277	(-/-)	(-)
90	BT90	-1	-1				0,00458	0,045933206	(+/-)	(+)
91	BT91	31,42799253	0,80285278	0,99669	80,18		0,07574	0,759602848	(+/-)	(+)
92	BT92						0,00224	0,022465149	(+/-)	(+)
93	BT93						0,00128	0,012837228	(+/-)	(+)
94	BT94	35,95844089	0,94944755	0,99929	81,62		0,03438	0,34479992	(+/-)	(+)
95	BT95	32,141322	0,95279711	0,99924	79,89		0,0862	0,864507071	(-/-)	(-)
96	BT96						0,00266	0,026677364	(+/-)	(+)
97	BT97	35,10129169	0,95691816	0,99903	81,59		0,04552	0,456523919	(+/-)	(+)
98	BT98	35,04418397	0,87668472	0,9993	81,49		0,04838	0,485207101	(+/-)	(+)
99	BT99						0,00361	0,036204994	(+/-)	(+)
100	BT100						0,00313	0,031391034	(+/-)	(+)
101	BT101	34,41628564	0,9966581	0,99938	81,55		0,04521	0,453414903	(+/-)	(+)
102	BT102	27,38154736	1,02816407	0,99813	81,4		0,09431	0,945842945	(-/-)	(-)
103	BT103	33,33435412	0,99843132	0,99921	81,43		0,06499	0,651790192	(+/-)	(+)
104	BT104						0,00078	0,007822686	(+/-)	(+)
105	BT105	35,30978509	0,90957443	0,99977	81,52		0,03068	0,307692308	(+/-)	(+)
106	BT106	34,00068731	0,95926682	0,99958	81,39		0,05039	0,50536556	(+/-)	(+)
107	BT107	30,59252515	0,98958825	0,99955	81,46		0,0881	0,883562331	(-/-)	(-)
108	BT108	28,45064817	1,04520674	0,99861	81,21		0,09525	0,955270284	(-/-)	(-)
109	BT109	27,55377344	0,82559962	0,99679	81,39		0,07276	0,729716177	(+/-)	(+)
110	BT110						0,00141	0,014141009	(+/-)	(+)
111	BT111	-1	-1		79,14		0,00914	0,091665831	(-/-)	(-)
112	BT112	27,85998461	0,9887842	0,99933	81,51		0,08994	0,902015846	(-/-)	(-)
113	BT113						0,00264	0,026476783	(+/-)	(+)
114	BT114						0,00092	0,009226758	(+/-)	(+)
115	BT115	36,15416721	0,88886041	0,99982	81,42		0,03311	0,332062983	(+/-)	(+)
116	BT116	28,24427198	1,0456866	0,99804	80,54		0,1014	1,016949153	(-/-)	(-)
117	BT117	26,99985919	0,88152688	0,99923	82,27		0,05727	0,57436566	(+/-)	(+)
118	BT118	29,26391873	0,99032635	0,99881	81,5		0,09971	1	(-/-)	(-)
119	BT119	28,71321299	0,98385852	0,99937	81,46		0,09436	0,946344399	(-/-)	(-)
120	BT120	35,63285713	0,8823361	0,99981	81,57		0,02537	0,25443787	(+/-)	(+)
121	BT121						0,00258	0,025875038	(+/-)	(+)
122	BT122	35,44048833	0,86106688	0,99988	81,61		0,03389	0,339885668	(+/-)	(+)
123	BT123						0,00194	0,019456424	(+/-)	(+)
124	BT124	30,96659791	0,99358889	0,99935	81,07		0,08347	0,83712767	(-/-)	(-)
125	BT125						0,0038	0,038110521	(+/-)	(+)

126	BT126	26,94513048	0,97290265	0,99932	80,51		0,09467	0,949453415	(-/-)	(-)
127	BT127	32,80293563	0,95303424	0,99956	81,43		0,07094	0,711463243	(+/-)	(+)
128	BT128	30,91688597	0,97719326	0,99962	75,14	81,43	0,08996	0,902216428	(-/-)	(-)
129	BT129						0,00116	0,011633738	(+/+)	(+)
130	BT130						0,00246	0,024671547	(+/+)	(+)
131	BT131	31,20642345	0,99290909	0,99854	81,14		0,07879	0,790191556	(+/-)	(+)
132	BT132						0,00261	0,02617591	(+/+)	(+)
133	BT133	35,113729	0,95589618	0,99907	81,59		0,0343	0,343997593	(+/+)	(+)
134	BT134	DNA YETERSİZ.								
135	BT135	DNA YETERSİZ.								
136	BT136	34,62967296	0,89577417	0,99976	81,77		0,03499	0,350917661	(+/+)	(+)
137	BT137	28,98835549	0,98201488	0,99921	80,27		0,08974	0,900010029	(-/-)	(-)
138	BT138	31,45533572	0,99211063	0,9992	81,19		0,08556	0,858088457	(-/-)	(-)
139	BT139	30,69375192	1,00365169	0,99922	81,14		0,08382	0,84063785	(-/-)	(-)
140	BT140						0,00089	0,008925885	(+/+)	(+)
141	BT141	31,18423945	1,03639964	0,99869	81,36		0,07869	0,789188647	(+/-)	(+)
142	BT142	37,79323862	0,77551572	0,98646			0,00766	0,076822786	(+/+)	(+)
143	BT143	33,04217048	0,92635214	0,99942	81,9		0,05073	0,508775449	(+/-)	(+)
144	BT144						0,00239	0,023969512	(+/+)	(+)
145	BT145	35,70428688	0,90566355	0,99983	81,61		0,02587	0,259452412	(+/+)	(+)
146	BT146	35,94099378	0,88166141	0,99961	81,48		0,02061	0,206699428	(+/+)	(+)
147	BT147	27,68675204	0,99184343	0,99908	81,51		0,0847	0,849463444	(-/-)	(-)
148	BT148						0,00172	0,017250025	(+/+)	(+)
149	BT149	32,75429521	0,97819459	0,99969	81,42		0,07425	0,744659513	(+/-)	(+)

Girault ve arkadaşlarının 2005 yılında yayınlamış olduğu delesyon çalışmasında, kullanılan DNA oranları 100ng dır. Kullandığımız oran yarısı olan 50ng'dır. Bu hesaplamalar GST-M1 gen bölgesi için yapıldığında; en yüksek elde edilen gen (dose) frekansı 0,09971'tür. Bu duruma karşın Girault ve arkadaşlarının 2005 çalışmasında yaptığı gibi kontrol grubunda bu oran "1" olduğundan dolayı şu formülüzasyon ile dF/dT oranı normalize edildikten sonra Mean değerleri elde edilerek normalize edilmiş olur

Normalized Mean=[Numuneye ait dF/dT değeri x1]/0,09971 (en yüksek dF/dT)
Ayrıca yine Girault ve arkadaşları (2005)'na göre, Normalized Mean değerleri; 1,00-0,80 ile >1,00 olan değerlerde delesyon olmadığı anlamına gelmektedir (-/-) veya "1/1" ile gösterilmektedir. 0,79-0,42 arası (+/-) veya "1/0" şeklinde gösterilir bir miktar delesyona bağlı gen kaybı olduğu anlamına gelir. 0,41-0 arası gen frekansı oldukça düşük olduğundan bu bölgede taraması yapılmış olan genin delesyon sonucu yok olma durumuna geldiği ve delesyonun oldukça güçlü olduğu anlamını taşır. Bu durum (+/+) veya "0/0" şeklinde ifade edilir [97]. GST-M ve GST-T gen

bölgelerinde delesyona bağlı gen kaybı ve polimorfik durum ifadeleri belirlenmiş ve bu gen bölgelerine ait hastalarda ki genel genotip durumları Çizelge 3.16’da verilmiştir.

Çizelge 3.16. GST-M ve GST-T Gen bölgelerinde ki mevcut allelik gen durumları ile “null” allel durumlarının istatistiksel anlamlılık ifadeleri.

Genotip	Hasta Sayıları (% n)	<i>p-Anlamlılık</i>
GSTM1 present (1/1)	44 (30,8%)	p<0,001 $\chi^2=39,756$
GSTM1 present (1/0)	33 (23,1%)	
GSTM1 null (0/0)	66 (44,3%)	
Toplam	143 (100%)	
GSTT1 present (1/1)	92 (64,3%)	p=0,846 $\chi^2=0,335$
GSTT1 present (1/0)	44 (30,8%)	
GSTT1 null (0/0)	7 (4,9%)	
Toplam	143 (100%)	

Ki-kare testi kullanılmıştır. χ^2 :ki- kare. Veriler katılımcı sayısı (%) olarak bildirilmiştir.

Hastaların GSTM1 genotiplemesi ile ilgili gen dozu ve delesyon bileşke bilgileri Çizelge 3.17’de belirtilmiştir.

Çizelge 3.17. Hastaların GST-M1 gen dozu ve delesyon bilgileri

Genotip	Hasta Numarası	Numune Numarası	Anlamlılık (Normalize Edilmiş GSTM1 Gen Dozu Oranı)	GSTM1 Delesyon Durumu
GSTM1 1/1				
	116	BT116	1,02	(-)
	118	BT118	1,00	(-)
	108	BT108	0,96	(-)
	126	BT126	0,95	(-)
	119	BT119	0,95	(-)
	102	BT102	0,95	(-)
	24	BT24	0,93	(-)
	48	BT48	0,93	(-)
	32	BT32	0,93	(-)
	18	BT18	0,92	(-)
	65	BT65	0,92	(-)
	60	BT60	0,92	(-)
	89	BT89	0,91	(-)
	66	BT66	0,91	(-)
	71	BT71	0,91	(-)
	36	BT36	0,91	(-)
	81	BT81	0,90	(-)

	27	BT27	0,90	(-)
	128	BT128	0,90	(-)
	112	BT112	0,90	(-)
	137	BT137	0,90	(-)
	31	BT31	0,89	(-)
	69	BT69	0,89	(-)
	82	BT82	0,89	(-)
	28	BT28	0,89	(-)
	107	BT107	0,88	(-)
	84	BT84	0,88	(-)
	63	BT63	0,87	(-)
	95	BT95	0,86	(-)
	68	BT68	0,86	(-)
	4	BT4	0,86	(-)
	138	BT138	0,86	(-)
	10	BT10	0,86	(-)
	80	BT80	0,86	(-)
	147	BT147	0,85	(-)
	83	BT83	0,85	(-)
	34	BT34	0,84	(-)
	139	BT139	0,84	(-)
	8	BT8	0,84	(-)
	124	BT124	0,84	(-)
	44	BT44	0,83	(-)
	1	BT1	0,83	(-)
	43	BT43	0,80	(-)
	111	BT111	0,09	(-)
GSTM1 1/0				
	59	BT59	0,79	(+)
	131	BT131	0,79	(+)
	141	BT141	0,79	(+)
	22	BT22	0,78	(+)
	30	BT30	0,78	(+)
	41	BT41	0,77	(+)
	39	BT39	0,76	(+)
	49	BT49	0,76	(+)
	91	BT91	0,76	(+)
	149	BT149	0,74	(+)
	109	BT109	0,73	(+)
	127	BT127	0,71	(+)
	7	BT7	0,71	(+)
	15	BT15	0,66	(+)
	103	BT103	0,65	(+)
	2	BT2	0,61	(+)
	74	BT74	0,59	(+)
	79	BT79	0,58	(+)

	117	BT117	0,57	(+)
	57	BT57	0,55	(+)
	67	BT67	0,53	(+)
	17	BT17	0,53	(+)
	143	BT143	0,51	(+)
	106	BT106	0,51	(+)
	12	BT12	0,49	(+)
	6	BT6	0,49	(+)
	19	BT19	0,49	(+)
	98	BT98	0,49	(+)
	35	BT35	0,47	(+)
	14	BT14	0,47	(+)
	97	BT97	0,46	(+)
	101	BT101	0,45	(+)
	38	BT38	0,43	(+)
GSTM1 0/0				
	37	BT37	0,42	(+)
	20	BT20	0,41	(+)
	50	BT50	0,41	(+)
	62	BT62	0,39	(+)
	56	BT56	0,37	(+)
	13	BT13	0,36	(+)
	73	BT73	0,35	(+)
	136	BT136	0,35	(+)
	94	BT94	0,34	(+)
	133	BT133	0,34	(+)
	122	BT122	0,34	(+)
	115	BT115	0,33	(+)
	5	BT5	0,32	(+)
	105	BT105	0,31	(+)
	25	BT25	0,28	(+)
	51	BT51	0,26	(+)
	145	BT145	0,26	(+)
	120	BT120	0,25	(+)
	26	BT26	0,24	(+)
	3	BT3	0,23	(+)
	85	BT85	0,22	(+)
	146	BT146	0,21	(+)
	40	BT40	0,19	(+)
	58	BT58	0,18	(+)
	75	BT75	0,15	(+)
	47	BT47	0,12	(+)
	72	BT72	0,12	(+)
	70	BT70	0,10	(+)
	142	BT142	0,08	(+)
	90	BT90	0,05	(+)

	125	BT125	0,04	(+)
	99	BT99	0,04	(+)
	78	BT78	0,03	(+)
	100	BT100	0,03	(+)
	96	BT96	0,03	(+)
	113	BT113	0,03	(+)
	132	BT132	0,03	(+)
	121	BT121	0,03	(+)
	130	BT130	0,02	(+)
	144	BT144	0,02	(+)
	92	BT92	0,02	(+)
	123	BT123	0,02	(+)
	77	BT77	0,02	(+)
	148	BT148	0,02	(+)
	42	BT42	0,01	(+)
	110	BT110	0,01	(+)
	93	BT93	0,01	(+)
	88	BT88	0,01	(+)
	129	BT129	0,01	(+)
	11	BT11	0,01	(+)
	114	BT114	0,01	(+)
	64	BT64	0,01	(+)
	140	BT140	0,01	(+)
	87	BT87	0,01	(+)
	104	BT104	0,01	(+)
	23	BT23	0,01	(+)
	16	BT16	0,01	(+)
	21	BT21	0,01	(+)
	33	BT33	0,01	(+)
	52	BT52	0,01	(+)
	45	BT45	0,00	(+)
	55	BT55	0,00	(+)
	46	BT46	0,00	(+)
	29	BT29	0,00	(+)
	53	BT53	0,00	(+)
	54	BT54	0,00	(+)
		Anlamlılık $\pm$ SD (%95 CI)	0,47 $\pm$ 0,36 (0,41 – 0,53)	

Güven Aralığı (CI), %95; Standart Sapma (SD).

Hastaların GSTT1 genotipleme ile ilgili gen dozu ve delesyon bileşke bilgileri Çizelge 3.18'de belirtilmiştir.

Çizelge 3.18. Hastaların GSTT1 gen dozu ve delesyon bilgileri

Genotip	Hasta Numarası	Numune Numarası	Anlamlılık (Normalize Edilmiş GSTT1 Gen Dozu Oranı)	GSTT1 Delesyon Durumu
<i>GSTT1 1/1</i>				
	20	BT20	1,19	(-)
	14	BT14	1,18	(-)
	145	BT145	1,17	(-)
	113	BT113	1,16	(-)
	112	BT112	1,16	(-)
	115	BT115	1,16	(-)
	147	BT147	1,16	(-)
	35	BT35	1,16	(-)
	125	BT125	1,15	(-)
	4	BT4	1,15	(-)
	30	BT30	1,15	(-)
	133	BT133	1,15	(-)
	23	BT23	1,15	(-)
	25	BT25	1,14	(-)
	59	BT59	1,13	(-)
	7	BT7	1,13	(-)
	51	BT51	1,13	(-)
	108	BT108	1,13	(-)
	127	BT127	1,13	(-)
	56	BT56	1,12	(-)
	19	BT19	1,12	(-)
	123	BT123	1,12	(-)
	119	BT119	1,12	(-)
	17	BT17	1,12	(-)
	28	BT28	1,11	(-)
	72	BT72	1,11	(-)
	109	BT109	1,11	(-)
	18	BT18	1,11	(-)
	68	BT68	1,11	(-)
	105	BT105	1,11	(-)
	126	BT126	1,11	(-)
	58	BT58	1,10	(-)
	130	BT130	1,09	(-)
	21	BT21	1,09	(-)
	83	BT83	1,09	(-)
	84	BT84	1,09	(-)
	2	BT2	1,09	(-)
	3	BT3	1,09	(-)
	26	BT26	1,09	(-)
	102	BT102	1,09	(-)

	1	BT1	1,09	(-)
	11	BT11	1,08	(-)
	82	BT82	1,08	(-)
	42	BT42	1,08	(-)
	65	BT65	1,08	(-)
	27	BT27	1,08	(-)
	69	BT69	1,07	(-)
	55	BT55	1,07	(-)
	10	BT10	1,07	(-)
	38	BT38	1,07	(-)
	107	BT107	1,05	(-)
	70	BT70	1,05	(-)
	33	BT33	1,05	(-)
	100	BT100	1,04	(-)
	148	BT148	1,04	(-)
	66	BT66	1,03	(-)
	63	BT63	1,03	(-)
	45	BT45	1,03	(-)
	41	BT41	1,03	(-)
	13	BT13	1,02	(-)
	46	BT46	1,02	(-)
	144	BT144	1,02	(-)
	29	BT29	1,02	(-)
	49	BT49	1,02	(-)
	57	BT57	1,02	(-)
	131	BT131	1,01	(-)
	110	BT110	1,01	(-)
	34	BT34	1,01	(-)
	54	BT54	1,01	(-)
	24	BT24	1,00	(-)
	37	BT37	0,99	(-)
	142	BT142	0,99	(-)
	98	BT98	0,98	(-)
	139	BT139	0,98	(-)
	138	BT138	0,98	(-)
	90	BT90	0,98	(-)
	99	BT99	0,97	(-)
	71	BT71	0,97	(-)
	74	BT74	0,97	(-)
	132	BT132	0,95	(-)
	88	BT88	0,94	(-)
	48	BT48	0,94	(-)
	95	BT95	0,94	(-)
	124	BT124	0,94	(-)
	89	BT89	0,92	(-)
	36	BT36	0,89	(-)

	94	BT94	0,88	(-)
	87	BT87	0,87	(-)
	67	BT67	0,85	(-)
	85	BT85	0,85	(-)
	6	BT6	0,83	(-)
	8	BT8	0,81	(-)
GSTT1 1/0				
	80	BT80	0,79	(+)
	50	BT50	0,78	(+)
	78	BT78	0,78	(+)
	91	BT91	0,77	(+)
	129	BT129	0,76	(+)
	101	BT101	0,76	(+)
	103	BT103	0,75	(+)
	47	BT47	0,74	(+)
	149	BT149	0,73	(+)
	128	BT128	0,71	(+)
	97	BT97	0,71	(+)
	93	BT93	0,71	(+)
	96	BT96	0,70	(+)
	77	BT77	0,70	(+)
	114	BT114	0,70	(+)
	122	BT122	0,69	(+)
	121	BT121	0,69	(+)
	52	BT52	0,68	(+)
	141	BT141	0,68	(+)
	16	BT16	0,68	(+)
	146	BT146	0,67	(+)
	104	BT104	0,67	(+)
	116	BT116	0,67	(+)
	79	BT79	0,67	(+)
	117	BT117	0,65	(+)
	137	BT137	0,65	(+)
	92	BT92	0,65	(+)
	40	BT40	0,65	(+)
	53	BT53	0,63	(+)
	75	BT75	0,62	(+)
	106	BT106	0,62	(+)
	120	BT120	0,60	(+)
	118	BT118	0,60	(+)
	31	BT31	0,53	(+)
	62	BT62	0,52	(+)
	140	BT140	0,50	(+)
	5	BT5	0,49	(+)
	15	BT15	0,42	(+)
	39	BT39	0,42	(+)

	73	BT73	0,42	(-)
	44	BT44	0,42	(+)
	64	BT64	0,41	(+)
	43	BT43	0,40	(+)
	143	BT143	0,38	(+)
GSTT1 0/0				
	60	BT60	0,35	(+)
	32	BT32	0,34	(+)
	12	BT12	0,32	(+)
	81	BT81	0,32	(+)
	22	BT22	0,30	(+)
	136	BT136	0,27	(+)
	111	BT111	0,14	(+)
		Anlamlılık ± SD (%95 CI)	0,89 ± 0,25 (0,84 – 0,93)	

Güven Aralığı (CI), %95; Standart Sapma (SD).

Hastaların GSTM1 genotip frekanslarına göre demografik ve klinik özellikleri Çizelge 3.19’de genel olarak özetlendi. Parametreler arasındaki ilişkiler belirlendi. GSTM1’in genotip dağılımı hastalar arasında demografik ve klinik özellikler açısından önemli farklılıklar göstermediği belirlendi. GSTM1 geninin genotip dağılımı şu şekildedir: 31 (%53,4) kadın hastada “null”, 35 (%41,2) erkek hastada “null” genotip bulundu. GSTM1 null genotipi kadınlarda erkeklere göre daha sık olduğu gözlemlendi [OR: 1,640 (0,837-3,215)]. GSTM1 “null” genotipi 60 yaş altı hastalarda 45 (%48,4), 60 yaş ve üstü hastalarda 21 (%42,0) şeklinde bulundu. GSTM1 “null” genotip sıklığı 60 yaşın altındaki hastalarda daha yüksek oranda bulundu [OR: 1,295 (0,647-2,590)]. GSTM1 “null” genotipi sigara içenlerde 20 (%46,5), içmeyenlerde 46 (%46,5) olarak gözlemlendi. GSTM1 “null” genotipi, sigara içen ve içmeyenlerde aynı sıklıkta bulundu [OR=1,002 (0,489-2,054)]. Alkol kullananlarda GSTM1 “null” genotipi 5 (%35,7) ve alkol kullanmayanlarda 61 (%47,7) şeklinde tespit edildi. GSTM1 “null” genotipi alkol tüketicilerinde daha az sıklıkta olduğu belirlendi [OR=0,610 (0,194-1,921)]. Radyoterapi alan hastalarda GSTM1 “null” genotipi 26 bireyde (%47,3), bu tedaviyi almayanlarda ise 40 birey şeklinde (%45,5) rastlandı. GSTM1 “null” genotipi radyoterapi alan hastalarda almayanlara göre daha sık olduğu belirlendi [OR=1,076 (0,548-2,114)]. Kemoterapi tedavisi alan hastalarda GSTM1 “null” genotipi 13 birey (%40,6), bu tedaviyi almayanlarda ise 53 birey (%47,7) şeklinde bulunmuştur. GSTM1 “null” genotipi; frontal de 20 (%50,0), parietal de 2 (%50,0), serebellar de 6 (%40,0), temporal de 5 (%31,3) ve diğer dokularda 33 (%48,5) şeklinde gözlemlenmiştir. GSTM1 “null”

genotipi, kemoterapi alan hastalarda, almayanlara göre daha az sıklıkta görülmüştür [OR=0,749 (0,337-1,663)]. GSTM1 “null” genotip sıklığı, ameliyat sonrası yaşayan ve yaşamayan hastalarda sırasıyla 44 (%47,3) ve 22 (%44,0) birey şeklinde rastlanmıştır. GSTM1 “null” genotipi, ameliyat sonrası yaşayan hastalarda, yaşamayanlara oranla daha sık olarak belirlenmiştir [OR=1,076 (0,548-2,114)].

Çizelge 3.19. GST-M1 genotiplemesinin hastaların demografik ve klinik özelliklerine göre dağılımı

Özellikler	Toplam	GSTM1 Allelik İfadesi	GSTM1 “null” İfadesi	OR (95% CI)	p-Anlamlılık Oranı
Demografik Özellikler					
Cinsiyet					
Kadın	58 (100%)	27 (46,6%)	31 (53,4%)	1,640 (0,837-3,215)	p=0,148 χ²=2,089
Erkek	85 (100%)	50 (58,8%)	35 (41,2%)	1	
Yaş					
<60	93 (100%)	48 (51,6%)	45 (48,4%)	1,295 (0,647-2,590)	p=0,465 χ²=0,534
≥60	50 (100%)	29 (58,0%)	21 (42,0%)	1	
Sigara Kullanımı					
Evet	43 (100%)	23 (53,5%)	20 (46,5%)	1,002 (0,489-2,054)	p=0,996 χ²=0,000
Hayır	99 (100%)	53 (53,5%)	46 (46,5%)	1	
Alkol Kullanımı					
Evet	14 (100%)	9 (64,3%)	5 (35,7%)	0,610 (0,194-1,921)	p=0,395 χ²=0,723
Hayır	128 (100%)	67 (52,3%)	61 (47,7%)	1	
Klinik Özellikler					
Radyoterapi					
Evet	55 (100%)	29 (52,7%)	26 (47,3%)	1,076 (0,548-2,114)	p=0,832 χ²=0,045
Hayır	88 (100%)	48 (54,5%)	40 (45,5%)	1	
Kemoterapi					
Evet	32 (100%)	19 (59,4%)	13 (40,6%)	0,749 (0,337-1,663)	p=0,476 χ²=0,507
Hayır	111 (100%)	58 (52,3%)	53 (47,7%)	1	

Lezyon Lokalizasyonu					
Frontal	40 (100%)	20 (50,0%)	20 (50,0%)	1	p=0,722 χ²=2,075
Parietal	4 (100%)	2 (50,0%)	2 (50,0%)	1,000 (0,128-7,812)	
Serebellar	15 (100%)	9 (60,0%)	6 (40,0%)	1,500 (0,450-5,003)	
Temporal	16 (100%)	11 (68,8%)	5 (31,3%)	2,200 (0,646-7,492)	
Diğer	68 (100%)	35 (51,5%)	33 (48,5%)	1,061 (0,486-2,317)	
Yaşamsal Durumları					
Hayatta	93 (100%)	49 (52,7%)	44 (47,3%)	1,143 (0,573-2,281)	p=0,705 χ²=0,144
Hayatta olmayan (Exitus)	50 (100%)	28 (56,0%)	22 (44,0%)	1	

CI, %95 güven aralığı; OR, “odds” oranı; χ^2 , ki- kare. Veriler katılımcı sayısı (%) olarak bildirilmiştir. Ki-kare testi kullanılmıştır.

Hastaların GSTT1 genotiplerine ilişkin demografik ve klinik özellikleri Tablo 3.20'de gösterildi. İncelenen parametreler arasındaki ilişkiler değerlendirildi. GSTT1'in genotip dağılımı ile hastaların klinik ve demografik özellikleri arasında anlamlı bir fark bulunmadı. GSTT1 geninin genotip dağılımı şu şekilde gözlemlendi; Hastaların 3'ü (%5,2) kadınlarda, 4'ü (%4,7) erkeklerde “null” genotipe sahip olduğu gözlemlendi. GSTT1 “null” genotipinin sıklığı kadınlarda daha yüksek olduğu belirlendi [OR=1,105 (0,238-5,130)]. GSTT1 “null” genotip prevalansı 60 yaş altı hastalarda 5 (%5,4), 60 yaş ve üzeri hastalarda 2 (%4,0) şeklinde belirlendi. GSTT1 “null” genotipinin sıklığı 60 yaşın altındaki hastalarda daha yüksek olarak gözlemlendi [OR=1,364 (0,255-7,296)]. GSTT1 “null” genotipi sigara içenlerde 2 birey (%4,7), içmeyenlerde 5 birey (%5,1) olarak bulundu. GSTT1 “null” genotipinin sıklığı sigara içenlerde daha düşük durumda gözlemlendi [OR=0,917 (0,171-4,922)]. GSTT1 “null” genotipine, alkol tüketim alışkanlığı olan hastalarda 1 bireyde (%7,1) ve alkolik olmayanlarda 6 bireyde (%4,7) rastlandı. GSTT1 “null” genotipine ise alkol tüketicilerinde daha sık olarak rastlandı [OR=1,564 (0,175-14,016)]. Radyoterapi alan hastalarda GSTT1 “null” genotipine 3 bireyde (%5,5), almayanlarda ise 4 bireyde (%4,5) rastlandı. GSTT1 “null” genotipi; frontal de 1 (%2,5), parietal de 1 (%6,7), serebellar de 1 (%6,3), temporal de 4 (%5,9) ve diğer dokularda 33 (%48,5) şeklinde gözlemlendi. GSTT1 “null” genotipi radyoterapi alan

hastalarda daha sık şekilde gözlemlendi [OR=1,212 (0,261-5,631)]. GSTT1 “null” genotipi kemoterapi alan hastalarda 2 bireyde (%6,3), almayan hastalarda ise 5 bireyde (%4,5) belirlendi. GSTT1 “null” genotipi kemoterapi alan hastalarda daha sık gözlemlendi [OR=1,413 (0,261-7,653)]. GSTT1 “null” genotipi ameliyat sonrası yaşayan hastalarda 4 bireyde (%4,3) ve ameliyat sonrası ölen hastalarda 3 bireyde (%6,0) belirlendi. GSTT1 “null” genotipi yaşayan hastalarda daha az sıklıkta bulundu [OR=0,704 (0,151-3,278)].

Çizelge 3.20. GSTT1 genotiplemesinin hastaların demografik ve klinik özelliklerine göre dağılımı

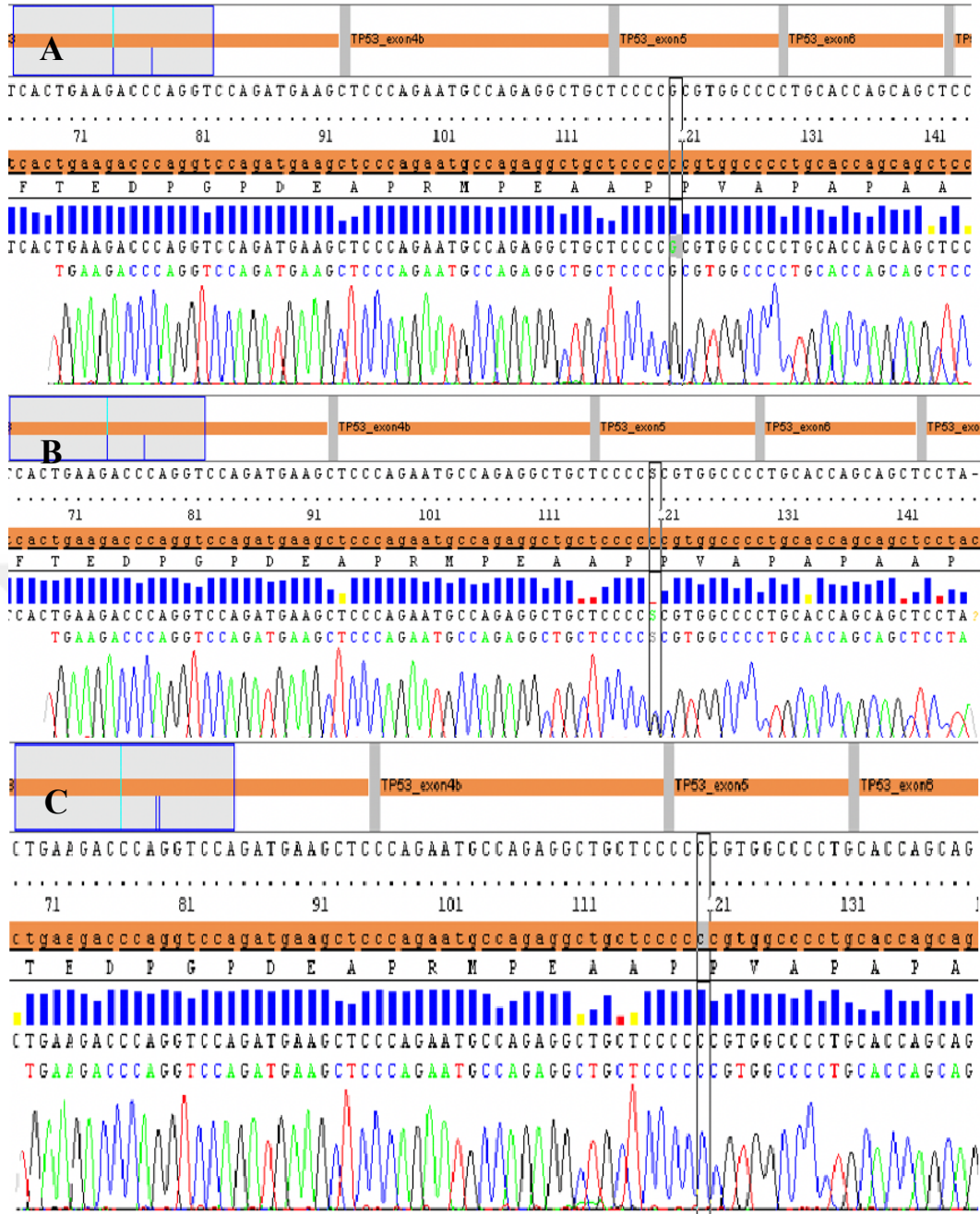
Özellikler	Toplam	GSTT1 Allelik İfadesi	GSTT1 “null” İfadesi	OR (95% CI)	p-Anlamlılık Oranı
Demografik Özellikler					
Cinsiyet					
Kadın	58 (100%)	55 (94,8%)	3 (5,2%)	1,105 (0,238-5,130)	p=1,000
Erkek	85 (100%)	81 (95,3%)	4 (4,7%)	1	
Yaş					
<60	93 (100%)	88 (94,6%)	5 (5,4%)	1,364 (0,255-7,296)	p=1,000
≥60	50 (100%)	48 (96,0%)	2 (4,0%)	1	
Sigara Kullanımı					
Evet	43 (100%)	41 (95,3%)	2 (4,7%)	0,917 (0,171-4,922)	p=1,000
Hayır	99 (100%)	94 (94,9%)	5 (5,1%)	1	
Alkol Kullanımı					
Evet	14 (100%)	13 (92,9%)	1 (7,1%)	1,564 (0,175-14,016)	p=0,524
Hayır	128 (100%)	122 (95,3%)	6 (4,7%)	1	
Klinik Özellikler					
Radyoterapi					
Evet	55 (100%)	52 (94,5%)	3 (5,5%)	1,212 (0,261-5,631)	p=1,000
Hayır	88 (100%)	84 (95,5%)	4 (4,5%)	1	
Kemoterapi					
Evet	32 (100%)	30 (93,8%)	2 (6,3%)	1,413 (0,261-7,653)	p=0,653
Hayır	111 (100%)	106 (95,5%)	5 (4,5%)	1	

Lezyon Lokalizasyonu					
Frontal	40 (100%)	39 (97,5%)	1 (2,5%)	1	p=0,746 1,676 ^a
Parietal	4 (100%)	4 (100%)	0	-	
Serebellar	15 (100%)	14 (93,3%)	1 (6,7%)	0,359 (0,021-6,134)	
Temporal	16 (100%)	15 (93,8%)	1 (6,3%)	0,385 (0,023-6,550)	
Diğer	68 (100%)	64 (94,1%)	4 (5,9%)	0,410 (0,044-3,805)	
Yaşamsal Durumu					
Hayatta	93 (100%)	89 (95,7%)	4 (4,3%)	0,704 (0,151-3,278)	p=0,695
Hayatta olmayan (Exitus)	50 (100%)	47 (94,0%)	3 (6,0%)	1	

CI: %95 güven aralığı; OR: “odds” oranı; χ^2 , Ki-kare; a: Fisher-Freeman-Halton kesin testi. Veriler katılımcı sayısı (%) olarak bildirilmiştir. Fisher'in kesin testi ve Fisher-Freeman-Halton kesin testi kullanılmıştır.

3.2.3. P53 Enzimlerinin Gen İfadeleri ve Klinik Hasta Bilgileri ile Karşılaştırılması

p53 Tümör baskılayıcı gen olarak bilinen ve genetik deformasyon sonrası genellikle moleküler materyalin tamir mekanizmasında çok önemli rol oynayan bu gen aynı zamanda kendi içerisinde bazı mutajenik etkenler ile polimorfik duruma dönüştüğü bilinmektedir. Bunlardan en sık rastlanılan mutasyon, p53 gen bölgesinde ekzon 4 ve kodon 72 bölgesinde ki tek nükleotidin değişimi ile gerçekleşen polimorfik durumdur. Bu değişim “G” (Guanin) nükleotidinin “C” (Sitozin) nükleotidine dönüşümü ile gerçekleşmektedir. Bu değişim sonrası aynı pozisyonda bulunan değişiklikler, proteinlerin yapıtaşısı olarak kabul edilen aminoasit değişimi şeklinde fenotipik ifadeye yansır. Bu genotipik durumda, G/G baz durumunda yabancıl tip (wild type) Arg/Arg (Arjinin aminoasiti) kodlayacaktır ve bu durum fenotipik ifadede yansıyacaktır. G/C durumunda ise heterozigot tip (Heterozygous type) Arg/Pro (Arjinin/Prolin aminoasiti) kodlayacaktır ve bu durum fenotipik ifadeye yansıyacaktır. C/C durumunda ise mutant tip (Mutant type) Pro/Pro (Prolin aminoasiti) kodlayacaktır ve bu durumda fenotipik ifadeye yansıyacaktır. Şekil 3.3'te tüm bu üç genotipik durumda sekans analiz sistemine sonuç ekranına yansıyan durumlarının genel görüntüsü görülmektedir. 149 beyin tümörlü hastanın p53 geni ekzon4 ve kodon72 de ki bu nükleotid değişimi analiz edildi.



Şekil 3.3. Beyin tümörlü hastalarda p53 gen bölgesinde dizi analizi sonrası SNP (Single Nucleotide Polymorphism) metodu ile elde edilen üç farklı genotipin dizi analizi sisteminde ki genel görüntüsü. **A:** Arg/Arg (CGC/CGC) “Wild Type”, **B:** Arg/Pro (CGC/CCC) “Heterozygous”, **C:** Pro/Pro (CCC/CCC) “Mutant Type”.

DNA konsantrasyon ve saflıkları uygun durumda olan 120 hasta ve 47 kontrol grubu ile birlikte, p53 “tek nükleotid polimorfizm”leri için genotiplendi. Türk popülasyonunun beyin tümörü olan hastalarda ve sağlıklı kontrollerde p53 ekzon 4 kodon 72 polimorfizminin genotip ve allel dağılımı Tablo 3.21’de gösterilmiştir. Hasta grubunda p53 genotip dağılımı Hardy-Weinberg dengesindeydi ($\chi^2=3,821$.

p= 0,148). En sık görülen genotip Arg/Pro (Heterozigot) olup, bunu Arg/Arg (Yabanıl Tip) izlemiştir. p53 geninin genotip dağılımı şu şekilde belirlendi: Arg/Pro (Heterozigot) %58,3. Arg /Arg (Yabanıl Tip) %25,8 ve Pro/Pro (Mutant Tip) %15,8 şeklinde bulundu. Kontrol grubunda p53 genotip dağılımı Hardy-Weinberg dengesinde olmadığı gözlemlendi ($\chi^2=28,731$. p=0,000). En sık görülen genotip Arg/Pro (Heterozigot) olup, bunu Arg/Arg (Vahşi Tip) izlediği belirlendi. p53 geninin genotip dağılımı şu şekilde gözlemlendi: Arg/Pro (Heterozigot) %48,9'du. Arg /Arg (Yabanıl Tip) %38,3 ve Pro / Pro (Mutant Tip) %12,8. Arg (Arjinin) kodlayan alleli taşıyan bireylerin sıklığı hem hasta hem de kontrol grubunda Pro allelden daha yüksek gözlemlendi. Arg kodlayan allelinin sıklığı hasta ve kontrol grubunda sırasıyla 0,55 ve 0,63 olarak belirlendi. Pro kodlayan allel sıklığı ise hasta grubunda 0,45 olarak, kontrol grubunda 0,37 olarak bulunmuştur. Hasta grubunda kontrol grubuna göre Arg/Pro, Arg/Arg'dan 1,767 kat daha yüksekti. Pro/Pro, kontrol grubuna göre, hasta grubunda Arg/Arg'dan 1,839 kat daha yüksekti. Hasta grubunda kontrol grubuna göre, Arg alleli, Pro'den 1,393 kat daha yüksekti. Ancak bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı değildi(p>0,05).

Çizelge 3.21. Türk popülasyonunda beyin tümörü teşhisi konulmuş hastalarda ve sağlıklı kontrollerde p53 ekzon 4 kodon 72 (SNP) polimorfizminin genotipi ve allelik ifadesi.

Genotip	Hasta Grubu (n=120)	Kontrol Grubu (n=47)	OR (95% CI)	p- değeri
Arg /Arg (Wild Type)	31 (25,8%)	18 (38,3%)	1	p=0,281 $\chi^2=2,536$
Arg / Pro (Heterozygous)	70 (58,3%)	23 (48,9%)	1,767 (0,837-3,733)	
Pro / Pro (Mutant Type)	19 (15,8%)	6 (12,8%)	1,839 (0,621-5,448)	
Allel				
Arg	0,55	0,63	1,393 (0,791-2,453)	p=0,250 $\chi^2=1,323$
Pro	0,45	0,37	1	

Kısaltmalar: CI. %95 güven aralığı; OR. “odds” oranı; χ^2 , Ki-kare. Veriler katılımcı sayısı (%) olarak bildirildi. İstatistiksel analizler için ki kare testi kullanıldı.

P53 geninin kodladığı amino asit ve hasta grubunu oluşturan popülasyonun pik durumu belirlendi ve veriler Çizelge 3.22'de özetlendi. p53 kodon 72 Arg/Arg,

Arg/Pro ve Pro/Pro genotipleri beyin tümörü olan hastalarda demografik ve klinik özellikler açısından Çizelge 3.22'de özetlendi.

Çizelge 3.22. P53 genotip oranları

Gen	Kodlanan Aminoasit	Hasta Grubun (%)	Pik Durumu	Kontrol grubun (%)
p53	Arg /Arg (Wild Type)	31 (25,8%)	G	18 (38,3%)
	Arg / Pro (Heterozygous)	70 (58,3%)	GC	23 (48,9%)
	Pro / Pro (Mutant Type)	19 (15,8%)	C	6 (12,8%)
	Total	120 (100%)	Total	47 (100%)

Hem kadınlarda hem de erkeklerde en sık görülen genotip Arg/Pro (Heterozigot) olarak rastlandı (sırasıyla 48,0 ve 65,7). Her iki hastada da 60 yaş altı ve üzeri hastalarda en sık görülen genotip Arg/Pro (Heterozigot) şeklinde bulundu (sırasıyla 55,1 ve 64,3). Sigara içenlerin %60,6'sı Arg/Pro (Heterozigot) genotipine sahipken, içmeyenlerin ise %57,0'si Arg/Pro (Heterozigot) genotipine sahip olduğu sonucuna varıldı. Alkol tüketenlerin %50,0'si Arg/Pro (Heterozigot) genotipine sahipken, alkol kullanmayanların %58,9'u Arg/Pro (Heterozigot) genotipine sahip olduğu belirlendi. Radyoterapi alan hastaların %65,3'ü Arg/Pro (Heterozigot) genotipine sahipken, almayan hastaların %53,6'sı Arg/Pro (Heterozigot) genotipine sahip olduğu sonucu gözlemlendi. Kemoterapi alan hastaların %66,7'si Arg/Pro (Heterozigot) genotipine sahipken, almayan hastaların %55,4'ü Arg/Pro (Heterozigot) genotipine sahip olduğu sonucu belirlendi. Arg/Pro genotipinin sıklığı ameliyat sonrası yaşayan hastalarda %57,9 ve ameliyat sonrası çıkış hastalarında %59,1 Arg/Pro (Heterozigot) genotip oranı gözlemlendi.

Çizelge 3.23. Beyin tümörlü hastalarda demografik ve klinik özellikler açısından p53 geni ekzon4 kodon72 bölgesinde ki allelik Arg/Arg, Arg/Pro ve Pro/Pro genotiplerinin genel ilişki durumu.

Özellikler	Toplam	Arg /Arg (Yabanıl Tip)	Arg / Pro (Heterozigot)	Pro / Pro (Mutant Tip)	p-değeri
Demografik Özellikler					
Cinsiyet					
Kadın	50 (100%)	14 (28,0%)	24 (48,0%)	12 (24,0%)	p=0,069 χ²=5,335
Erkek	70 (100%)	17 (24,3%)	46 (65,7%)	7 (10,0%)	
Yaş					
<60	78 (100%)	20 (25,6%)	43 (55,1%)	15 (19,2%)	p=0,364 χ²=2,020
≥60	42 (100%)	11 (26,2%)	27 (64,3%)	4 (9,5%)	
Sigara Kullanımı					
Evet	33 (100%)	7 (21,2%)	20 (60,6%)	6 (18,2%)	p=0,871 1,810 ^a
Hayır	86 (100%)	24 (27,9%)	49 (57,0%)	13 (15,1%)	
Alkol					
Evet	12 (100%)	3 (25,0%)	6 (50,0%)	3 (25,0%)	p=0,785 2,257 ^a
Hayır	107 (100%)	28 (26,2%)	63 (58,9%)	16 (15,0%)	
Klinik Özellikler					
Radyoterapi					
Evet	49 (100%)	11(22,4%)	32 (65,3%)	6 (12,2%)	p=0,568 2,764 ^a
Hayır	69 (100%)	19 (27,5%)	37 (53,6%)	13 (18,8%)	
Kemoterapi					
Evet	27 (100%)	4 (14,8%)	18 (66,7%)	5 (18,5%)	p=0,535 3,495 ^a
Hayır	92 (100%)	27 (29,3%)	51 (55,4%)	14 (15,2%)	

Lezyon Lokalizasyonu					
Frontal	34 (100%)	7 (20,6%)	22 (64,7%)	5 (14,7%)	p=0,432 7,660 ^a
Parietal	4 (100%)	1 (25,0%)	3 (75,0%)	0 (0%)	
Serebellar	12 (100%)	2 (16,7%)	7 (58,3%)	3 (25,0%)	
Temporal	15 (100%)	7 (46,7%)	8 (53,3%)	0 (0%)	
Diğer	55 (100%)	14 (25,5%)	30 (54,5%)	11 (20,0%)	
Yaşamsal Durumu					
Hayatta	76 (100%)	17 (22,4%)	44 (57,9%)	15 (19,7%)	p=0,227 $\chi^2=2,965$
Hayatta Olmayan (Exitus)	44 (100%)	14 (31,8%)	26 (59,1%)	4 (9,1%)	

CI: %95 güven aralığı; OR, “odds” oranı; χ^2 , ki-kare; a: Fisher-Freeman-Halton kesin testi. Veriler katılımcı sayısı (%) olarak bildirilmiştir. Ki-kare ve Fisher-Freeman-Halton kesin testleri kullanılmıştır.



4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Merkezi sinir sistemi ve beyin tümörleri tanısında genel ortalama yaşa bakıldığında 60,47 şeklinde görülmektedir. Diğer popülasyonlara bakıldığında ise Avrupa verilerinde ortalama yaş 53,24 iken, Amerika verilerinde 60,16 dir [100]. Bu seride yaş ortalamasının Amerika ve Avrupa verilerine daha yakın olduğu gözlemlendi. Dünya çapındaki raporlara baktığımızda merkezi sinir sistemi ve beyin tümörlerinin görülme sıklığının yaşla birlikte arttığı görülmektedir [101]. Beyin tümörü vakalarının yetişkinlerde 30 yaşından itibaren arttığı ve sıklıkla 46-60 yaş grubunda en yüksek seviyeye ulaştığı belirlenmiştir [102]. Her iki cinsiyette de tüm merkezi sinir sistemi tümörleri görülür. CBTRUS (Amerika Birleşik Devletleri Merkezi Beyin Tümörü Kayıt Defteri) istatistik raporuna göre, tüm primer beyin tümörlerinde vakaların ortalama %42'si kadın, %58'i erkek olarak rapor edilmiştir [103]. Çalışmamıza dahil edilen bireylerin cinsiyet dağılımının ve değerlendirme için alınan örneklemelerin de bu oranlarla uyumlu olduğu görülmektedir. Cinsiyete bağlı olarak bu tür farklılıklar batı toplumlarının vaka serilerinde de mevcut olduğu görülmüştür. Cinsiyete bağlı hormonal değişikliklerin ve yaşam tarzlarının bu sonuca katkıda bulunabileceği ileri sürülebilir. Avrupa ve Asya'da ve ülkemizde yapılan bir çalışmada primer beyin tümörü grupları incelendiğinde en büyük kategoriyi nöroepitelyal tümörler oluşturmaktadır. Kategorize edildiğinde nöroepitelyal tümörleri sırasıyla meningiomlar ve hipofiz adenomları takip etmektedir. CBTRUS tarafından yayınlanan istatistik raporunda primer beyin tümörü gruplarının insidans oranları dikkate alındığında meningiomlar en büyük tümör grubu olup, bunu yüksek oranlı gruplar olan nöroepitelyal tümörler, sellar bölge tümörleri, kraniyal sinir tümörleri takip etmektedir. Ayrıca Japonya popülasyonunda en sık görülen grup meningiomlar olarak rapor edilmiştir [104,105,106]. Epidemiyolojik çalışmalarda nöroepitelyal tümörlerin insidans oranlarının ülke, ırk, tanı yaşı, cinsiyet ve histolojik tipe göre önemli farklılıklar gösterdiği belirtilmiştir [105,107]. Çalışmalar, yetişkinlerde kafa içi tümörlerinin çoğunluğunun supratentoryal yerleşimli olduğunu ve en sık yerleşimin sırasıyla frontal, temporal ve parietal loblar olduğunu bulmuştur.

Ayrıca CBTRUS raporunda tümörlerin %61,2'sinin supratentoryal yerleşimli olduğu ve dağılımlarının frontal (%8,2), temporal (%6,0), parietal (%3,5) ve oksipital loblar (%1,0) olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada elde edilen bulgular mevcut literatürle uyumlu olduğu gözlemlenmiştir [100,101,106]. Beyin tümörlerinin lateraliteye göre dağılımını değerlendiren çok az çalışma vardır. Caferzadeh ve arkadaşları, merkezi sinir sistemi tümörlerinin sağ ve sol lokalizasyon oranlarında anlamlı bir fark bulmadı. Bu açıdan tümör lokalizasyonu açısından bizim çalışmamızda da benzer sonuçlar gözlenmiştir. Metastatik tümörler, yetişkin popülasyondaki intrakraniyal tümörlerin çoğunluğunu oluşturur, insidansı %8-10 ve kanserli tüm hastalarda ortalama %10-20 rapor edilmektedir. Otopsi serilerinde kanserden ölen hastaların yaklaşık %25'inde beyne metastaz vardır. Bu insidans oranları primer lezyona bağlı olarak değişme eğilimindedir [102,108,109]. Cinsiyet, anatomik lokalizasyon ve derece dağılımları ile ilgili olarak sonuçlar, Amerika, Asya ve Avrupa popülasyonları için bildirilenlere benzer. Merkezi sinir sistemi tümör grupları ve histolojik tiplerinin dağılımında Asya ve Avrupa verileri için paralel sonuçlar elde edildi [110,111]. Amatya ve arkadaşları, 146 meningiom vakasını immünohistokimyasal olarak incelemiş ve p53 immünoaktivitesinin (p53 etiketleme indeksi) histolojik derece ile de ilişkili olduğunu bildirmiştir. Yabani tip p53, hücre döngüsü ve apoptozun düzenlenmesinde rol oynar ve hücre dönüşümünü baskıladığı gösterilmiştir [112]. 108 hastadan alınan 110 beyin tümörü dokusu üzerinde yapılan bir çalışmada, p53 proteinine karşı monoklonal (DO-8) antikor kullanarak immünohistokimyasal yöntem uygulanmıştır. Reaktif astrositik lezyonlardan sadece 5'inde (%9) ilerleyici multifokal lökoensefalopati ekspresyonu olduğu tespit edilmiştir [113]. Beyin tümörleri genellikle kemoterapi ve radyoterapiye zayıf yanıt veriyor gibi görünmektedir [114]. Son yirmi yılda beyin tümörleri üzerine yapılan birçok çalışma, erişkin hastalarda duyarlılık ile GST varyantlarının varlığı arasında bir ilişki olduğunu göstermektedir [115,116,117]. Tümör dokularında p53 ekspresyonunun normalden yüksek olduğu bulundu. Normal dokuların 4'ünde (%2,7) ve tümör dokularının 32'sinde (%21,5) p53'ün pozitif (zayıf) ekspresyonunu saptadık. Normal dokularda veya tümör dokularında güçlü bir p53 ekspresyonu gözlenmedi. Aşırı p53 aktivasyonunun nöral tüpte bozulmaya, embriyonik ölüme ve nöral dejenerasyona neden olduğu belirtilmiştir. Bu nörodejeneratif durum nedeniyle p53'ün sinyal yolundaki durumunun anlaşılmasının çok önemli olduğu belirtildi. Merkezi sinir sistemi ve diğer beyin bölgelerindeki sinyal yolunu anlamak için p53 kontrolü

altında gerçekleştirilmiş ve MDM2/MDM4'ün ekspresyon durumu ortaya çıkarılmaya çalışılmıştır. Ayrıca protein yapılarını kodlayan gen bölgelerindeki mutajenik koşulların önemi vurgulanmıştır [118]. Dolayısıyla çalışmamızda ulaştığımız benzer sonuçlar, bu çalışmadaki ifadelerle aynı önemi, merkezi sinir sistemi ve beyin dejenerasyonunu moleküler bazda anlamının önemini göstermektedir. Takahashi ve arkadaşlarının 2013 yılında yaptığı çalışmada, farklı karşılaştırmalı yöntemler kullanarak p53 enzimi ve mutajenik durum sonuçlarını değerlendirmiştir. Özellikle enzim sentezi ve RT-PCR yöntemi ile mutajenik durumun belirtildiği çalışmada, serebral korteks dışında p53 ekspresyonuna oldukça sık rastladıkları sonucuna varmışlardır. Ayrıca enzimatik yolda p53 eksprese edilmeyen durumun mutajenik moleküler materyalden kaynaklanabileceği de çalışmalarında belirtilmiştir [119]. Murray ve arkadaşları 1995 yılında yapmış oldukları çalışmada, hücre içeriğindeki ilaç metabolize edici ve detoksifiye edici enzimlerin belirlenmesi için en iyi yöntemin immünohistokimyasal yöntem olduğunu bildirmiştir [120]. Lark ve arkadaşları, 2003 yılında parafin bloklarda p125 ekspresyonu, monoklonal anti-FAK 4.47 kullanılarak 18 farklı kolorektal karaciğer metastazının yanı sıra 24 çift primer kolorektal karsinom ve kolorektal karaciğer metastazını immünohistokimyasal testler kullanarak incelemişlerdir. Normal kolorektal mukozada ve hem primer kolorektal tümörlerde hem de karaciğer metastatik tümörlerinde yüksek p125 FAK ekspresyonu olduğunu belirtmişlerdir [121]. Hoshiya ve arkadaşları, 1993 yılında, çeşitli konsantrasyonlarda uygulanan 194 sıçan pestisit örneğinin (Dietilnitrosamin, S-tribütilfosforotritioat, Vinclozolin, Klorobenzilat, Tecnazene, Isoproturon, Dikloran) karaciğer hücrelerinde GST-P ekspresyon seviyesini takip etti ve immünohistokimyasal metod ile kontrolleri sağlandı. Uygulamadan sonra GST-P'nin ifadesinde, karsinogenisite eğilimine neden olabilecek hiçbir fark bulunamadığı bildirilmiştir. Ayrıca uygulanan kimyasallar arasında önemli bir farkın gözlenmediği bildirilmiştir [122]. Nishimura ve arkadaşları 1996 yılında kemoterapi ile tedavi edilen baş boyun tümörlü 51 hastada GST izozimleri alfa, mu ve pi ekspresyon düzeyleri immünohistokimyasal yöntemle incelemiştir. Yapılan çalışmalarda kemoterapinin etkisiyle sitotoksik etkilerin geri dönüşü olmayan hasarlara yol açabileceği belirtilmiştir. GST-P antikoru ile elde edilen kör skorlama ile, biri hariç tüm vakalarda pan-spesifik antikor ile aynı sonucu verdiği gözlemlenmiştir [123]. Beyin dokusunda ülkemizde yapılan başka bir çalışmada, immünohistokimyasal yöntemle intrakraniyal beyin tümörü tanısı konulan

55 hastada sitokrom p450 (CYO) ve GST-P1 enzim ekspresyon düzeyleri incelenmiştir. Enzim ekspresyonlarında önemli bir artış tespit edilmiştir. Ayrıca en yüksek GST ve CYP enzim seviyeleri hipofiz adenomlarında gözlemlenmiştir. Bu nedenle bu tümör tiplerinin diğer interkraniyal tümörlere göre daha fazla ilacı metabolize edebildiği bildirilmiştir [124]. Sohn ve arkadaşları, 2013 yılında fare astım modelleri ile yaptıkları çalışmada, ROS bileşiklerinin ve toksik bileşiklerin detoksifikasyonunda GST'lerin önemini vurgulamış ve astım ile korelasyonlarını incelemiştir. Özellikle OVA ve PBS ile tedavi edilen grupta GST ekspresyonunda artış gösterdiler. OVA ile tedavi edilen hastalarda GST-P1 için mRNA ekspresyonunun PBS'ye göre daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. GST-P1, GST-T1, GST-M1 arasında ekspresyon düzeyleri açısından anlamlı bir farklılaşmanın olmadığı bildirilmiştir. Ayrıca artmış oksidatif stresin GST'lerin upregülasyonuna neden olduğu da belirtilmiştir [125]. Huang ve arkadaşları 2003 yılında meme kanseri tanısı konan olguda 67 (%58) örnek GST-P ve 43 (%37) olguyu incelemiş ve Bcl2'nin pozitif durumunu bildirmişlerdir. Çift immüno Floresan etiketleme ile incelendiğinde, kanser hücrelerinin çekirdeğinde önemli miktarda GST-P belirteci birikimi olduğu gözlemlenmiştir [126]. GST izozimlerinden bir diğeri olan “omega” ekspresyon seviyeleri, glial, meme miyoepiteli, kolon nöroendokrin hücreleri, fetal miyositler, hepatositler, biliyer epitel hücreleri, pankreatik duktal epitel, plasentadaki Hoffbauer hücreleri, tiroid dokusundaki C hücreleri ve foliküler hücreler gibi çeşitli insan dokularında da araştırılmıştır. Hücrelerdeki ifadeye bağlı olarak çekirdekteki yoğunlaşmanın, GST Omega'da olduğu gibi diğer GST izozimlerinin bilinen ifade durumlarına benzer olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada GST-Omega'nın diğer izozimlerden farklı olan fonksiyonlarının ortaya çıkarılması gerektiği öne sürülmüştür [127]. Backos ve arkadaşları 2012 yılında glutatyon grubu bileşiklerin beyin tümörlerinde kullanılan kemoterapi etken maddeli ilaçlara direnci incelenmiş ve bu direncin düzensiz izozim ve eşit dağılmış metabolizmada daha belirgin olduğunu bildirmişlerdir [128]. Harrison ve arkadaşları 1989 yılında GST izozimlerinin böbrek hücrelerinde ekspresyon düzeyleri immünohistokimya yöntemiyle araştırıldı. GST-alfa, GST-pi ve GST-mu kullanılarak 12 böbrek dokusunun tümünde heterojen ve multifokal gözlemlendi. Bu durumun karsinogenez ile ilişkili olabileceği de belirtilmiştir [129]. GST-pi, GST-mu ve GST-alfa izozimlerinin kemorezistans direnci Mathieu ve arkadaşları tarafından 2004 yılında A549 küçük hücreli olmayan akciğer hücre

dizilerini fare modellerine aşılayarak incelenmiştir. Araştırmanın bulguları sonucunda, hastanelerde kullanılan ilaçlardan hangilerinin daha aktif rol oynadığını belirlemek için A549 ksenograft modelinin kullanılabileceği belirlenmiştir [130]. Wahid ve arkadaşları 2013 yılında beyin tümörü dokularında CYP1A1 ve GSTP1 enzim ekspresyon seviyelerini araştırmışlardır. Pakistan popülasyonunda beyin tümörlü 36 olgu ve bir kontrol grubu ile yürütülen çalışmada Western blot ve Elisa teknikleri kullanılmıştır. Tümör dokularında CYP1A1 ekspresyonu, normal dokulardan 4 kat daha fazla gözlemlendiği bildirilmiştir. GST-P'nin ekspresyon seviyesinin tümör dokularında normal dokulara göre daha düşük olduğu bulunmuştur [131]. Diğer bir çalışma da ise, sitokeratine maruz kaldıktan sonra GST-P ekspresyon seviyeleri SELDI-TOF kütle spektrofotometresi ile dokular incelenmiştir. Etkileri immünohistokimyasal yöntem ve qPCR ile doğrulanmıştır. Ser73 ve Ser431 hücre hatlarında yapılan bu çalışmada, CK8 fosforilasyonunun hepatoselüler karsinom ve karsinogenez ile güçlü bir şekilde ilişkili olduğu bildirilmiştir. Quantitative-PCR'de gerçekleştirilen doğrulama çalışmalarında mRNA düzeyinde de güçlü şekilde ifade edilmiştir. GST-P'nin proliferasyon ve tümör odaklı bölgelerde güçlü bir şekilde indüklendiği gösterilmiştir [132]. GST-alfa, GST-mu ve GST-pi, steroidlerin hücre içi taşınması ve ilaç metabolize edici rolleri nedeniyle insan yumurtalık hücrelerinin farklı evrelerinde (menstrüel siklusun ve gebeliğin farklı evreleri ve menopoza sonrası) immünohistokimyasal yöntemle başka bir çalışmada konusu olmuştur ve enzim ekspresyon seviyeleri incelenmiştir. Yumurtalık hücresinin farklı evrelerinde farklı ekspresyon seviyeleri gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, pregnenolonun progesterona ve dehidroepiandrosteronun androstenediona dönüşümünü katalize eden GST'ye bağlı 5,3-ketosteroidizomeras ile önemli ölçüde ilişkili olduğu gözlemlenmiştir [133]. Nishimura ve arkadaşları 1998 yılında, baş-boyun tümörlerinde kullanılan platin bazlı kemoterapi tedavilerinin glutatyon ile ilgili bileşiklerinin ekspresyon seviyelerini araştırdı. 51 hastada yürütülen çalışmada immünohistokimya ve in situ hibridizasyon teknikleri kullanılmıştır. GST ekspresyon skoru düşük olan hastaların kemoterapi tedavisine yanıt verme olasılığının GST ekspresyon skoru yüksek hastalara göre 4,7 kat daha fazla olduğu gözlemlenmiştir [134]. Cookson ve arkadaşları 1997 yılında benign ve malign prostat dokularında GST-P enziminin ekspresyon düzeyi immünohistokimyasal yöntemle incelenmiştir. 69 iyi huylu ve 44 kötü huylu prostat dokusu ile yapılan çalışmada, iyi huylu dokularda bazal hücrelerde %67 oranında tespit edilmiştir.

Diğer epitel hücrelerinin %94'ünde zayıf pozitif ekspresyon görüldüğü bildirilmiştir [135]. Gulubova ve Vlaykova tarafından 2010 yılında yapılan çalışmada kolorektal kanser dokularındaki endokrin hücrelerde GST-P enzim aktivitesi araştırılmıştır. Primer tümör dokularında GST-P eksprese eden endokrin hücreli olguların cerrahi müdahale sonrası GST-P negatif endokrin hücreli olgulara göre daha kötü prognoza sahip olduğu belirlendi [136]. İnsan glioma hücrelerinde GST-P enziminin ekspresyon düzeylerini Pgp, MRP1, MRP3, MRP5 enzimleri ile karşılaştırdığı bir başka çalışmada; MRP1, MRP5 ve GST-P enzim ekspresyonları ağırlıklı olarak endotel hücrelerinde gözlenmiş ve enzim aktivitesi yüksek olan bu olgularda ilaç direncinin yüksek olduğu bildirilmiştir [137]. 2008 yılında Shang ve arkadaşları, epileptik hastaların beyin dokularında GST-alfa, GST-pi ve GST-mu enzim ekspresyon düzeylerini araştırmıştır. 32 epileptik hasta ve 8 normal kontrol grubu ile yapılan çalışmada GST-alfa ekspresyonu izlenmemiştir. GST-mu ekspresyonu, kontrol grubunun %63'ünde ve epileptik numunelerde %53'ünde gözlemlenmiştir. Endotelial ve glial hücrelerde GST-pi ekspresyonunun kontrol grubunda %50 oranında gözlemlendiği, epileptik hücrelerde ise %66 oranında sentezlendiği belirlenmiştir [138]. Wang ve arkadaşları 2017 yılında 150 insan glioma hücresinde GST-P enzim ekspresyonları immünohistokimyasal yöntemle incelenmiştir. GST-P ekspresyonunda kademeli bir artış gözlenirken, yaş, cinsiyet ve diğer klinik verilerle anlamlı bir ilişki bulunamamıştır [139]. Ohmori ve arkadaşlarının 2019 yılında yaptığı çalışmada bazı TP53 kodon72 mutasyonu, gastrik kanser hücre hatlarında (T1N1M0/T2N0M0/T3N0M0) incelenmiş ve metastatik durumları ile ilişkilendirilmeye çalışılmıştır. 658 hastadan gastrektomi ile elde edilmiş dokularda yapılan çalışmada Pro/Pro fenotipinde ki mutant grubun gastrik kanserlerin oluşumunda en yüksek riske sahip grup olduğu bildirilmiştir [140]. Koushik ve arkadaşlarının 2005 yılında yapmış olduğu çalışmada, intraepitelyal servikal neoplastik doku oluşumunda p53 kodon72 de görülen polimorfik durumun etkisi incelenmiştir. Çalışmada invazif serviks kanseri riskinde bu mutasyonun etkisine az rastlandığı belirtilmiştir [141]. Yine 2005 yılında yapılan başka bir çalışmada yetişkin ve pediatrik ileri aşamada ki astrositomanı p53 kodon72 mutasyonu ile bağlantılı olup olmadığı incelenmiştir. Özellikle allelik durumun kontrol grubuyla karşılaştırıldığında Arg/Pro ifadesine geçildiğinde yani mutasyonun artışı ile birlikte astrositomanın da belirgin ifadesinin olduğu ve net bir şekilde bu çeşit beyin tümörlerinde TP53 kodon72 polimorfizminin oldukça etken olduğunu

göstermişlerdir [142]. 2012 yılında beyin tümörlerinde TP53 kodon72 polimorfizm konusunda önemli bir metaanaliz çalışması formatında literatürde yerini almış çalışmada, 268 çalışma incelenmiş yetersiz veriler ve metodlar ile her yönüyle değerlendirilen çalışmalardan yeterli kriter ve parametrelere uygun olduğu düşünülen 8 çalışmaya indirgenmiş ve bu çalışmaların sonuçları tartışılmıştır. Özellikle “beyaz ırk” olarak nitelendirilen (caucasian) bireylerden oluşan çalışmalarda, Avrupa toplumunda TP53 kodon 72 de meydana gelen mutasyonların özellikle glioma derecesini ve oluşumunu doğrudan bağıntılı olduğunu işaret etmektedir [143]. Ülkemizde yapılan bir çalışmada, 2012 yılında, karaciğer dokularında hepatoselüler karsinomada p53 kodon72 mutasyonun rolü araştırılmıştır. Demografik ve klinik verilerin de ilişkilendirildiği çalışmada hastaların yaş, cinsiyet ve sigara, alkol kullanım durumlarında değerlendirilmeye alınmıştır. Çalışma RFLP metodu ile yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar ile Türk popülasyonunda, p53 kodon72 mutasyonunun, hepatoselüler karsinomanın oluşumu ve artışında önemli role sahip olduğu belirtilmiştir [144]. Belirli doku ve organlarda gelişen kontrolsüz hücre çoğalması ve farklılaşması ile apoptotik hücre yolağından ayrılan ve sonucunda neoplastik, metaplastik ve anaplastik dokular oluşturmak suretiyle lezyon meydana gelen dokularda bu tip mutasyonların, hastalığın anlaşılması ve epidemiyolojik olarak gelişim durumunun ortaya konulmasında ki önemi oldukça kritiktir. Özellikle baş boyun bölgesi tümörleri ile merkezi sinir sisteminde meydana gelen bu tarz oluşumların diagnoz ve tedavisine yönelik müdahalelerin gelişimi için meta-analiz çalışmalarının önemi anlaşılmaktadır. Gen tedavilerinin öneminin arttığı son yıllarda metabolizmada ki elzem hormon, protein, enzimlerde ki ve endokrin sistemde ki tüm işleyişte karşılaşılan sıkıntılarında, ilgili genlerde ki deformasyon ile ilişkili olması durumuyla açıklanmaktadır. Ve güncel yaklaşımlarda bu sebeple, tedavileride “gen tedavisi” yönüne kaymaktadır. Literatürde popülasyonlara ait gen havuzlarında ve coğrafik bölgelerce izole olmuş, spesifik “allelık” bölgelerin durumu, özellikle kritik öneme sahip p53 gibi tümör baskılayıcı rol oynayan faktörlerin, mevcut o popülasyonda ki durumlarının ortaya konulmasının önemi ortaya çıkarmaktadır.

Çalışmamızda elde edilen protein ekspresyon seviyeleri verileri, literatürdeki diğer çalışmalarda tercih edilen yöntem olan immünohistokimya yöntemi beyin tümörü dokularına uygulanarak yapılmıştır. Çalışmamızda; normal dokular, alkol ve sigara beyincikte GST-M seviyesini yükselttiği gözlemlenmiştir. GST-M'nin tümör

oluşumu ile birlikte artması beyincikte çok ciddi bir ekspresyon artışına neden olduğu belirlenmiştir. Beynin temporal bölgesindeki normal dokularda sigara içmek GST-M seviyesini az miktarda etkilediği görülmüştür. Sigara ve alkol kullanımının frontal bölgeden alınan örneklerle etkisi olmadığı belirlenmiştir. Tümör dokularında GST-M ekspresyonunda 2 kat artış varken bunun sigara ve alkol kullanımı ile ilişkili olmadığı saptanmıştır. Sigara ve alkol kullanımı GST-M'de ne normal dokuda ne de tümör dokularında herhangi bir değişikliğe neden olmadığı gözlemlenmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlara, GST-T izozimi açısından bakıldığında ise beyin tümörü dokularında gözlenen GST-T1 ekspresyon seviyesinin normal dokulara göre oldukça yüksek olduğu bulunmuştur. Ayrıca 60 yaş üstü bireylerde ve kemoterapi tedavisi gören hastalarda anlamlı olarak daha yüksek ekspresyon seviyeleri bulunmuştur. Genel olarak; Normal dokularda sigara, p53 ekspresyonunda 2 kat, alkol kullanımında 3 kat artışa neden olmuştur. Ne sigara ne de alkol, tümörlü dokularda p53 ekspresyonu üzerinde herhangi bir etkiye sahip olmadığı gözlemlenmiştir. P53 enzim ekspresyonu, sigara ve alkol kullanımından bağımsız olarak tümör büyümesi ile arttığı belirlenmiştir.

Detoksifikasyon ve ilaç metabolizması mekanizmasında rol oynayan faz II enzimlerinin bilinen en önemli rolü kanser tedavisinde kullanılan kemoterapötik ajanları detoksifiye etmektir. Bu doğrultuda çalışmamızda elde ettiğimiz bu bölümdeki verilerin benzer sonuçlar vermesi, bilinen katkısıyla GST enzimlerinin bu rolünü değerlendirmemize neden olmaktadır. Yaşlı bireylerde karsinogenez ile ilgili metabolik süreçlerde GST-T1 ekspresyonunun artmasının beyin tümörlerinin tanısında ve epidemiyolojik olarak anlaşılmasında etken olacağını düşünmekteyiz. Ayrıca bu enzim ekspresyonlarının genetik düzeydeki hasarlardan etkilenip etkilenmediğinin veya yapılacak diğer çalışmalarla genetik olarak kontrol edilip edilmediğinin açıklığa kavuşturulmasının gerekliliğinin önemini önermekteyiz. İmmünohistokimyasal düzeyde yaptığımız bu çalışmanın benzer çalışmaların sonuçları ile uyumu dikkat çekici olmuştur. Benzer çalışmaların sayısının artmasıyla birlikte gen düzeyinde benzer determinant parametrelerle yapılan çalışmaları destekleyerek moleküler yolun anlaşılmasının ve mutajenik ve polimorfik durumların belirlenmesinin ve kanserojen metabolizmasının anlaşılmasının çok önemli olduğu öngörülmüştür. Ülkemizde beyin tümörlerinin dağılımı ile beyin tümörlerinin genetik düzeyde ortaya koyulması ile ilgili sadece birkaç çalışma bildirilmiştir.

Özellikle epidemiyolojik veriler sunan çalışmaların sayısı oldukça sınırlıdır. Klinik verilere dayanan bu retrospektif çalışma, beyin tümörlerinin önemli epidemiyolojik özelliklerini ve uluslararası serilere kıyasla nasıl dağıldığını anlamaya yardımcı olur. Ancak bu veriler yalnızca tek merkezli istatistiklerdir ve diğer kurumlarla iş birliği bu tümörler hakkındaki bilgimizi artırmak için çok önemlidir. Ayrıca önemli hastalık ve ölüm oranlarına neden olan bu tümör grubunun nedenleri üzerine yapılan araştırmalar, klinik araştırmalar, hastalık önleme ve kontrol programlarının tahsisi ve planlanması için önemli bilgiler sağlamaktadır.





KAYNAKLAR

- [1] Üngüren, E. (2015). Beynin Nöroanatomik ve Nörokimsyal Yapısının Kişilik ve Davranış Üzerindeki Etkisi. *Journal of Alanya Faculty of Business/Alanya İisletme Fakültesi Dergisi*, 7(1).
- [2] Dünya Sağlık Örgütü (WHO), Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı, DünyaKanser Raporu 2020.
- [3] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global Cancerstatistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality World wide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2018;68 (6):394 -424.
- [4] T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Kanser Daire Başkanlığı <https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/kanser-istatistikleri/yillar/2017-turkiye-kanser-i-statistikleri.html> (Erişim tarihi. 16.05.2022).
- [5] Vural, N., Toksikoloji, A.Ü. Eczacılık Fakültesi Yayınları No: 73, 1996.
- [6] Kayaalp, S. O., Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi farmakoloji, 1. Cilt, Güneş Yayınevi, 1994.
- [7] Muller P.A.,Vousden K. H., 2014. Mutant P53 in Cancer: New functions and therapeutic opportunities, *Cancer cell*, 25(3),304-17.
- [8] Chee J.L.,Saidin S., Lane D. P., Leona S. M., Noll J.E., Neilsen P.M., Phua Y.T., Gabra H., Lim. T. M., 2013. Wild type and mutant p53 mediate cisplatin resistance through interaction and inhibition of active caspase 9 cell cycle,12-278-288.
- [9] Korkmaz, Ö., & Mahiroğlu, A. (2007). Beyin, bellek ve öğrenme. *Kastamonu Eğitim Dergisi*, 15(1), 93-104.
- [10] Sousa, D. A. (2001). *How the brain learns: A classroom teacher's guide*. Corwin Press.
- [11] Yapıcı, M. (2008). Beyin Temelli Öğrenme Açısından Öğretmen ve Ders. *Üniversite ve Toplum*, 8(2).
- [12] Wolfe, P. (2010). *Brain matters: Translating research into classroom practice*. ASCD.
- [13] D'Arcangelo, M. (2000). How Does the Brain Develop? A Conversation with Steven Petersen. *Educational leadership*, 58(3), 68-71.
- [14] Devanand, D. P. (2001). *The Memory Program* (1st Edition), John Wiley & Sons Inc., New York.
- [15] Avcı, D. E., & Yağbasan, R. (2008). Beyin Yarı Kürelerinin Baskın Olarak Kullanılmasına Yönelik Öğretim Stratejileri. *Gazi University Journal of Gazi Educational Faculty (GUJGEF)*, 28(2).

- [16] Ziyilan, T., & Murshid, K. A. (2000). Korteksin anatomik yapisi ve fonksiyonel alanlari. Genel Tip Derg, 10(2), 87-91.
- [17] Kolb, B., & Whishaw, I. Q. (1998). Brain plasticity and behavior. Annual review of psychology, 49(1), 43-64.
- [18] Sousa, D. (2000). How The Brain Learns. A Classroom Teacher's Guide.(Second Editon), Corwin Pres. INC., Californiya.
- [19] Kocabıyık, A., Al İbaşoğlu, H., Tomruk, N., & Alpay, N. (2006). Korpus kallosum agenezisi ve şizofreni: Bir olgu sunumu. Düşünen Adam: Psikiyatri ve Nörolojik Bilimler Dergisi, 19(2), 103-109.
- [20] Özen, N. E., & Rezaki, M. (2007). Prefrontal Korteks: bellek işlevi ve bunama ile ilişkisi. Türk Psikiyatri Dergisi, 18(3), 262-269.
- [21] Blumer, D., & Walker, A. E. (1975). The neural basis of sexual behavior. Psychiatric aspects of neurological disease. New York: Grune & Stratton, 199-217.
- [22] McKinney, P. C. (2004). Brain tumours: incidence, survival, and aetiology. Journal of Neurology Neurosurgery Psychiatry, 75, 12–17.
- [23] National Cancer Institute (NCI). (2002). Brain tumors. Erişim: 30.03.2020. <https://www.cancer.gov/types/brain>
- [24] Smeltzer, S. C., & Bare, B. G. (2005). Brunner&suddarth's textbook of medical surgical nursing. (10th Edition, pp.1970– 1977). USA: Lippincott Williams &Wilkins.
- [25] Armstrong, T. S., Cohen, M. Z., Eriksen, L. R., & Hickey, J. V. (2004). Symptom clusters in oncology patients and implications for symptom research in people with primary brain tumors. Journal of Nursing Scholarship, 36, 3, 197–206.
- [26] Hill, C. L., Nixon, C. S., Ruehmeier, J. L., & Wolf, L. M. (2002). Brain Tumors. Physical Therapy, 82, 5, 496–502.
- [27] Armstrong, T. S., & Gilbert, M. R. (2000). Metastatic brain tumors: diagnosis, treatment and nursing interventions. Clinical Journal of Oncology Nursing, 4, 5, 217–225.
- [28] Fitzsimmons, B., & Bohan, E. (2004). Common neurosurgical and neurological disorders. In P. G. Morton, D. Fontaine, C. M. Hudak, & B. M. Gallo (Ed.), Critical care nursing a holistic approach(8th ed., pp. 796–838), USA.
- [29] Boss, B. J., & Wilkerson, R. R. (2006). Concepts of neurologic dysfunction. In K. L. McKance, S. E. Huether (Ed.), Understanding pathophysiology (5th ed., pp. 491-546), Philadelphia: Mosby, Inc.
- [30] Smith, G. B., & Schnell, S. (2003). Nursingcare of patients with central nervous system disorders. In L. S. Williams, & P. D. Hopper (Ed.), Understanding medical surgical nursing (2th ed., pp. 849–851), Philadelphia: FA. DavisCompany.
- [31] National Brain Tumor Foundation (NBTF). (2007). The essential guide to brain tumors. Erişim: 30.03.2020. www.braintumor.org.

- [32] Doolittle, N. D. (2004). State of the science in brain tumor classification. *Seminars in Oncology Nursing*, 20, 4, 224–230.
- [33] Soffietti, R., Ruda, R., & Mutani, R. (2002). Management of brain metastases. *Journal of Neurology*, 249: 1357-1369.
- [34] Catt, S., Chalmers, A., & Fallowfield, L. (2008). Psycho social and supportive-care needs in high-grade glioma. *The Lancet Oncology*, 9, 884- 891.
- [35] Davies, E., & Higginson, I. J. (2003). Communication, information and Support for adults with malignant cerebral glioma: a systematic literature review. *Support Care Cancer*, 11, 21-29.
- [36] Janda, M., Eakin, E. G., Bailey, L., Walker, D., & Troy, K. (2006). Supportive care needs of people with brain tumours and their carers. *Support Care Cancer*, 14, 1094–1103.
- [37] Weitzner, M. A. (1999). Psycho social and neuropsychiatric aspects of patients with primary brain tumors. *Cancer Investigation*, 17, 4, 285-291.
- [38] Nixon, A., & Narayanasamy, A. (2010). The spiritual needs of neuro-oncology patients from patients' perspective. *Journal of Clinical Nursing*, 19: 2259–70.
- [39] De Angelis, L.M., Loeffler, J.S. & Mamelak A.N. (2008). *Cancer management handbook*. (11th edition). Erişim tarihi; 04.04.2020. <http://www.cancernetwork.com/display/article/10165/1406429>
- [40] Chandana, S. R., Movva, S., Arora, M., & Singh, T. (2008). Primary brain tumors in adults. *American Academy of Family Physicians*, 77, 10, 1423-1430.
- [41] Türk Nöroşürirji Derneği, 1985. Erişim tarihi; 04.04.2020 <https://www.turknorosirurji.org.tr/menu/68/beyin-tumoreri>
- [42] Pınarbaşı, H. (2002). Bir Türk popülasyonunda GSTM1 polimorfizmi ve akciğer kanseri ilişkisi, Doktora Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı, Sivas.
- [43] Murray K. R. (1996). Harper'ın Biyokimyası, Zenobiyotiklerin Metabolizması, S: 799-806, ISBN:975-953-1-1.
- [44] Ingelman-Sundberg, M. (2001). Genetic Variability in Susceptibility and Response to Toxicants, *Toxicol Lett.*, 120, no. 1-3 : 259-68.
- [45] Stanley, L. A. (2017). *Drug Metabolism. Pharmacognosy*, P.; 527–545. doi:10.1016/b978-0-12-802104-0.00027-5
- [46] Shehata, H. (2010). Drugs and drug therapy. *Basic Science in Obstetrics and Gynaecology*, 259–277. doi:10.1016/b978-0-443-10281-3.00016-6
- [47] Akhdar, H., Legendre, C., Aninat, C., & More, F. (2012). Anticancer Drug Metabolism: Chemotherapy Resistance and New Therapeutic Approaches. *Topics on Drug Metabolism*. doi:10.5772/30015

- [48] Stavrinou, P., Mavrogiorgou, M.-C., Polyzoidis, K., Kreft-Kerekes, V., Timmer, M., Marselos, M., & Pappas, P. (2015). Expression Profile of Genes Related to Drug Metabolism in Human Brain Tumors. *PLOS ONE*, 10(11), e0143285. doi:10.1371/journal.pone.0143285
- [49] Bouchardy C, Benhamou S, Jourenkova N, Dayer P, Hirvonen A. Metabolic genetic polymorphisms and susceptibility to lung cancer. *LungCancer*, 32: 109–112, 2001.
- [50] Wei Q, Spitz MR. The role of DNA repair capacity in susceptibility to lung cancer: A review. *Cancer and Metastasis Reviews*, 16: 295–307, 1997.
- [51] Vural, N., Toksikoloji, A.Ü. Eczacılık Fakültesi Yayınları No: 73, 2005
- [52] Klaassen, Curtis D.. Casarett & Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons, Ninth Edition. New York: McGraw-Hill Education, 2018.
- [53] Murray R.K., Mayes P.A., Granner D.K., Rodwell V.W., Harper'ın Biyokimyası, s; 811-817, Çev.: Menteş G., Ersöz B., Barış Kitabevi, İstanbul, 1990.
- [54] Zhao, Y ., Snel, C.A.W., Mulder, G.J., P. Ang, K.S. (1993). Localization of glutathione conjugation activities toward bromo sulfophthale in perfused rat liver: Studies with the multiple indicator dilution technique. *Drug Metab. Dispos.*, 21: 1070-1078.
- [55] Vermeulen, N.P.E. (1990). Analysis of mercapturic acids as a tool in biotransformation, biomonitoring and toxicological studies. 'Glutathione S-transferases and Drug Resistance' Taylor and Francis London, 1: 141-153.
- [56] Hayes, J.D., Pulford, D.J. (1995). The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, 30: 445-600.
- [57] Eaton, D.L., Bammler, T.K., Concise Review Of Glutathione S-Transferase And Their Significance To Toxicology. *Toxicological Sciences*, 49: 156-164, 1999.
- [58] Hayes J.D., Flanagan, J.U., Jowsey, I.R. Glutathione Transferases, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 45:51–88, 2005.
- [59] Gulick, A.M., Fahl, W.E. (1995). Mammalian glutathione S-transferase: regulation of an enzyme system to achieve chemotherapeutic efficacy. *Pharmacol Ther.*, 66: 237- 257.
- [60] Shen, H., Kauvar, L., Tew, K.D. (1997). Importance of glutathione and associated enzymes in drug response. *Oncol. Res.*, 9: 253-302.
- [61] Carmichael, J., Mitchell, J.B., Friedman, N., Gazdar, A.F., Russo, A. (1988). Glutathione and related enzyme activity in human lung cancer cell lines. *Br J Cancer*, 58: 437-440.
- [62] Yang, P., Yokomizo, A., Tazelaar, H.D., Marks, R.S., Lesnick, T.G., Miller, D.L., Sloon, J.A., Edell, E.S., Meyer, R.L., Jett, J., Liu, W. (2002). Genetic determinants of lung cancer short-term survival: the role of glutathione-related genes. *LungCancer*, 35: 221-229.

- [63] Eaton, D.L. and Bammler, T.K. (1999). Concise review of glutathione S-transferase and their significance to toxicology. *Toxicological Sciences*, 49: 156-164.
- [64] Blackburn, A.C., Woallat, E., Sutherland, G.R., Board, P.G. (1998). Characterization and chromosome location of the gene GSTZ1 encoding in human zeta class glutathione transferase and maleylace to acetate isomerase. *Cytogenet. Cell Genet.*, 83: 109-114.
- [65] Parl, F.P. (2005). Glutathione S-transferase genotypes and cancer risk. *CancerLetters*, 221: 123-129.
- [66] Strange, R.C., Spiteri, M.A., Ramachandran, S., Fryer, A.A. (2001). Glutathione S-transferase family of enzymes. *MutationRes.*, 482: 21-26.
- [67] Hançer F., Akciğer Kanserinde Metabolik Polimorfizmin (GSTP1 Ala114Val) İlaç Rezistansındaki Rolü, Ankara Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi. Ankara, 2006.
- [68] Levine A.J., Momand J., Finlay C. A. The p53 tumoursupressor gene, *xlature* 351, 453(1991).
- [69] Somasundaram K. Tumorsupressor p53: regulation and function, *Font. Biosci*, 5, 424(2000).
- [70] Klug W, M. Cummings. *Genetics: The p53 tumoursupressor gene*, 2000.
- [71] Lane D. P, Benchimol S. P53:Oncogene or anti oncogene *Genes Dev* 4, 1(1990).
- [72] Maity A., Mckenna W., Muschel R. J. The molecular basis for cell cycle delays following ionizing radiation: A review. *Radiother Oncol*, 31,1(1994).
- [73] Finlay C. Normal and malignant growth controlby p53.In: Benz CC,Liu ET, eds. *Oncogenes and tumor supressor genes in human malignancies*, Bostan: Academic Publishers,1993.
- [74] Chene P. Invitroanalisis of the dominant negative effectto p53 mutants, *J MoldBiol* 281, 205(1999).
- [75] Hayes J.D., Pulford D.J., *Crit Rev Biochem Mol Biol*. 1995, 30:445-600
- [76] T.R. Rebbeck, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 1997, 6:733-743
- [77] d'Errico A., Taioli E., Chen X., Vineis P., 1996, *Biomarkers*,1:149-173.
- [78] Pınarbaşı H., Silig Y., Gürel M., 2005, *Cancer Genet Cytogenet*, 156:144-149.
- [79] Zhong S., Wyllie A.H., Barnes D., Wolf C.R., Spurr N.K., 1993 *Carcinogenesis*; 14:1821-24
- [80] Shanly S.M., ChenevixT. G., Palmer J., Hayward N., 1995, *Carcinogenesis*; 16: 2003-2004.
- [81] Yu M.W.,GladekY. A, Chiamprasert S., Santella R.M., Liaw Y.F., Chen C.J., 1995, *Gastroenterology*; 109:1266-1273.
- [82] Bardakci F., Canbay E., Değerli N., Çoban L., Canbay E. I., 2003, *J Cell Mol Med Vol 7, No 3*: 307-312.
- [83] Lee M., Wrensch M., Miike R., 1997, *Cancer Causes Control*, 8:13-24.

- [84] Burch J.D., Craib K.J., Choi B.C., Miller A.B., Risch H.A., Howe G.R., 1987 J Natl Cancer Inst; 78:601-9
- [85] Farber E. Cellular biochemistry of the stepwise development of cancer with chemicals: G. H. A. Clowes memorial lecture. CancerRes. 1984; 44: 5463-74.
- [86] Idle J.R. Is environmental carcinogenesis modulated by host polymorphism? Mutat. Res.1991; 247(2): 259-66.
- [87] Pelkonen O., Nebert D.W. Metabolism of poly cyclicaromatic hydrocarbons: etiologic role in carcinogenesis. PharmacolRev. 1982; 34(2): 189-222.
- [88] Raunio H, Pelkonen O. In: Drugs, Diet and Disease, Mechanistic Approaches to Cancer, Ed: Ioannides C., Vol I, Ellis Horwood Ltd, New York, (1995), pp: 229-258.
- [89] Caldwell J. Conjugation reactions in foreign compound metabolism: definition, consequences and specific variations. DrugMetab. 1982; 13: 745-777.
- [90] Gezen M, Erman B., DNA Hasar Yanıtlarında p53 Tümör Baskılayıcı Proteinin Görevi. Erten Yurdağül G, editör. Kanser İmmünolojisi. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; 2018. p.17-23.
- [91] Chang, J.R., Ghafouri, M., Mukerjee, R., Bagashev, A., Chabrashvili, T., and Sawaya, B.E. (2012). Role of p53 in neuro degenerative diseases. Neurodegener. Dis. 9, 68–80.
- [92] Menendez, D., Shatz, M., and Resnick, M.A. (2013). Interactions between the tumor suppressor p53 and immune responses. Curr. Opin. Oncol. 25, 85–92. Poyurovsky, M.V., and Prives, C. (2010). P53 and aging: A fresh look at an old paradigm. Aging (Albany, N.Y.) 2, 380–382.
- [93] Beckman, G., Birgander, R., Sja lander, A., Saha, N., Holmberg, P.A., Kivela, A., and Beckman, L. (1994). Is p53 polymorphism maintained by natural selection? Hum. Hered. 44, 266–270.
- [94] Pim, D., and Banks, L. (2004). p53 polymorphic variants at codon 72 exert different effects on cell cycle progression. Int. J. Cancer 108, 196–199.
- [95] Kung, C.P., Khaku, S., Jennis, M., Zhou, Y., and Murphy, M.E. (2015). Identification of TRIML2, a novel p53 target, that enhances p53 SUMOylation and regulates the trans activation of proapoptotic genes. Mol. CancerRes. 13, 250–262.
- [96] Botelho CH, Magalhaes AV, Mello PA, Schmitt FC, Casulari LA: Expression of p53, Ki-67 and c-erb B2 in growth hormone and/or prolactin-secreting pituitary adenomas. Arq Neuropsiquiatr 64(1):60-66, 2006.
- [97] Girault, I., Lidereau, R., & Bièche, I. (2005). Trimodal GSTT1 and GSTM1 Genotyping Assay by Real-Time PCR. The International Journal of Biological Markers, 20(2), 81–86. <https://doi.org/10.1177/172460080502000201>

- [98] Ohmori, Y., Nomura, T., Fukushima, N., Takahashi, F., Iwaya, T., Koeda, K., Nishizuka, S. S., & Members of the Northern Japan Gastric Cancer Study Consortium (2019). Recurrence risk evaluation in T1N1M0/T2N0M0/T3N0M0 gastric cancer with TP53 codon 72 polymorphisms. *Journal of surgical oncology*, 120(7), 1154–1161. <https://doi.org/10.1002/jso.25718>
- [99] Oğuztüzün, S., Aydın M., Demirağ F., Yazıcı Ü, Özhavzalı M., Kılıç M., Işcan M., The Expression of GST Isoenzymes and p53 in Non-Small Cell Lung Cancer, *Folia Histochemica Et Cytobiologica* Vol. 48,1: 122-127, 2010.
- [100] Çetin, N . (2020). Santral Sinir Sistemi Tümörlerinin Histopatolojik Dağılımı ve İnsidansı: Tek Merkezin 10 yıllık Retrospektif Analizi . *Dicle Tıp Dergisi* , 47 (1) , 178-193 . DOI: 10.5798/dicletip.706130
- [101] Materljan E, Materljan B, Sepčić J, Tuskan-Mohar L, Zamolo G, Erman-Baldini I. Epidemiology of central nervous system tumors in Labin area, Croatia, 1974-2001. *Croat Med J*. 2004 Apr;45(2):206-12. PMID: 15103760.
- [102] Jafarzadeh N, Faal A, Izanloo A, Farrokhi F, Ziaolhagh R, et al. Epidemiology of Nervous System Tumors According to WHO 2007 Classification: A Report of 1,164 Cases from a Single Hospital, *Int J Cancer Manag*. 2018 ; 11(4):e11462. doi: 10.5812/ijcm.11462.
- [103] Hernández-Hernández A, Reyes-Moreno I, Gutiérrez-Aceves A, Guerrero-Juárez V, Santos-Zambrano J, López-Martínez M, Castro-Martínez E, Cacho-Díaz B, Méndez-Padilla JA, González-Aguilar A. Primary Tumors of the Central Nervous System. Clinical Experience at a Third Level Center. *Rev Invest Clin*. 2018;70(4):177-183. doi: 10.24875/RIC.18002399. PMID: 30067727.
- [104] Wiemels J, Wrensch M, Claus EB. Epidemiology and etiology of meningioma. *J Neurooncol*. 2010 Sep;99(3):307-14. doi: 10.1007/s11060-010-0386-3. Epub 2010 Sep 7. PMID: 20821343; PMCID: PMC2945461.
- [105] Nakamura H, Makino K, Yano S, Kuratsu J; Kumamoto Brain Tumor Research Group. Epidemiological study of primary intracranial tumors: a regional survey in Kumamoto prefecture in southern Japan--20-year study. *Int J Clin Oncol*. 2011 Aug;16(4):314-21. doi: 10.1007/s10147-010-0178-y. Epub 2011 Jan 18. PMID: 21240684.
- [106] Ostrom QT, Gittleman H, Truitt G, Boscia A, Kruchko C, Barnholtz-Sloan JS. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2011-2015. *Neuro Oncol*. 2018 Oct 1;20(suppl_4):iv1-iv86. doi: 10.1093/neuonc/noy131. PMID: 30445539; PMCID: PMC6129949.
- [107] Yücel B, Eren M, Atesever E, Kaçan T, Hasbek Z, Şeker M. Baş boyun kanserlerinde prognoz: Hasta ve tedaviyle ilişkili faktörlerin önemi. *Journal of Medical Updates* 2013, 3 (3) , 109-115 . DOI: 10.2399/jmu.2013003002.
- [108] Louis DN, Perry A, Reifenberger G, von Deimling A, Figarella-Branger D, Cavenee WK, Ohgaki H, Wiestler OD, Kleihues P, Ellison DW. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathol*. 2016 Jun;131(6):803-20. doi: 10.1007/s00401-016-1545-1. Epub 2016 May 9. PMID: 27157931.

- [109] Nibhoria S, Tiwana KK, Phutela R, Bajaj A, Chhabra S, Bansal S. Histopathological spectrum of central nervous system tumours: a single centre study of 100 cases. *Int J Sci Stud*. 2015;3:130–34.
- [110] Gavrilovic IT, Posner JB. Brain metastases: epidemiology and pathophysiology. *J Neurooncol*. 2005 Oct;75(1):5-14. doi: 10.1007/s11060-004-8093-6. PMID: 16215811.
- [111] Wesseling P, van den Bent M, Perry A. Oligodendroglioma: pathology, molecular mechanisms and markers. *Acta Neuropathol*. 2015;129(6):809-827. doi:10.1007/s00401-015-1424-1
- [112] Amatya VJ, Takeshima Y, Sugiyama K, Kurisu K, Nishisaka T, Fukuhara T, Inai K. Immunohistochemical study of Ki-67 (MIB-1), p53 protein, p21WAF1, and p27KIP1 expression in benign, atypical, and anaplastic meningiomas. *Hum Pathol*. 2001 Sep;32(9):970-5. doi: 10.1053/hupa.2001.27119. PMID: 11567227.
- [113] Yaziji H, Massarani-Wafai R, Gujrati M, Kuhns JG, Martin AW, Parker JC Jr. Role of p53 immunohistochemistry in differentiating reactive gliosis from malignant astrocytic lesions. *Am J Surg Pathol*. 1996 Sep;20(9):1086-90. doi: 10.1097/00000478-199609000-00006. PMID: 8764745.
- [114] Barh D, Carpi A, Verma M, Gunduz M. *Cancer Biomarkers: Minimal and Noninvasive Early Diagnosis and Prognosis 2014* (1st ed.). Boca Raton: CRC Press, Taylor and Francis Group; 2014. pp. 199–218. <https://doi.org/10.1201/b16389>
- [115] Parl FF. Glutathione S-transferase genotypes and cancer risk. *Cancer Lett*. 2005 Apr 28;221(2):123-9. doi: 10.1016/j.canlet.2004.06.016. PMID: 15808397.
- [116] Geng P, Li J, Wang N, Ou J, Xie G, Sa R, Liu C, Xiang L, Li H, Liang H. Genetic Contribution of Polymorphisms in Glutathione S-Transferases to Brain Tumor Risk. *Mol Neurobiol*. 2016 Apr;53(3):1730-1740. doi: 10.1007/s12035-015-9097-2. Epub 2015 Mar 4. PMID: 25735248.
- [117] Pinarbasi H, Silig Y, Gurelik M. Genetic polymorphisms of GSTs and their association with primary brain tumor incidence. *Cancer Genet Cytogenet*. 2005 Jan 15;156(2):144-9. doi: 10.1016/j.cancergencyto.2004.04.020. PMID: 15642394.
- [118] Mendrysa SM, Ghassemifar S, Malek R. p53 in the CNS: Perspectives on Development, Stem Cells, and Cancer. *Genes Cancer*. 2011 Apr;2(4):431-42. doi: 10.1177/1947601911409736. PMID: 21779511; PMCID: PMC3135640.
- [119] Takahashi R, Giannini C, Sarkaria JN, Schroeder M, Rogers J, Mastroeni D, Scrabble H. p53 isoform profiling in glioblastoma and injured brain. *Oncogene*. 2013 Jun 27;32(26):3165-74. doi: 10.1038/onc.2012.322. Epub 2012 Jul 23. PMID: 22824800; PMCID: PMC3904233.
- [120] Murray, G. I., Burke, M. D. (1995). Immunohistochemistry of drug-metabolizing enzymes. *Biochemical pharmacology*, 50(7), 895-903. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(95\)00136-N](https://doi.org/10.1016/0006-2952(95)00136-N).

- [121] Lark, A. L., Livasy, C. A., Calvo, B., Caskey, L., Moore, D. T., Yang, X., & Cance, W. G. (2003). Overexpression of focal adhesion kinase in primary colorectal carcinomas and colorectal liver metastases: immunohistochemistry and real-time PCR analyses. *Clinical Cancer Research*, 9(1), 215-222.
- [122] Hoshiya, T., Hasegawa, R., Hakoi, K., Cui, L., Ogiso, T., Cabral, R., & Ito, N. (1993). Enhancement by non-mutagenic pesticides of GST-P positive hepatic foci development initiated with diethylnitrosamine in the rat. *Cancer letters*, 72(1-2), 59-64. [https://doi.org/10.1016/0304-3835\(93\)90011-W](https://doi.org/10.1016/0304-3835(93)90011-W)
- [123] Nishimura, T., Newkirk, K., Sessions, R. B., Andrews, P. A., Trock, B. J., Rasmussen, A. A., Montgomery E. A., Bischoff E. K., Cullen, K. J. (1996). Immunohistochemical staining for glutathione S-transferase predicts response to platinum-based chemotherapy in head and neck cancer. *Clinical cancer research*, 2(11), 1859-1865.
- [124] Kural, C., Kaya Kocdogan, A., Şimşek, G. G., Oğuztüzün, S., Kaygın, P., Yılmaz, I., Bayram, T., & Izci, Y. (2019). Glutathione S-Transferases and Cytochrome P450 Enzyme Expression in Patients with Intracranial Tumors: Preliminary Report of 55 Patients. *Medical principles and practice : international journal of the Kuwait University, Health Science Centre*, 28(1), 56–62. <https://doi.org/10.1159/000494496>.
- [125] Sohn, S. W., Jung, J. W., Lee, S. Y., Kang, H. R., Park, H. W., Min, K. U., & Cho, S. H. (2013). Expression pattern of GSTP1 and GSTA1 in the pathogenesis of asthma. *Experimental lung research*, 39(4-5), 173-181. <https://doi.org/10.3109/01902148.2013.789572>
- [126] Huang, J., Tan, PH., Thiagarajan, J. et al. Prognostic Significance of Glutathione S-Transferase-Pi in Invasive Breast Cancer. *Mod Pathol* 16, 558–565 (2003). <https://doi.org/10.1097/01.MP.0000071842.83169.5A>
- [127] Yin, Z. L., Dahlstrom, J. E., Le Couteur, D. G., & Board, P. G. (2001). Immunohistochemistry of omega class glutathione S-transferase in human tissues. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 49(8), 983-987. <https://doi.org/10.1177/002215540104900806>
- [128] Backos, D. S., Franklin, C. C., & Reigan, P. (2012). The role of glutathione in brain tumor drug resistance. *Biochemical pharmacology*, 83(8), 1005-1012. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2011.11.016>
- [129] Harrison, D. J., Kharbanda, R., Bishop, D., McLelland, L. I., & Hayes, J. D. (1989). Glutathione S-transferase isoenzymes in human renal carcinoma demonstrated by immunohistochemistry. *Carcinogenesis*, 10(7), 1257-1260. <https://doi.org/10.1093/carcin/10.7.1257>
- [130] Mathieu, A., Rummelink, M., D'Haene, N., Penant, S., Gaussin, J.-F., Van Ginckel, R., Darro, F., Kiss, R. and Salmon, I. (2004). Development of a chemoresistant orthotopic human nonsmall cell lung carcinoma model in nude mice. *Cancer*, 101: 1908-1918. <https://doi.org/10.1002/cncr.20571>
- [131] Wahid, M., Mahjabeen, I., Baig, R. M., & Kayani, M. A. (2013). Expression of CYP1A1 and GSTP1 in human brain tumor tissues in Pakistan. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 14(12), 7187-7191. <https://doi.org/10.7314/APJCP.2013.14.12.7187>

- [132] Kakehashi, A., Inoue, M., Wei, M., Fukushima, S., & Wanibuchi, H. (2009). Cytokeratin 8/18 overexpression and complex formation as an indicator of GST-P positive foci transformation into hepatocellular carcinomas. *Toxicology and applied pharmacology*, 238(1), 71-79. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2009.04.018>
- [133] Rahilly, M., Carder, P. J., al Nafussi, A., & Harrison, D. J. (1991). Distribution of glutathione S-transferase isoenzymes in human ovary. *Journal of reproduction and fertility*, 93(2), 303–311. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0930303>
- [134] Nishimura, T., Newkirk, K., Sessions, R. B., Andrews, P. A., Trock, B. J., Rusmussen, A. A., Montgomery E. A., Bischoff E. K., Hanigan M. H., Cullen, K. J. (1998). Association between expression of glutathione-associated enzymes and response to platinum-based chemotherapy in head and neck cancer. *Chemico-biological interactions*, 111, 187-198. [https://doi.org/10.1016/S0009-2797\(97\)00161-0](https://doi.org/10.1016/S0009-2797(97)00161-0)
- [135] Cookson, M. S., Reuter, V. E., Linkov, I., Fair, W. R. (1997). Glutathione S-transferase PI (GST-pi) class expression by immunohistochemistry in benign and malignant prostate tissue. *The Journal of urology*, 157(2), 673-676. [https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(01\)65248-0](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(01)65248-0)
- [136] Gulubova, M., Vlaykova, T. (2010). Expression of the xenobiotic- and reactive oxygen species-detoxifying enzymes, GST-pi, Cu/Zn-SOD, and Mn-SOD in the endocrine cells of colorectal cancer. *International journal of colorectal disease*, 25(12), 1397–1405. <https://doi.org/10.1007/s00384-010-1041-3>
- [137] Calatozzolo, C., Gelati, M., Ciusani, E. et al. Expression of Drug Resistance Proteins Pgp, MRP1, MRP3, MRP5 AND GST- π in Human Glioma. *J Neurooncol* 74, 113–121 (2005). <https://doi.org/10.1007/s11060-004-6152-7>
- [138] Shang, W., Liu, WH., Zhao, XH. et al. Expressions of glutathione S-transferase alpha, mu, and pi in brains of medically intractable epileptic patients. *BMC Neurosci* 9, 67 (2008). <https://doi.org/10.1186/1471-2202-9-67>
- [139] Wang, B., Wang, W., Zhu, Z., Zhang, X., Tang, F., Wang, D., Liue, X., Yanc, L. X., Zhuang, H. (2017). Mitochondrial serine hydroxymethyltransferase 2 is a potential diagnostic and prognostic biomarker for human glioma. *Clinical Neurology and Neurosurgery*, 154, 28-33. <https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2017.01.005>
- [140] Ohmori, Y., Nomura, T., Fukushima, N., Takahashi, F., Iwaya, T., Koeda, K., Nishizuka, S. S., & Members of the Northern Japan Gastric Cancer Study Consortium (2019). Recurrence risk evaluation in T1N1M0/T2N0M0/T3N0M0 gastric cancer with TP53 codon 72 polymorphisms. *Journal of surgical oncology*, 120(7), 1154–1161. <https://doi.org/10.1002/jso.25718>.

- [141] Koushik, A., Ghosh, A., Duarte-Franco, E., Forest, P., Voyer, H., Matlashewski, G., Coutlée, F., Franco, E. L., & Biomarkers of Cervical Cancer Risk (BCCR) Study Team (2005). The p53 codon 72 polymorphism and risk of high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Cancer detection and prevention*, 29(4), 307–316. <https://doi.org/10.1016/j.cdp.2005.06.007>
- [142] Parhar, P., Ezer, R., Shao, Y., Allen, J. C., Miller, D. C., & Newcomb, E. W. (2005). Possible association of p53 codon 72 polymorphism with susceptibility to adult and pediatric high-grade astrocytomas. *Brain research. Molecular brain research*, 137(1-2), 98–103. <https://doi.org/10.1016/j.molbrainres.2005.02.016>
- [143] Shi, M., Huang, R., Pei, C., Jia, X., Jiang, C., & Ren, H. (2012). TP53 codon 72 polymorphism and glioma risk: a meta-analysis. *Oncology Letters*, 3(3), 599-606.
- [144] Sümbül, A. T., Akkız, H., Bayram, S., Bekar, A., Akgöllü, E., & Sandıkçı, M. (2012). p53 codon 72 polymorphism is associated with susceptibility to hepatocellular carcinoma in the Turkish population: a case-control study. *Molecular biology reports*, 39(2), 1639–1647. <https://doi.org/10.1007/s11033-011-0903-2>



EKLER

EK 1. Etik Kurul Onay Formu

	T.C. ANKARA VALİLİĞİ İL SAĞLIK MÜDÜRLÜĞÜ SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ Ankara Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Baştabipliği Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
Sayı : 2012-KAEK-15/1810 Konu: Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurul Kararı	27.02.2019
KEÇİÖREN EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ KLİNİK ARAŞTIRMA ETİK KURULU	
“Beyin Tümörü Dokularında GST-M1 , GST-T1 , p53 İzozimlerinin Rolü” adlı klinik araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına ve kurulumuz kararının başvuru sahibi tarafından Sağlık Bakanlığı'na arzına gerek olmadığına toplantıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.	
Op. Dr. Ömer Faruk TANER Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanı	
Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul Pınarbaşı Mahallesi Sanatoryum Cad. Ardahan Sokak No:25 Keçiören / ANKARA Web: www.akeah.gov.tr	

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Onur Dirican

Yabancı Dil : İngilizce

Eğitim Durumu

Lisans : Uludağ Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, 2008

Yüksek Lisans : Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, 2010

Araştırmacı olarak katılan klinik araştırmalar

Dirican O., Cakir S., *Vitis vinifera L. A Commonly Used Plant in Public Health: Effect Of Iba Applications On Rooting Metabolism of Vine Wood Cuttings Obtained From Different Regions* -FABAD J. Pharm. Sci., 42, 2, 95-102, 2017.

Aydin S, Demir M G, Oguztuzun S, Kilic M, Yilmaz C, **Dirican O.**, *Glutathione S-transferase enzyme activity and protein expression in patients with recurrent tonsillitis and idiopathic tonsillar hypertrophy*. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. 2019 Dec;163(4):349-354. doi: 10.5507/bp.2019.002. Epub 2019 Feb 12.

Hayat B, Yavuz M S, Sahin E, **Dirican O**, Sariatın S Y, Yılmaz C, Yıldırım.I, Çoban T, Şimşek G G, Oğuztüzün S., – The Role Of Glutathione-S-Transferase Mu1 And Teta1 Polymorphisms In Chronic Obstructive Pulmonary Disease. J. Fac. Pharm. Ankara, 45(1): 41-56, 2021. Doi: 10.33483/jfpau.839530.

Unsal A, Bulus H, **Dirican O**, Oguztuzun S, Ozturk D, Cihan M, Ada A O, Iscan M., Investigation of GSTM1 and GSTT1 Polymorphisms in Obesity Patients Under Bariatric Surgery.- FABAD J. Pharm. Sci., 46, 2, 139-146, 2021.

Cihan M., Bulus H., **Dirican O.**, Oguztuzun S., Ozturk D., Unsal A., Ada A. O., Iscan, M. *Association Between TP53 Gene Polymorphism and Obesity*. FABAD J. Pharm. Sci., 46, 3, 0-XX, 2021.

Dirican, O., Kaygin, P., Sarialtin, S.Y., Yilmaz, C., Ates, V., Simsek, G.G., Oguztuzun, S., Coban, T. & Izci, Y. (2021). *GST-Theta1 Enzyme Expression Levels in Brain Tumor and Their Relationship with the Clinical Data of the Patients*. International Journal of Nature and Life Sciences, 5 (2), 82-98. Doi: 10.47947/ijnls.1016468.

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında (proceedings) basılan bildiriler

Ada AO.,Kocdogan AK.,Oguztuzun S.,Simsek GG.,Kilic M.,Yilmaz I.,Kaygin P.,**Dirican O.**,Bulus H.,Isan M., *Expression Of GSTS1,GSTZ1 In Human Colon Tumor Tissues*. GPSS-2nd International Gazi Pharma Symposium Series-Ankara,Turkey,2017.

Cihan M., Bulus H., Oguztuzun S., **Dirican O.**, *The Role of P53 Gene polymorphism In Obesity Patients*. 21st National Surgical Congress-Antalya,Turkey,2018.

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında (proceedings) basılan bildiriler

Unsal A.,Cihan M.,Bulus H.,**Dirican O.**, Oguztuzun S.,Ada AO.,Gürbüz N.,Kaygin P.,Isan M., *The Role Of GSTM1 And GSTT1 Polymorphisms In Obese Patients.*, ISOPS-12th International Symposium On Pharmaceutical Sciences. Ankara,Turkey,2018.

Coban T.,Kaygin P.,Oguztuzun S.,Simsek GG.,Kocdogan AK.,Kilic M.,Bulus H.,**Dirican O.**, *Mitochondrial GST Kappa1 Isoenzyme Protein Expression In Bladder Cancer.*, ISOPS-12th International Symposium On Pharmaceutical Sciences. Ankara,Turkey,2018.

Kaygin P., Erdem A., Simsek GG., Oguztuzun S., Coban T., Barmaksız G., Hayat B., Kocdogan AK., Kilic M., **Dirican O.**, *Expression Of GST And P53 In Human Over Tumor And Non-Tumor Tissues.*, ISOPS-12th International Symposium On Pharmaceutical Sciences. Ankara,Turkey,2018.

Dirican O., Kaygin P, Oğuztüzün S, Erdem A, Simsek G, Sarialtin S Y, Çoban T., *Glutathione-S-transferase and p53 expressions in human malignant, benign and metastasis ovarian tumor tissues.*, EFI-33rd The European Federation for Immunogenetics (EFI) Conference. Lisbon,Portugal,2019.

Dirican O., Kaygin P, Oğuztüzün S, Simsek G, Hayat B, Sarialtin S Y, Çoban., *Immunocytochemical Evaluation of glutathione-S-transferase P1 enzyme in patients with rheumatoid arthritis.*, EFI-33rd The European Federation for Immunogenetics (EFI) Conference. Lisbon,Portugal,2019.

Barmaksız G, Kılıç M, Kaygin P, Erdem A, Simsek G G, Koçođan A K, **Dirican O.**, Sarialtin S Y, Oğuztüzün S., *Comparison Of GST-II And GST-M Expressions Between Benign, Malign, And Metastatic Ovarian Tumors*. 8th Multidisciplinary Cancer Research Congress. Online Congress,2021.

Dirican O., Kaygın P, Oğuztüzün S., Şimşek G., İzci Y., Kural C., Çoban T., Sarıaltın S. Y., Kul O., Yıldırım I.; *Beyin Tümörü Dokularında CYP1A1, CYP1B1, GST-M, GST-P ve MDR Proteinlerinin Rolü*. 1st International Multidisciplinary Cancer Research Congress, Dicle University, Diyarbakir, September 2019.

Durmaz D., Kaygın P., Erdem A., Simsek G.G., Sarıaltın S.Y., **Dirican O.**, Ateş V., Çoban T., Oğuztüzün S. (2021)., *Investigation Of Bcl-2, P38 And Caspase-3 Expressions In Ovarian Cancer*, 4th International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem 2021) November 24-26, 2021. ISBN : 978-625-00-9586-7

Kaygın P, Oğuztüzün S., Şimşek G., Özkan Ş., Sarıaltın S. Y., Koçdoğan A. K., **Dirican O.**, Çetin S., Atılı M.; *hBD-1 ve hBD-3 Antimikrobiyal Peptidlerinin Ürotelyal Kansere Dokularındaki Ekspresyonları*. 1st International Multidisciplinary Cancer Research Congress, Dicle University, Diyarbakir, September 2019.

Proje görevleri : Araştırmacı-Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Projeler Daire Başkanlığı (Proje no. 2019/178)

Katıldığı Sertifika Kurs, Konferans ve Kongre Programları :

- Türkiye Organ Nakli Kuruluşları Koordinasyon Derneği, Transplantasyon 2018 Kursu, 18-21 Ekim 2018, Trabzon/Türkiye.
- 7.Ulusal Transplantasyon İmmunolojisi ve Genetiği Derneği, "Laboratuvaradan Kliniğe Transplantasyon İmmunolojisi" kursu, 4-7 Nisan 2019, Bodrum/Türkiye.
- 13. EWIC Immunogenetics, 14-16 Mart 2019, Zagreb/Hırvatistan.
- 30. European Federation of Immunogenetics, 11-14 Mayıs 2016, Yunanistan.
- 32. European Federation of Immunogenetics, 9-12 Mayıs 2018, İtalya.
- 6. Ulusal Transplantasyon İmmunolojisi ve Genetiği Derneği, 6-9 Nisan 2017, Antalya/Türkiye.
- 1. International Multidisciplinary Cancer Research Congress, 18-22 Ekim 2019, Diyarbakır/Türkiye.
- 5. Uluslararası Gevher Nesibe Sağlık Bilimleri Kongresi, 24-25 Nisan 2020, Ankara/Türkiye.
- 8. International Multidisciplinary Cancer Research Congress, 16-17 Ocak 2021, İstanbul/Türkiye.
- Flex Map 3D-FSE.A.Eval-Classroom, 25 Mayıs 2018, Herthogenbosch/Hollanda.

-Single Antigen,LabScreen,High Resolution SSO and softwares Courses by One Lambda (Thermofisher Sci. Corp.), İstanbul University Capa Medicine School, 10 Ağustos 2015, İstanbul/Türkiye.

-Sequence analysis in Immunogenetics/Transplantation. One Lambda (Thermofisher Sci.), 27-29 Nisan 2016, Henningsdorf/Almanya.

-Middle East Global Training and Workshop-Immunogenetics Labs.&Applications, 5-8 Aralık 2017, Dubai/Bileşik Arap Emirlikleri.

-Roche Lightcycler 480 Real Time PCR Kursu-Elips, 26 Ağustos 2017- Ankara/Türkiye.

-Aminoacid Analyser (Aracus)-Rotakim, 15-18 Kasım 2013- Ankara/Türkiye.

-High Pressure Liquid Chromotography (HPLC-Shimadzu)-Rotakim, 20-24 Kasım 2013-Ankara/Türkiye.

-Atomic Absorbtion Spectrophotometer (Shimadzu)- Rotakim, 26-30 Kasım 2013- Ankara/Türkiye.

-Micro elisa ve Floresan Mikroskop Eğitimi- Algen, Şubat 2015- Ankara/Türkiye.

-Digital Droplet PCR (Bio-Rad)- GenERA, 8 Ocak 2020- Ankara/Türkiye.

-Klinik Destek Personeli- T.C. Sağlık Bakanlığı- 16 Ocak 2016- Ankara/Türkiye.

Üye Olduğu Dernek ve Kuruluşlar :

1. MOKAD (Moleküler Kanser Araştırma Derneği)
2. EARC (The European Association for Cancer Research)