

764076

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**AKCİĞER KANSERİNDE
METABOLİK POLİMORFİZMİN
İLAÇ REZİSTANSINDAKİ ROLÜ**

C. Semih KUNAK

FARMASÖTİK TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Mümtaz İŞCAN

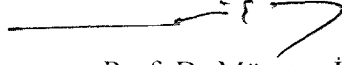
2005-ANKARA

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmasötik Toksikoloji Doktora Programı

Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 21 / 10 /2005



Prof. Dr. Mümtaz İşcan
Ankara Üniversitesi
Başkan



Prof. Dr. Asuman Karakaya
Ankara Üniversitesi



Prof. Dr. Sema Burgaz
Gazi Üniversitesi



Doç. Dr. Tülay Çoban
Ankara Üniversitesi



Doç. Dr. Sinan Süzen
Ankara Üniversitesi
Raportör

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	i
İçindekiler	ii
Önsöz	iv
Tablolar ve Şekiller	v
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Karsinogenezis	5
2.1.1. Kansere Neden Olan Ajanlar	8
2.2. Dünyada Ve Türkiye'de Kanser	9
2.2.1. Türkiye'de Kanser	10
2.3.1. Akciğer Kanseri Patolojisi	13
2.3.2. Akciğer Kanseriinde TNM Sınıflandırması	23
2.3.3. Evreleme	25
2.4.1. Akciğer Kanseriinde Kullanılan Kemoterapi Protokolleri	27
2.4.2. KHOAK'da Kullanılan Bazı Kemoterapötik Ajanlar	28
2.4.2.1. Vinka Alkaloidleri Ve Bitkisel Kaynaklı Diğer İlaçlar	28
2.4.2.1.1. Vinorelbin	29
2.4.2.1.2. Etopozid	30
2.4.2.1.3. Paklitaksel	31
2.4.2.1.4. Dosetaksel	31
2.4.2.1.5. Gempitabin	32
2.4.2.2. Platin Bazlı İlaçlar	32
2.4.2.2.1. Carboplatin	33
2.4.2.2.2. Cisplatin	35
2.5. Genetikle İlgili Bazı Kavramlar	39
2.6. Glutasyon s-transferazlar	40
2.6.1. GST'lerin Sınıflandırılması	40
2.7. İlaç Rezistansı	46
2.7.1. Cisplatin Rezistans Mekanizması	46
2.8. GST'lerin Platin Bileşiklerine Karşı Rezistansı Üzerine Yapılan Çalışmalar	46
3. GEREÇ ve YÖNTEM	51
3.1. Kullanılan Gereçler	51
3.1.1. Kullanılan Kimyasallar Ve Malzemeler	51
3.1.2. Kullanılan Cihazlar	51
3.2. Kullanılan Yöntemler	52
3.2.1. Deney Kurgusu	52
3.2.1.1. Hastalar	52
3.2.1.2. Kemoterapi Protokolleri	61
3.2.1.3. DSÖ Kriterleri (Akciğer Kanseri Radyolojik Değerlendirme)	62
3.2.2.1. DNA İzolasyonu	62
3.2.2.2. DNA Safılık Ve Miktar Tayini	63
3.2.3. Genotiplerin Belirlenmesi	64
3.2.3.1. GSTM1 Ve GSTT1 Genotiplerinin Belirlenmesi	64

3.2.3.2. GSTP1 <i>İle105Val</i> Mutasyonunun Belirlenmesi	65
3.2.4. Kullanılan İstatistiksel Yöntem	66
4. BULGULAR	67
4.1. Hasta Özellikleri	67
4.2. Genotip Bulguları	71
4.2.1. GSTM1 Genotip Bulguları	71
4.2.2. GSTT1 Genotip Bulguları	72
4.2.3. GSTP1 <i>İle105val</i> Genotip Bulguları	72
4.3. GST Genotiplerinin Kemoterapi Yanıtıyla İlişkisi	73
4.4. Kanserın Evresi İle GST Genotipi ve Kemoterapi Yanıtı İlişkisi	76
4.5. GST Genotiplerinin Kemoterapi Yanıtı ve Sağkalım ile İlişkisi	77
5. TARTIŞMA	82
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	88
ÖZET	89
SUMMARY	90
KAYNAKLAR	91
ÖZGEÇMİŞ	100

ÖNSÖZ

Çok değerli Hocam Prof.Dr. Mümtaz İşcan, doktora çalışmamın en başından bu yana hep destek oldu. Görevim nedeniyle bürokrasi çarkının içinde kaybolduğum zamanlarda elimden tuttu, beni motive etti. Bu tezin ortaya çıkması için gerekli her türlü laboratuvar şartlarını onun sayesinde hazır buldum. Bana verdiği emek için en derin şükranlarımı sunarım.

Eğer Prof. Dr. Asuman Karakaya'nın düzeyli ve sevecen tavrı ile karşılaşmamış olsa idim, belki de toksikoloji doktorası için bu anabilim dalına başvuramazdım.

Yetişmemde emeği geçen hocalarımdan emekli anabilim dalı başkanımız Prof.Dr. Nevin Vural'a teşekkürlerimi sunarım.

Doç.Dr. Sinan Süzen gündüz ki desteğinin yanında, bazen gece saatlerine sarkan ve laboratuvar da yalnız kaldığım zamanlarda, çalışmanın zorlanabileceğim her anında, nazik ve sıcak tarzı ile bir telefon mesafesinde güvенеceğim isim oldu.

Dr. Ecz. Ahmet Oğuz Ada'ya laboratuvar çalışmalarında verdiği destekten dolayı teşekkür ederim.

Çalışmanın klinik ayağında Atatürk Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nden eski Başhekim Doç.Dr. Bahar Kurt ile Doç.Dr. Meral Gülhan ve Uz.Dr. Sibel Alpar'a katkılarından ötürü teşekkürlerimi sunarım.

İnsanca, kaliteli ve demokratik bir ortamda eğitim almamı sağlayan bütün hocalarıma teşekkürü borç bilirim.

Bu günlere gelmemi sağlayan annem ve babamın hakkını ödeyemem. Bu çalışma için birçok fedakarlıklar yapan ve beni yüreklendiren eşim Mürüvvet Kunak'a teşekkür ederim.

Tez çalışmam sırasında dünyaya gelen ve bana hayatın en büyük armağanlarından, kızlarım Zeynep ve Gökçe'yi de sevgi ile anmak isterim.

ÇİZELGELER

Çizelge 2.1. Kanser başlama ve gelişme evrelerinin karşılaştırmalı özellikleri	7
Çizelge 2.2. Karsinogenik ajanların genel sınıflandırılması	8
Çizelge 2.3. İnsanlarda bilinen ve şüphe edilen promoter-geliştirici etkenler	9
Çizelge 2.4. ABD’de en sık görülen on kanser türü	10
Çizelge 2.5. Türkiye’de en sık görülen on kanser türü	11
Çizelge 2.6. Türk Toraks Derneğinin araştırma bulguları	12
Çizelge 2.7. Bronkojenik karsinomanın histolojik sınıflaması ve yaklaşık insidansları	17
Çizelge 2.8. Akciğer ve plevra tümörleri 1999 WHO/IASLC klasifikasyonu	18
Çizelge 2.9. TNM sisteminde evreleme	26
Çizelge 2.10. GST’lerin sınıflandırılması	43
Çizelge 2.11. GST izozimlerinin polimorfik özellikleri ve substratları	45
Çizelge 4.1. Hastaların Cinsiyet, Histoloji ve Evre Dağılımı	67
Çizelge 4.2. Küçük Hücreli Olmayan Akciğer Kanseri Hastalarının Özellikleri	68
Çizelge 4.3. Tekli GST Genotip Durumuna Göre Kemoterapide Alınan Yanıtlar	74
Çizelge 4.4. İkili GST Genotip Kombinasyonlarına Göre Kemoterapide Alınan Yanıtlar	75
Çizelge 4.5. Üçlü GST Genotip Kombinasyonlarına Göre Kemoterapide Alınan Yanıtlar	76
Çizelge 4.6. Hastalık Evrelerine Göre GST Tiplerinin Yanıt Durumu	77
Çizelge 4.7. GST Genotiplerinin Sağkalım Süresine Etkileri	79
Çizelge 4.8. GST Genotiplerinin Sağkalım Durumları İle İlişkisi	80
Çizelge 4.9. Kemoterapiye Yanıtın GST Genotipi ve Sağkalım Süresiyle İlişkisi	81

ŞEKİLLER

Şekil 4.1. GSTM1 ve GSTT1 genotiplerine ait jel elektroforez sonucu	71
Şekil 4.2. GSTP1 <i>Ile105Val</i> genotipine ait jel elektroforez sonucu	72

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Akciğer kanseri, özellikle erkeklerde Türkiye’de ve dünyada görülen en sık kanser türlerinden olup ülkemizde kanserden ölümlerde birinci sırada yer almaktadır. Akciğer kanserli hastaların üçte ikisi ameliyat edilemeyen lezyonlara sahiptirler. Bu hastalara en ağır kemoterapi uygulansa dahi önemli bir kısmı bir yıl içinde ölmektedir. Özellikle kanser olgularının % 80-85’ini oluşturan küçük hücreli olmayan akciğer kanserli hastalarda kemoterapiye yanıt % 30-50 gibi çok düşük düzeydedir (Bai ve ark., 1995; Giovino, 2002; Rosell ve ark., 2004). Bu nedenle bu tip hastalarda kemoterapinin başarılı olmamasının nedenlerinin araştırılması son derece önemlidir.

Bu bağlamda son zamanlarda ilaç rezistansı mekanizmaları üzerindeki çalışmalar oldukça yoğunluk kazanmış ve kanser hücrelerinin kemorezistansında çeşitli faktörlerin rol oynadığı saptanmıştır. Bunlar arasında glutatyon S-transferazlar (GST) ler önemli faktörlerden birisidir (Clapper ve ark., 1987; Wolf ve ark., 1987; Oguri ve ark.,2000). GST’ler II. Faz reaksiyonlarını katalizleyen dimerik yapıda bir süper aile olup hücrel savunma sisteminde önemli rol oynarlar. GST’ler toksik ve karsinogenik elektrofilik moleküllerin glutatyon ile konjugasyonunu katalizleyerek hücrel makromolekülleri hasarlardan korurlar (Boyer ve Kenney, 1985). Artan veriler GST’lerin çeşitli kemoterapötik ilaçların sitotoksik etkisini belirlediğini göstermektedir (Nakagawa ve ark., 1988, Hoban ve ark., 1992) GST’lerin 6 alt ailesi vardır. Bunlar GST Alfa GSTA, Pi GSTP, Mu GSTM, Teta GSTT, Sigma GSTS ve Zeta GSTZ ‘dır (Board ve ark., 1997). GSTP1 insan akciğerinde en fazla ekspres edilen izozimdir. GSTM1 ve GSTT1 izozimleri de daha az olmak üzere akciğerde ekspres edilmektedirler (Anttila ve ark., 1993; Cantlay ve ark., 1994). GSTP1’in küçük hücreli olmayan akciğer tümörlerinde en fazla

ekspres edilen GST olduğu da bildirilmektedir (Howie ve ark., 1990). İlaç rezistansı gösteren tümörlerin GSTP1 düzeylerinin yüksek olduğu saptanmıştır (Tuschida ve Sato, 1992). Bunlar arasında özellikle küçük hücreli olmayan akciğer tümörleri dikkati çekmektedir. (Hida ve ark. 1993, Bai ve ark., 1996; Arai ve ark., 2000, Oguri ve ark., 2000) Özellikle platin bileşiklerinin detoksifikasyonuna GSTP1'in doğrudan katılmakta olduğu ve platin bileşiklerine karşı gelişen gerek intrinsik ve gerekse kazanılmış rezistansta önemli rol oynadığı ileri sürülmektedir (Ban ve ark., 1996; Goto ve ark., 1999). Ancak platin rezistansının GSTP1 'e bağlı olmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (Miyara ve ark., 1996; Unsal ve ark., 2003). Benzeri çelişkili sonuçlar over kanserleri için de bildirilmektedir (Hamaga ve ark., 1994; van der Zee ve ark., 1995). GSTP1 ekspresyonu ile platin bileşiklerine karşı rezistans arasındaki ilişkinin her zaman gösterilememesinin nedenlerinden biri ve önemlisi GSTP1 geninin polimorfik oluşu olabilir. GSTP1 geninin polimorfik olduğu bilinmektedir. GSTP1 genindeki 2 mutasyondan birinde (İle 105 Val) 313. pozisyonda tek nükleotidin yer değıştirmesi (A-G) sonucunda izolösin yerini valine bırakmakta ve enzim aktivitesi düşmektedir (Watson ve ark., 1998). Heterozigotlarda ise enzim aktivitesi orta düzeyde kalmaktadır.

Ayrıca GSTM1 ve GSTT1'in de akciğer dahil birçok kanserlerin oluşumunda ve tedaviye yanıtta etkili olabileceğı bildirilmektedir (Hengster ve ark., 1998; Stucker ve ark., 2002; Sorensen ve ark., 2004). GSTM1 ve GSTT1 genleri de polimorfik olup bu genlerin eksikliği enzim aktivitelerinin yokluğuna neden olmaktadır (London ve ark., 2000).

Polimorfik olan bu GST'lerin aktivitelerinin düşüşü ve yokluğu platin bileşiklerinin detoksifikasyonlarını yavaşlatacağından bu bileşiklerin sitotoksik etkilerinin ve sonuçta tedavi etkinliklerini

güçlendirerek hastanın ilaca yanıtını arttırabilecektir. Bunun sonucunda sağkalım süresi de uzayabilecektir. Nitekim son zamanlarda akciğer kanserli hastalarda GST polimorfizmleri ile sağkalım süreleri arasında ilişkiyi irdeleyen çalışmalar başlamıştır. Ancak bu çalışmalar da alınan sonuçlar çelişkilidir. Goto ve ark. ları (1996) ile Przygodzki ve ark.'ları (1998) küçük hücreli olmayan akciğer kanserli hastalarda GSTM1 polimorfizminin sağkalım süresini etkilemediğini saptarken Ge ve ark.'ları (1996) GSTM1- genotipine sahip hastaların sağkalım sürelerinin GSTM1+ olanlara göre daha yüksek olduğunu saptamışlardır.

Benzer hasta grubunda Yang ve ark.'ları (2002) ile Sweeneey ve ark'ları (2003) GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 polimorfizmleri ile sağkalım süreleri aralarındaki ilişkiyi irdelediklerinde ilk grup GSTM1 polimorfizmin etkisini gözlemezken ikinci grup GSTM1- genotipine sahip hastaların sağkalım süresinin GSTM1+ genotipine sahip olanlardan daha düşük olduğunu belirlemiştir. Her iki grup diğer polimorfizmlerin sağkalım ile ilişkisini görememişlerdir.

Diğer taraftan meme (Sweeney ve ark., 2000), lösemi (Alan ve ark., 2001) ve kolon (Stoehlmacher ve ark., 2002) kanserlerinde GSTP1 Val/Val homozigot mutant genine sahip hastaların kemoterapiye karşı sağkalım sürelerinin yabanıl Ile/Ile genine sahip olanlardan daha uzun oldukları gösterilmiştir. Akciğer kanserleri ile yapılan çalışmaların kurgularındaki farklılıklar (örneğin kemoterapi rejimi ve hasta sayıları gibi) alınan sonuçları da farklılaştırmış olabilir. Ayrıca bu çalışmalar da kemoterapi almış hastaların ilaç rejimleri olmayıp kemoterapiye karşı alınan yanıtları da saptanmamıştır.

Bu GST'lerin polimorfik oluşlarının tek başlarına veya birlikte özellikle küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde platin bazlı yapılan kemoterapiye karşı alınan yanıtlarla ilişkileri ve bunlarla sağkalım süreleri arasında ilişkinin olup olmadığının henüz araştırılmadığı

gözlenmektedir.. Bu konunun aydınlatılması ile bu tip akciğer kanserinde platin bazlı kemoterapiye yanıtta bu polimorfik genlerin katkılarının olup olmadıkları ortaya konularak kemoterapiye yanıtta marker olarak kullanılabilirlikleri ve sonuçta bireysel bazda etkili tedavi için farklı kemoterapi rejimlerinin uygulanmasına olanak sağlayabilmeleri açısından son derece önemlidir.

Dolayısıyla bu çalışmada platin bazlı tedavi gören küçük hücreli olmayan akciğer kanserli hastaların GSTM1 , GSP1 ve GSTT1 gen polimorfizmleri, kemoterapiye karşı yanıtları ve sağkalım süreleri saptanarak bu GST polimorfizmlerinin tedavi ve sağkalım süreleri üzerine etkilerinin olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.



2.GENEL BİLGİLER

2.1. Karsinogenezis

Kanser, hücrelerin kontrolsüz, aşırı ve istilacı bir şekilde patolojik proliferasyonudur. Kontrolsüz bir biçimde çoğalmaya başlayan hücreler bulundukları yerdeki doku ve organları ve hatta daha uzaktaki organlara ulaşarak bu bölgelerin görevlerini engelleyebilmektedir. Karsinogenezisin mekanizmasının anlaşılabilmesi için yapılan çalışmalar, tümörün tek hücreden başladığını, dolayısı ile klonal orijinli olduğunu ve tümörün gelişimi için çok uzun sessiz bir dönem gerektiğini ortaya koymuştur. Gözlemler kimyasal karsinogenezisin çok aşamalı bir olay olduğunu göstermektedir. Fare derisi tümör modellerinde yapılan çalışmalarda karsinogenezis initiation (başlama), promotion (gelişme) ve progression (ilerleme) olmak üzere üç aşamaya ayrılmıştır .

Başlama aşaması hücrede kalıcı değişikliklerin olduğu dönemdir. Gelişme ve ilerleme aşamasında ise kanser başlamış olan hücrede malign transformasyon olmaktadır. Kanser olayının başlaması için karsinojen maddenin tek dozuna kısa süreli maruziyet yeterli olmaktadır. Bu geri dönüşümsüz bir basamak olarak görünmekte ve hedef hücrede mutasyon, translokasyon veya amplifikasyon ile sonuçlanmaktadır.

Gelişme aşamasında kimyasal veya diğer faktörlerle kanser başlamış olan hücrede klonal proliferasyon ve seleksiyon olmaktadır(Çoban, 1994). Başlama evresinden farklı olarak büyük bir latent periyodu kapsar. Kısmen geri dönüşümsüzdür ve belli antikarsinojenler ile önlenabilir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda

gelişme evresinin de konversiyon ve propagasyon olarak iki alt gruba ayrılabilceğini göstermiştir (Çoban, 1994). Konversiyon aşamasında kanser başlamış olan hücrede değişme başlamıştır. Propagasyon aşamasında hücrenin normal hücreden daha fazla proliferasyon üstünlüğü olduğu belirtilmiştir. Başlama ve gelişme evrelerinin farklı özellikleri Çizelge 2.1.'de gösterilmektedir. Son basamak olan ilerleme aşamasında benign lezyonlardan malign lezyonlara geçişin artması ve hızla gelişen neoplazmalar görülür. Bu basamakta hücre kontrolsüz olarak çoğalmakta ve savunma mekanizmasının zayıflamasıyla baskın fenotipik özellikler gelişmektedir. Bu çok aşamalı model akciğer, meme, karaciğer, pankreas, özafagus, mide, kolon kanserleri ve kültür hücrelerinde de görülmektedir.

Karsinojenik kimyasal maddeler veya virüsler bu üç evreden birini veya tümünü etkileyerek kanser gelişmesine neden olurlar (Çoban, 1994).

Çizelge 2.1. Başlama ve gelişme evrelerinin karşılaştırmalı özellikleri

(Hossfeld ve Sherman, 1992)

	Başlama	Gelişme
Olay	Mutasyon	Gen ekspresyonunun değişmesi
Dönüşümlülük	Dönüşümsüz	Dönüşümlü
Oluşum süresi	Hızlı	Uzamış
Basamak sayısı	Tek	Çoklu
Limit değer	Yoktur	Vardır
İnsanın karşılaşma olasılığı	Çoğunlukla kaçınılmaz	Değişken
Etkilenilebilirlik	Var	Yok
Gözlenebilirlik	Genellikle Tanımlanamaz	Doğrudan gözlenir

2.1.1 Kansere neden olan ajanlar

Normal bir hücrenin tümör hücresine dönüşmesine yol açan nedenlere tam açıklık getirilememiş olmakla birlikte yoğun olarak yürütülen çalışmalarda son yıllarda bazı bilgiler edinilmiştir. Deney hayvanlarına uygulandığında tümörlerin oluşumuna yol açan ajanlar ve bunların sınıflandırılması Çizelge 2.2.'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.2. Karsinojenik ajanların genel sınıflandırılması
(Hossfeld ve Sherman, 1992).

Sınıf	Örnekler
I. Kimyasal	Polisiklik hidrokarbonlar, aromatik aminler, azo bileşikleri, diyet,hormonlar, metaller, ilaçlar, alkol
II. Fiziksel	Güneş ışını ve ultraviyole, iyonizan radyasyon
III.Biyolojik	Virüsler(Retrovirüs,Hepadna virüs, Papilloma virüs, Herpes virüs)
IV. Genetik	DNA dizi polimorfizmi, onkojenler

İnsanlarda karsinogeneziste rolü olduğu bilinen ve şüphe edilen promoter-geliştirici faktörler ise Çizelge 2.3'te verilmiştir (Hossfeld ve Sherman, 1992).

Çizelge 2.3. İnsanlarda bilinen ve şüphe edilen promoter-geliştirici etkenler

Etken	İlgili insan kanserleri
Sigara içimi	Akciğer, mesane
Yüksek kalorili diyet	Tüm kanserler
Diyetteki yağlar	Prostat, kolon, uterus, meme
Asbestoz	Akciğer, uterus, meme
Alkol	Ağız, farenks, özefagus, karaciğer

2.2. Dünyada ve Türkiye’de kanser

Kanser hem gelişmiş hem gelişmekte olan ülkelerin ciddi bir sağlık problemi olarak karşımızdadır. Az gelişmiş ülkelere çocukluk çağı kanserleri ön plandayken gelişmiş ülkelere örneğin kolon kanserleri gibi kanserler diğerlerine göre daha fazladır. Bunda fast-food tipi beslenme alışkanlıklarının etkili olduğu ileri sürülmektedir. Ancak görünen odur ki; ne tür olduğu değişmekle birlikte dünya yüzünde her toplumun ortak sorunlarından birisi kanserdir. Çizelge 2.4.’te A.B.D.’nde en sık görülen on kanser sıralaması verilmiştir.

Çizelge 2.4.. ABD’de En Sık Görülen On Kanser Türü (Yüzbinde)
(Lawrence, 1998)

	Erkek	Oran	Kadın	Oran
1	Prostat	187	Meme	111
2	Akciğer	81	Akciğer	43
3	Kolorektal	56	Kolorektal	39
4	Mesane	29	Uterus	30
5	Lenfoma	22	Over	15
6	Oropharyngeal	16	Lenfoma	15
7	Melanom	15	Melanom	10
8	Böbrek	13	Pankreas	8
9	Lösemi	13	Mesane	8
10	Mide	11	Böbrek	8

2.2.1. Türkiye’de Kanser

Ülkemizdeki kanser istatistiklerinin çok sağlıklı olduğu söylenememektedir. Ancak gerçek kanser vakası sayısının resmi kayıtlara yansıyan rakamların çok üzerinde olduğu düşünülmektedir. Yine de Sağlık Bakanlığı Kanser Savaş Daire Başkanlığı’nın yaptığı çalışmalar bir fikir vermektedir. Bu kurum son yıllarda kanser kayıtçılığı üzerinde geçmişe oranla daha çok çaba sarfetmektedir. Bu çabaların sonuçları ise önümüzdeki yıllara görülecektir. Söz konusu kurumun 1999 rakamları Çizelge 2.5.’te verilmiştir.

Çizelge 2.5. Türkiye’de En Sık Görülen On Kanser Türü (1999)

Organlar	Olgu Sayısı	Yüzde	İnsidans (Yüzbinde)
Akciğer	5111	19.70	7.76
Meme	2451	9.45	3.72
Mide	2008	7.74	3.05
Deri	1488	5.74	2.26
Mesane	1336	5.15	2.03
Kalın Barsak	977	3.77	1.48
Larinks	376	3.76	1.48
Kemik İliği	364	3.72	1.46
Beyin	894	3.45	1.36
Prostat	836	3.22	1.27
Diğer	8901	34.31	13.52
Toplam	25942	100.00	39.41

Çizelgedeki rakamlar göstermektedir ki tüm kanser rakamları içinde akciğer kanserleri hem ilk sırayı almakta hem de diğer organ kanserlerinden en az 2 kat fazlalık göstermektedir.

Türk Toraks Derneği tarafından Ocak 1994-Aralık 1998 arasında 16 merkezden 11849 akciğer kanserli olgu üzerinde retrospektif olarak yapılan araştırma bulguları Çizelge 2.6.’da verilmiştir.

Çizelge 2.6. Türk Toraks Derneği araştırma bulguları

CİNSİYET	%
Erkek	90.4
Kadın	9.6
SİGARA ÖYKÜSÜ	
Sigara içen	77.2
Sigarayı Bırakmış	10.8
YAŞ	
25 Yaşından Küçük	0.3
26-45 Yaş	11.4
46-65 Yaş	56.7
65 Yaşından Büyük	31.6
HÜCRE TİPİ	
Epidermoid Ca	39.2
Küçük Hücreli Ca	17.8
Adeno Ca	17.5
Büyük Hücreli Ca	1.7
Bilinmeyen	7.8
HASTALIK EVRESİ	
Küçük Hücreli Dışı Akciğer Ca	
Evre I	5.6
Evre II	7.7
Evre III A	14.1
Evre III B	32.1
Evre IV	40.4
Küçük Hücreli Akciğer Ca	
Sınırlı Evre	37.9
Yaygın Evre	62.7

Bütün bu tablolar ve veriler göstermektedir ki akciğer kanseri, ülkemizde en ciddi sağlık sorunlarından birisidir. Bu soruna neden olan dış faktörler bilinmekle beraber bu konunun moleküler düzeyde araştırmaları daha detaylı olarak yapılmak durumundadır.

2.3.1 Akciğer Kanseri Patolojisi

Değişik tipteki akciğer kanserleri, bir çok özelliği paylaşırlar. Ana bronşların döşeyici epitelinden çıkarlar ve akciğerin hilusunu kapatırlar. Bütün tipler sigara içimi ile beraberdir, squamöz ve küçük hücreli karsinomlar ile daha sıkı bir ilişki vardır. Hepsi agresif, lokal olarak invaziv ve metastaz yapabilen neoplazmlardır (özellikle KHAK), karaciğer, adrenaller, beyin, kemikler ve hemen her organa metastaz yapabilirler. Bütün tipleri, özellikle de KHAK, bioaktif maddeler sentez edebilir ve paraneoplastik sendrom ortaya çıkabilir.

Bu tümörler mukozada küçük bir lezyon olarak başlar, gri-beyaz renktedir ve çeşitli büyüme modellerinden birini izler. Intraluminal bir kitle yapabilir, bronşial mukozayı invaze edebilir, peribronşial bağ dokusunu longitudinal olarak infiltre edebilir veya büyük hacimli bir kitle yaparak etraf parankimini iter. Bazılarının orta kısmındaki nekroz nedeni ile kavite açılır, yer yer hemoraji odakları görülür. Sonuçta bu kitleler plevraya uzanır, plevral kaviteyi, göğüs duvarını ve buna komşu yapıları invaze eder. Lenfatikler ve kan damarları yolu ile uzak metastazlar gelişir.

Skuamöz hücreli karsinoma: Erkeklerde daha sık görülür, büyük bronşların santralinden çıkmaya meyillidir, lokal hiler lenf nodlarına kolay yayılır fakat toraks dışına diğer akciğer tümörlerinde olduğundan

daha geç yayılır. Skuamöz cell karsinoma hakkında bilinenler diğer tiplerden daha fazladır. Skuamöz karsinoma, bronş epitelinde yıllar önce başlayan bir metaplazi veya displaziye izleyen in-situ karsinomdan sonra ortaya çıkar. Mukozada 1-2 cm çapında, kalınlaşma ve irregüler nodül şeklinde kabarıklık yavaş yavaş gelişir. Bu durumda henüz klinik ve radyolojik bir bulgu olamadığı halde; balgamda bronş yıkama ve fırça ile alınan materyalde atipik epitel hücreleri görülür. Tümör kısa zamanda bronş lümenini kapatacak bir kitle oluşturur, distal kısımda da atelektazi ve enfeksiyona neden olur. Aynı zamanda tümör akciğere ait yapıları da invaze eder .

Histolojik olarak, bu tümörler, keratin inciler (pearl) ve intersellüler köprüler oluşturan iyi diferansiye tipten, minimal bir skuamöz özelliği olan indiferansiye tipe kadar değişen çeşitlerdedir. Skuamöz hücreli karsinomlar, metastaz yapmadan önce büyük ve bronşları tıkayan semptomatik kitle yaptıklarından diğer tiplere göre hafifçe daha iyi prognoza sahiptir. Bunun için tanı konduğu zaman cerrahi olarak çıkarılabilir durumdadır.

Adenokarsinomlar: Erkek ve kadında görülme sıklığı eşit olup sigara ile ilişkisi skuamöz karsinomlara göre daha zayıftır. Skuamöz karsinom gibi santral lokalizasyonlu olabilmesine karşın çoğunlukla periferik yerleşimlidir. Periferik akciğer skarları ile ilgili olarak ortaya çıkar. Genel olarak bu tümörler yavaş büyür, daha küçük kitle yaparlar ve diğer subtiplere göre daha erken safhada metastaz yaparlar. Histolojik olarak neoplastik hücreler genellikle küboidal ve kolumnar olup sıklıkla müsin salgılar, tipik olarak tubuler, asiner veya papiller yapılar oluştururlar.

Bronşioalveolar karsinoma (BAK), özel bir adenokarsinoma tipidir. İki çeşidi vardır. BAK' ın yarısından azı multifokal müsinöz tümörlerdir, bazen tek başına bir kitle yapar bazen de birbirleri ile birleşen kitleler oluşturur (pulmoner konsolidasyonu taklit eder). Sıklıkla bir lobda sınırlı kalır, fakat bazen multipl hatta bilateral lobları tutabilir. Histolojik olarak bu kitleler yüksek kolumnar hücrelerin iyi korunmuş alveoler septalar üzerinde düzgün olarak sıralandığı yapılar oluşturur. İntra ve ekstrasellüler müsin sekresyonu ve bazalde lokalize küçük nüveleri vardır. Histolojik görünüm aldatıcı olarak benign olup mitoz nadirdir. Diğer çeşidi 10 cm çapa ulaşabilen, gri-beyaz tek bir nodül şeklinde olup bir üst lob içinde ve perifere yakın yerleşimlidir. Multifokal tipin aksine neoplastik hücreler müsin salgılamazlar, alçak kolumnar veya küboidal şekildedirler. Alveoler septalar yerine tümörün fibrovasküler stroması üzerinde irregüler sıralanırlar, papiller yapılar belirgindir. Nükleuslar büyük, santral yerleşimli olup mitoz gösterebilirler. BAK' ın prognozu diğer bronkojenik karsinomlara göre daha iyidir. Multifokal çeşidinde 5 yıllık yaşam hastaların %20-25'inde görülürken lokalize tek kitle yapan çeşidinde ise bu oran %50-70'dir.

Büyük hücreli karsinoma: Sitolojik diferansiyasyon göstermeyen belki de squamus veya glanduler neoplazmların, herhangi bir kategoriye giremeyecek kadar indifferensiye şeklidir. Hücreler genellikle anaplastik olup büyük ve veziküler nükleusları vardır. Tümör bazen vahşi bir anaplazi gösteren dev hücrelerden yapılmıştır. Diğerleri berrak veya spindl hücreli olabilir. Bu neoplazmlar daha ziyade periferik yerleşimli olup büyük hacimlidirler. Erken fazda uzak yerlere yayılma eğiliminden

dolayı kötü prognozludurlar. Yarısından fazlasında tanı konduğu zaman beyin metastazı vardır ve beş yıllık yaşam oranı %2-3'tür.

Küçük hücreli akciğer karsinoma: Erkeklerde kadınlara oranla daha sık olup sigara içimi ile çok yakından ilgileri vardır. Soluk gri renkte, santral lokalizasyonda kitleler olup hiler ve mediastinal lenf nodlarını erken fazda tutarlar. Bu kanserler, küçük, oval-yuvarlak, lenfosit benzeri (lenfositten biraz büyük), dar sitoplazmalı, hiperkromatik nüveli ve çok mitoz gösteren hücrelerden meydana gelmiştir. Bu klasik oat cell (yulaf hücreli) kanserdir. Bazı vakalarda tümör hücreleri spindl (iğ) biçiminde veya fusiformdur. Submukozal damarlara penetrasyon sıklıkla görülür.

KHAK hızlı büyüyen, geniş infiltrasyon yapan ve erken yayılan lezyonlar olup nadiren rezeke edilebilir durumda yakalanır. Bu nedenle her zaman kombine radyoterapi ve kemoterapi ile tedavi edilirler. Fakat bu şekilde bile iki yıllık yaşama oranı %5-8 dir. Yeni protokoller bu görünümü çok az değiştirmiştir. Bu neoplazmların histogenesi bilinmemektedir. Bir tarafta bu tümörler nöroendokrin özellikler gösterirler. Diğer taraftan bu neoplazmlar, skuamöz veya adenokarsinomatoz diferansiyasyon sahaları gösterirler ki kökenlerinin diğerleri ile aynı olduğunu düşündürmektedir. Bir kısım tümörler birden fazla diferansiyon gösterir.

Bütün bu neoplazilerde tanı koymada sonuç verecek lenf nodları zinciri olarak, karina çevresi, mediastinum, skalen ve klavikula bölgesi ile erken veya geç olsun uzak metastazlar taranır. Supraklavikular lenf nodu (virchow nodu) tutulum karakteristik olup bazen gizli bir akciğer kanserine (ocult ca) dikkat çeker. Bu kanserler ilerledikleri zaman perikardial ve plevral boşluklara uzanırlar, buralarda inflamasyon ve

efüzyonlara yol açarlar. Superior vena cava'ya komprese eder veya invaze ederlerse venöz konjesyon veya tam gelişmiş vena cava sendromuna neden olurlar. Apikal neoplazmlar brakial veya servikal sempatik pleksusu invaze ederek ulnar sinir sahasında şiddetli ağrıya veya Horner Sendromuna (aynı tarafta enoftalmus, ptosis, meiosis ve anhidrosis) neden olurlar. Böyle apikal tümörlere “Pancost” tümörü de denilir ve pancost sendromunun klinik bulguları da beraberdir. Pancost tümörü sıklıkla birinci ve ikinci kostada bazen de torasik vertebralarda destrüksiyon ile beraberdir (Robbins, 1995).

Bronkojenik kanserlerin görülme sıklığı Çizelge 2.7.'de verilmiştir.

Çizelge 2.7.Bronkojenik Karsinomanın Histolojik Sınıflaması Ve Yaklaşık İnsidansları (Robbins, 1995)

I.	Küçük hücreli olmayan akciğer karsinomu (KHOAK) (%50-75)
	1. Skuamöz hücreli (epidermoid) karsinoma (%25-30)
	2. Adenokarsinoma (bronkoalveoler karsinoma dahil) (% 30-35)
	3. Büyük hücreli karsinoma (% 10-15)
II.	Küçük hücreli akciğer karsinomu (KHAK) (% 20-25)
III	Kombine tipler (% 5-10)
	En sık
	Mikst skuamöz hücreli adenokarsinom
	Mikst skuamöz hücreli ve KHAK

Dünya Sağlık Örgütünün yaptığı akciğer kanserleri sınıflaması son derece ayrıntılı olup Çizelge 2.8.'de gösterilmiştir.

**Çizelge 2.8. Akciğer Ve Plevra Tümörlerinin 1999 WHO/IASLC
Klasifikasyonu (Hastürk, 2000)**

I-Epiteliyal tümörler

A- Benign

1- Papillomlar

a- Skuamöz hücreli papillom

-Ekzofitik

-İnverted

b-Glandüler papillom

c-Mikst skuamöz hücreli ve glandüler papillom

2- Adenomlar

a-Alveoler adenom

b-Papiller adenom

c-Tükrük bezi adenomları

- Müköz gland adenomu

-Pleomorfik adenom

-Diğerleri

d-Müsinöz gland adenomu

e-Diğerleri

B- Preinvaziv Lezyonlar

1-Skuamöz displazi/karsinoma insitu

2-Atipik adenomatöz hiperplazi

3-Diffüz idiyopatik pulmoner nöroendokrin hücre hiperplazisi

C- İnvaziv/Malign

1-Skuamöz hücreli karsinom Varyantları

a-Papiller

b-Şeffaf hücreli

c-Küçük hücreli

d-Basaloid

2- Küçük hücreli karsinom

Varyant

a-Kombine küçük hücreli karsinom

3- Adenokarsinom

a-Asiner

b-Papiller

c-Bronkioloalveoler karsinom

Non-müsinöz (Clara hücresi/Tip 11 pnömosit tipleri)

Müsinöz (Goblet hücre tipi)

Mikst müsinöz ve non-müsinöz veya belirsiz

d-Müsin yapan solid adenokarsinom

e-Mikst

f-Varyantlar

İyi diferansiye fütal adenokarsinom

Müsinöz (kolloid)

Müsinöz kistadenokarsinom

Taşlı yüzük hücreli

Şeffaf hücreli

4- Büyük hücreli karsinom

Varyantlar

a-Büyük hücreli nöroendokrin karsinom

Kombine büyük hücreli nöroendokrin karsinom

b-Basaloid karsinom

c-Lenfoepitelyoma-benzeri karsinom

d-Şeffaf hücreli karsinom

e-Rabdoid fenotip içeren büyük hücreli karsinom

5- Adenoskuamöz karsinom

6- Pleomorfik, sarkomatoid veya sarkomatöz elemanlar içeren karsinomlar

a- Spindl ve/veya dev hücre içeren karsinomlar

Pleomorfik karsinom

Spindl hücreli karsinom

Dev hücreli karsinom

b- Karsinosarkom

c- Blastom (Pulmoner blastom)

7- Karsinoid tümör

a-Tipik karsinoid

b- Atipik karsinoid

8-Tükrük bezi karsinomları

a-Mukoepidermoid karsinom

b-Adenoid kistik karsinom

c-Diğerleri

9- Klasifiye edilemeyen karsinom

II- Yumuşak Doku Tümörleri

- A- Lokalize fibröz tümör
- B-Epiteloid hemanjiendotelyoma
- C- Plöropulmoner blastoma
- D- Kondroma
- E- Plevranın kalsifiye fibröz psödotümörü
- F- Konjenital peribronşial myofibroblastik tümör
- G- Diffüz pulmoner lenfanjiomatozis
- H- Desmoplastik küçük yuvarlak hücreli tümör
- I- Diğerleri

III- Mezotelyal Tümörler

- A- Benign
 - 1-Adenomatoid tümör
- B- Malign
 - 1- Epiteloid mezotelyoma
 - 2- Sarkomatoid mezotelyoma
 - a-Desmoplastik mezotelyoma
 - 3- Bifazik mezotelyoma
 - 4- Diğerleri

IV- Çeşitli Tümörler

- A- Hamartom
- B- Sklerozing hemanjiom
- C- Şeffaf hücreli tümör
- D- Germ hücreli neoplaziler

1-Teratom, matür veya immatür

2- Malign germ hücreli

A-Timoma

B-Melanoma

C-Diğerleri

V- Lenfoproliferatif hastalıklar

A-Lenfoit intersitisyel pnömoni

B-Nodüler lenfoit hiperplazi

C-Mukoza ile ilişkili lenfoit dokunun düşük gradeli marjinal zon B-hücreli lenfoması

D-Lenfomatoid granulomatozis

VI- Sekonder Tümörler

VII-Klasifiye edilemeyen tümörler

VIII- Tümör benzeri lezyonlar

A- Tümörlet

B- Multipl meningoitheloid nodüller

C- Langerhans hücre histiositozisi

D-Inflamatuar psödotümör (inflamatuar myofibroblastik tümör)

E- Organize pnömoni

F- Amiloid tümör

G- Hyalinize granülom

H- Lenfanjiopleiomyomatozis

I-Multifokal mikronodüler pnömosit hiperplazisi

J- Endometriozis

K- Bronşial inflamatuar polip

M- Diğerleri

2.3.2. Akciğer kanserinde TNM sınıflandırması

Akciğer kanserinin evrelendirilebilmesi açısından TNM sınıflandırmasının bilinmesi gerekir.

Akciğer kanserinde TNM sınıflandırması şu şekilde yapılır:

Primer Tümör (T)

Tx Primer tümörün belirlenememesi veya balgamı ya da bronş lavajında malign hücrelerin tespit edilip görüntüleme teknikleri ya da bronkoskopi ile tümörün gösterilememesi.

TO Primer tümör belirtisi yok.

Tis Karsinoma in situ.

T1 Tümörün en geniş çapı 3 cm, akciğer veya viseral plevra ile çevrili, bronkoskopik olarak lob bronşundan daha proksimale invazyon göstermeyen tümör (örneğin, ana bronşda invazyon yok)*.

T2 Tümörün aşağıdaki özelliklerden en az birine sahip olması: En geniş çapı > 3 cm

Ana bronş invaze, ancak karinaya uzaklık < 2 cm viseral plevra invazyonu

Hiler bölgeye ulaşan, ancak tüm akciğeri kapsamayan atelektazi ya da obstrüktif pnömoni.

T3 Tümör herhangi bir büyüklükte olup, göğüs duvarı (superior sulkus tümörleri dahil), diafragma, mediastinal plevra, pariyetal perikard gibi yapılardan herhangi birine direk invazyon göstermesi; veya karinaya 2 cm 'den daha yakın ancak karinayı tutmayan ana bronştaki tümör veya bütün akciğeri kapsayan atelektazi veya obstrüktif pnömoni ile birlikte olan tümör.

T4 Tümör herhangi bir büyüklükte olup, mediasten, kalp, büyük damarlar, trakea, özefagus, vertebra korpusu, karina gibi yapılardan herhangi birini invaze etmesi; veya malign plevral veya perikardiyal sıvı ile birlikte olan tümör; veya tümörle aynı lob içinde satellit tümör nodül veya nodülleri.

Bölgesel Lenf Bezi (N)

NX Bölgesel lenf bezlerinin değerlendirilememesi. NO Bölgesel lenf bezi metastazı yok.

NI Aynı taraf peribronşiyal ve/veya aynı taraf hiler lenf bezlerine metastaz ve primer tümörün direk yayılması ile intrapulmoner bezlerin tutulması.

N2 Aynı taraf mediastinal ve/veya subkarinal lenf bezlerine metastaz.

N3 Karşı taraf mediastinal, hiler aynı veya karşı taraf supraklavikular veya skalen lenf bezi metastazı.

Uzak Metastaz

MX Uzak metastaz varlığının değerlendirilememesi. MO Uzak metastaz yok

MI Uzak metastaz var***

* Ana bronşun proksimaline uzanan bronşiyal duvara sınırlı invazyon gösteren herhangi bir büyüklükteki nadir görülen yüzeysel tümör de T1 grubuna girer.

** Akciğer kanseri ile birlikte olan plevral effüzyonların çoğu tümöre bağlıdır. Bununla birlikte bazı hastalarda plevral sıvının yinelenen sitolojik incelemelerinde tümör saptanamaz. Bu olgularda sıvı kanlı ve eksüda özelliğinde değildir. Klinik durum ve sıvının özellikleri tümörü düşündürmüyorsa, sıvı evrelemede dikkate alınmamalı ve

hasta T1; T2 veya T3 olarak değerlendirilmelidir. Perikardiyal sıvı da aynı kurallara göre değerlendirilmelidir.

*** Tümörün olduğu lob dışındaki tümör nodülleri M1 olarak sınıflandırılır(Hastürk, 2000).

2.3.3. EVRELEME

Akciğer kanserli bir hasta değerlendirilirken tanı ve tedavinin değişik dönemlerinde farklı evrelemeler yapılmaktadır. Evreleme çeşitleri aşağıda gösterilmiştir .

1. eTNM: Klinik evreleme. Hasta ilk görüldüğü zaman yapılan değerlendirme esnasındaki evrelemedir. Bu evrelemeye göre hastaya tedavi planlaması yapılır.

2. sTNM: Cerrahi evreleme. Ameliyat esnasında cerrah tarafından yapılan evrelemedir.

3. pTNM: Patolojik (cerrahi sonrası) evreleme. Ameliyat esnasında alınan dokuların histopatolojik olarak değerlendirilmesi sonrasında yapılan evrelemedir.

4. fTNM: Tedavi sonrası yeniden evreleme. Primer tedavi yetersiz kaldığı zaman progressif hastalığı bulunan bir hastanın yeniden evrelendirilmesini tanımlar.

5. aTNM: Otopsi evrelemesi. Akciğer kanserli bir hastaya yapılan postmortem evrelemeyi tanımlar (Hastürk, 2000).

Çizelge 2.9. TNM sisteminde evreleme (Hastürk, 2000)

Evre	TNM Altgurubu
Occult karsinom	TXNOMO
0 (Karsinoma in situ)	Tis NOMO
IA	T I NOMO
IB	T2NOM0
IIA	T1 NI MO
IIB	T2N1 MO
	T3NOM0
IIIA	T3N1 MO
	T I N2M0
	T2N2M0
	T3N2M0
IIIB	T4NOM0
	T4N1 MO
	T4N2M0
	T1 N3M0
	T2N3M0
	T3N3M0
	T4N3M0
IV	Herhangi T Herhangi N MI

2.4.1. Akciğer Kanserinde Kullanılan Kemoterapi Protokolleri

(Atatürk Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Merkezi Kemoterapi Protokolü, 2005)

Küçük Hücreli Dışı Akciğer Ca

Birinci Basamak Tedavi

Etoposid+Cisplatin
 Vinorelbin+Cisplatin
 Gemcitabin+Cisplatin
 Paklitaksel+Cisplatin

İkinci Basamak Tedavi

Dosetaksel

Küçük Hücreli Akciğer Ca

Birinci Basamak Tedavi

Etoposid+Cisplatin
 Siklofosfamid+Doksorubisin+Vinkristin veya Etoposid

İkinci Basamak Tedavi

Topotekan

Akciğer kanserinde kullanılan ilaç rejimleri yukarıda belirtilmiştir. Bu tablodan anlaşılan odur ki gerek fiyatı gerekse yararlılığı yönünden her protokolde cisplatin bulunmaktadır.

2.4.2.KHOAK’de kullanılan bazı kemoterapötik ajanlar

2.4.2.1.Vinka Alkaloidleri Ve Bitkisel Kaynaklı Diğer İlaçlar

Bu grupta bulunan antineoplastik ilaçlar Vinca rosea bitkisinin dimerik alkaloidleri olan vinkristin, vinblastin, onun yarı-sentetik türevi olan vindesin ve vinorelbin, Podophyllum bitkilerinden elde edilen podofilotoksin, onun iki yarı-sentetik türevi olan etopozid ve tenipozid ile, taksus türü bitkilerden elde edilen taksanlar olan paklitaksel ve dosetaksel'dir. Primer etkileri, mitozun metafaz döneminde, mikrotübüllerden ibaret olan mitoz içciklerinin oluşmasının önlenmesidir (etopozid ve tenipozid hariç). Mikrotübüllerin yapıtaşı olan tübülün moleküllerine bağlanarak onları çöktürürler ve mikrotübülleri oluşturmak üzere bir araya gelmelerini bozarlar. Sonuçta hücre bölünmesinin metafazda durmasına ve hücrenin ölümüne neden olurlar. Bu nedenle, M dönemine-özü ilaçlardır. Bu ilaçlara mitoz zehirleri, metafaz zehirleri veya içcik zehirleri gibi adlar da verilir. DNA sentezini veya yapısını bozmazlar. Nöronların mikrotübüllerinin oluşmasını da bozduklarından nörotoksik tesirleri de vardır. Fazla tahriş edici bileşiklerdir.(Kayaalp,2000)

2.4.2.1.1.VİNORELİN

Vinorelbin, vinka-alkaloid grubundan bir sitostatik, antineoplastik maddedir. Aktivitesinin moleküler hedefi, tübülün/mikrotübül dinamik dengesidir. Vinorelbin, tübülün polimerizasyonunu engeller. Özellikle mitotik mikrotübüllere etki ederek, aksonal mikrotübülleri sadece

yüksek konsantrasyonlarda etkiler. Tübülün spiralizasyonu üzerindeki etkisi vinkristinden daha düşüktür. Vinorelbin, G2+M safhasında mitozu engeller, interfazda veya sonraki mitozda hücre ölümüne yol açar. Vinorelbin, küçük hücreli olmayan akciğer kanseri ve metastatik meme kanserinde endikedir. Tedavi hematolojik gözetim altında yapılmalı, her enjeksiyon öncesi hemoglobin düzeyi, akyuvar ve granülosit sayımları yapılmalıdır.

Hematolojik toksisite, doz sınırlayıcı toksisite granülositopenidir. Orta şiddette anemi görülebilir. Nörotoksisite, periferik olarak genelde derin tendon reflekslerin ortadan kalkmasıyla sınırlıdır. Gastrointestinal toksisite, kabızlık, tekrar oranı düşük bulantı ve kusma görülebilir. Bronkopulmoner toksisite, diğer vinka alkaloidler gibi bronkospazm yapabilir, bu reaksiyonlar genellikle enjeksiyonu izleyen birkaç dakika veya saat içerisinde ortaya çıkabilir (Kayaalp, 2000).

2.4.2.1.2.ETOPOZİD

Podofillum peltatum ve Podofillum emodi bitkilerinin kurutulmuş kök ve rizomlarından elde edilen bir reçineden ibaret olan podofilin içinde en az % 40 oranında bulunan polisiklik bir bileşik olan podofilotoksin'in yarı-sentetik türevidir. Mitoz zehiri değildir; hücrenin siklusunu daha erken dönemde (geç S veya G2 döneminde) durdurur. Etki mekanizması tam olarak belli değildir. Oldukça lipofilik bir bileşiktir; gastrointestinal kanaldan yaklaşık % 50 absorbe edilir. Küçük-hücreli akciğer kanserine karşı en etkili ilaçlardan biridir; küçük-hücreli-olmayan tipte daha az etkilidir. Etkili olduğu diğer neoplazmalar non-seminomatöz testis kanserleri, Hodgkin-dışı lenfomalar, koryokarsinoma, akut myelositik lösemi ve nöroblastomadır. Günde 50 - 75 mg/m² dozunda beş günlük

rejim halinde i.v. infüzyonla uygulanır; ağızdan da verilebilir. Başlıca yan tesirleri kemik iliği depresyonu, lenfoid dokuda hipoplazi, bulantı ve kusma, alopesi, ateş, Periferik nöropati, flebit, mukozit ve kardiyotoksisitedir (Kayaalp, 2000)

2.4.2.1.3.PAKLİTAKSEL

Taksanlar, *Taxus brevifolia* bitkisinden elde edilmiş olan taksan türevi kompleks diterpen esterleridir. Tedaviye ilk giren taksan grubu ilaç, paklitaksel'dir. Daha sonra dosetaksel tedaviye girmiştir.

Taksanlar, tümör hücrelerinde, tübülün sentezinin temel taşları olan oligomerik veya polimerik substratlara bağlanarak tübülün polimerizasyonunu (sentezini) stimule eder (vinka alkaloidleri ise inhibe eder). Böylece taksanlar hücrede mikrotübül oluşumunu artırır. Ayrıca daha önce oluşmuş normal mikrotübüllere bağlanarak onları stabilize eder. Sonuçta tübülün-mikrotübül dengesini bozmak veya fonksiyonel olmayan mikrotübül sentezine neden olmak suretiyle sitotoksik etki yapar. Paklitaksel, cisplatinle kombine edilerek primer over kanserinin tedavisinde, ayrıca cisplatin içeren standard tedaviye rezistan duruma gelmiş metastatik over kanserinin ve antrasiklin türevi ilaç içeren standard tedaviye rezistans kazanmış metastatik meme kanserinin tedavisinde kullanılır. Nisbeten toksik bir ilaçtır. Anafilaktoid nitelikte aşırı duyarlılık reaksiyonu oluşturabilir; ağır reaksiyonu önlemek için paklitakselden önce bir glukokortikoid, klasik antihistaminik ve histamin H₂ reseptör blokörü ilaç kombinasyonu ile premedikasyon uygulanır. Doz-kısıtlayan yan tesiri myelotoksik etkisidir. Alopesi, Periferik nöropati, kalpte iletim bozukluğu, kas ağrısı ve hafif bulantı-kusma yapabilir (Kayaalp, 2000).

2.4.2.1.4.DOSETAKSEL

Dosetaksel, standard sitotoksik tedaviye rezistans kazanmış ilerlemiş meme kanseri tedavisinde i.v. infüzyonla kullanılır. Yan tesirleri paklitakselinkilere benzer; ayrıca belirgin sıvı retansiyonu ve bacak ödemi yapar, deksametason ile önlenabilir (Kayaalp, 2000).

2.4.2.1.5.GEMSİTABİN

Gemsitabin (dFdC), hücre içerisinde nükleosid kinazlar tarafından, aktif difosfat (dFdCDP) ve trifosfat (df dCTP) nükleosidlere metabolize edilir. Gemsitabinin sitotoksik etkisi, dFdCDP'nin iki etkisiyle DNA sentezinin inhibisyonuna bağlı gözükmeştir. Önce dFdCDP, DNA sentezinde kullanılan deoksinükleosid trifosfatların oluşmasıyla sonuçlanan reaksiyonlardan tek katalizör olarak sorumlu bulunan ribonükleotid redüktazı inhibe eder. Bu enzimin dFdCDP tarafından inhibisyonu/ genelde deoksinükleosid ve özellikle de dCTP konsantrasyonlarının azalmasına neden olur. İkincisi dFdCTP, DNA ile birleşmek bakımından dCTP ile yarışmaya girer (kompetisyon). Yine bunun gibi az miktarda gemsitabin DNA'nın yapışma da girebilir. Böylece hücre içerisindeki dCTP konsantrasyonunun azalması, dFdCTP'nin DNA yapısına daha fazla girmesine neden olur. DNA polimeraz epsilon temelde, gemsitabini uzaklaştırabilme ve uzamakta olan DNA bantlarını onarabilme yeteneğine sahip değildir. Gemsitabin DNA yapısına girdikten sonra, büyümekte olan DNA bantlarına ilave bir nükleotid eklenir. Bu eklemeye DNA sentezinin daha fazla ilerlemesi, temelde tamamen inhibe olur (maskeli zincir terminasyonu). Görüldüğü

kadarıyla gemsitabin, DNA yapısına girdikten sonra, apoptoz olarak bilinen programlanmış hücre ölümü sürecini başlatmaktadır.

Gemsitabin, lokal olarak ilerlemiş ya da metastatik, küçük olmayan akciğer kanseri olgularının tedavisinde endikedir. Gemsitabin ayrıca, ilerlemiş meme, over, prostat ve küçük hücreli akciğer karsinomu olgularında bir miktar aktivite göstermiştir. İlerlemiş böbrek, pankreas ve mesane kanserlerinde objektif yanıtlar bildirilmiştir. Uygulama süresinin uzatılmasının ve doz aralığının kısaltılmasının toksisiteyi artırdığı göstermiştir. Gemsitabin, kemik iliği fonksiyonunu baskı altına alarak lökopeni, trombositopeni ve anemi yapabilir. Hastaların %10 kadarında, gemsitabin uygulanmasını izleyen saatlerde dispne bildirilmiştir (Güneş, 2003).

2.4.2.2. Platin bazlı ilaçlar

2.4.2.2.1. CARBOPLATİN

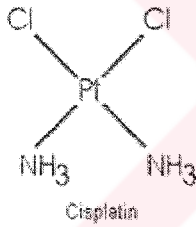
Cisplatin kadar güçlü antineoplastik etkinliğe sahip olan, fakat emetik etkisi, renal toksisitesi ile ototoksisitesi ve nörotoksisitesi daha düşük olan bir cisplatin analogudur. Myelosupresif etkinliği cisplatininkinden fazladır; kan hücrelerinden özellikle trombositlerin düzeyini düşürür. Mutad dozu 360 mg/m^2 'dir ve 28 günde bir i.v. infüzyonla verilir (Kayaalp, 2000).

Carboplatin organizmaya verildikten sonra cisplatine dönüşür ve etkisini böylece gösterir. DNA'ya hem intrastrand (%90'dan fazla) hem de interstrand (%5'ten az) bağlanır. DNA addaktı oluşturarak DNA sentezini ve fonksiyonunu inhibe eder. Bunun yanına transkripsiyonu da önler. Nükleer ve sitoplazmik proteinlere bağlanarak sitotoksik etki

gösterir. Glutasyon ve glutasyon ile ilgili enzimler inaktivasyonunu artırır.

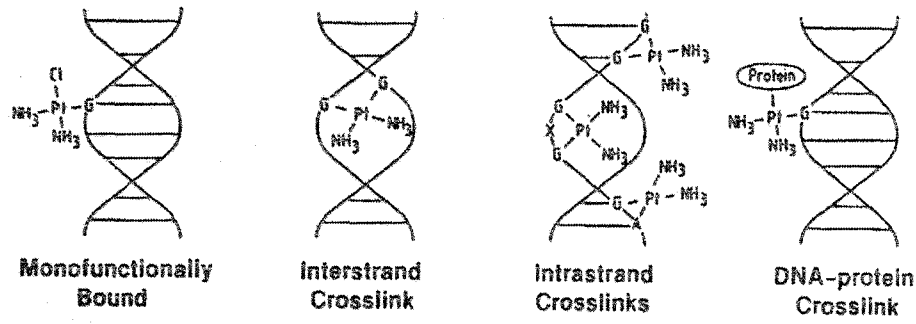
2.4.2.3.CİSPLATİN

Yapısı bakımından diğer antineoplastik ilaçlara benzemeyen organik platin türevi (platin koordinasyon kompleksi) ilaçlardır. Cisplatin, kimyaca platin diamminodiklorür'dür. Sıvı ortamda platin elektrodlar aracılığı ile oluşturulan elektriksel alanın E. coli'nin çoğalması üzerindeki etkisini incelemek üzere yapılan deneyler sırasında, elektroddan sıvıya geçen platin türevlerinin antibakteriyel ve antineoplastik etki yaptıkları tesadüfen farkedilmiş ve bu gözlem sayesinde cisplatin bulunmuştur. Sadece cis izomeri sitotoksiktir. Döneme özgü olmayan bir ilaçtır (Kayaalp, 2000).



Etki Mekanizması:

Alkilleyici tiptedir, DNA 'ya guanin ve adeninin N-7 pozisyonundan kovalent bağla bağlanır. DNA 'ya intrastrand (% 90) veya interstrand (% 10) olarak iki farklı şekilde etki eder. DNA adductlarının oluşması veya DNA sentezinin ve transkripsiyonunun inhibisyonu ile sonuçlanır. Çekirdek ve sitoplazmik proteinlere bağlanması, sitotoksik etkilerle sonuçlanabilir (www.cancersourcemd.com, 2005)



Mide-barsak kanalından absorbe edilmez; sadece intravenöz uygulanır. Plazma proteinlerine % 90 oranında ve kısmen irreversibl olarak bağlanır. Dokulara da bağlanır. Verilişinden sonra 4 ay süre ile böbrek dokusunda platin saptanabilir. Eliminasyon yarılanma ömrü 60 saat kadardır. Geniş spektrumlu bir antineoplastik ilaçtır. Non-seminomatöz testis tümörleri, ilerlemiş over kanseri, mesane, prostat, serviks, özofagus ve küçük hücreli olmayan akciğer kanserleri, baş ve boyun kanserleri, osteojenik sarkom ve nöroblastoma gibi solid tümörlerin tedavisinde kullanılır. Myelosüpresif etkinliği orta derecede olduğu için kombinasyonlar için elverişli bir ilaçtır ve daha ziyade o şekilde kullanılır. Alkilleyici ilaçlar, antimetabolitler ve bazı bitkisel kaynaklı ilaçlarla sinerjistik etkileşme gösterir. İntravenöz infüzyon veya yavaş i.v. injeksiyon şeklinde tek başına günde 100 mg/m² dozunda, kombinasyon içinde ise genellikle 20 mg/m² dozunda uygulanır.

En ciddi yan tesirleri, doza bağımlı olarak akut tübüler nekroz yapması ve ayrıca glomerüler filtrasyonu bozmasıdır. Hasta önceden hidrate edilerek diürez yapılırsa bu yan tesir önemli ölçüde önlenir. İlaç uygulandığı sırada ve uygulanmadan sonra, diürez saatte 150 ml'nin üzerinde olacak bir hızda hastalarda i.v. sıvı ile güçlü hidrasyon

yapılmalıdır. Ayrıca diüzezi artırmak için mannitol infüzyonu yapılabilir. Aminoglikozid ilaçlar, sisplatin'in nefrotoksitesini artırır. İç kulağı bozarak yüksek frekanslı seslere karşı sağırılık yapabilir (ototoksitesite). Kemik iliği üzerindeki supresif etkisi diğer birçok antineoplastik ilacınkine oranla orta derecededir. Sık olarak doza-bağımlı bulantı ve kusma yapar. En fazla bulantı ve kusma yapan kanser ilaçlarından biridir. Periferik nöropati yapabilir. Ateş ve hemoliz gibi alerjik reaksiyonlara neden olabilir. Hipomagnezemi ve buna bağlı hipokalsemi yapar; bunun sonucu tetani oluşturabilir. Hipomagnezemi i.v. magnezyum sülfat solüsyonu uygulanarak ortadan kaldırıldığında hipokalsemi de düzelir. Cisplatin, mutajenik, teratojenik ve olasılıkla karsinojenik bir ilaçtır. Daha önce tedavi edilenlerde ilacın ikinci kez uygulanması hemen başlayan anafilaktik reaksiyona neden olabilir.

2.5. Genetik ile ilgili bazı kavramlar

DNA: Canlıya ait genetik bilgiyi taşıyan molekül. Başka bir deyişle, canlıya ait tüm genetik bilginin kodlandığı makromoleküldür. Canlıya ait nihai karakteristik özelliklerin tümü DNA' dan alınan bilgi ile oluşturulur.

Bütün canlı DNA' larının basit biyokimyasal karakteristikleri:

1. DNA, iki farklı pürin (adenin, guanin) ve iki farklı pirimidinden (sitozin, timin) oluşur.
2. Bir nükleotid çifti, bir pürin ve bir pirimidin bazı içerir [adenin/timin(AT) veya guanin/sitozin (GC)].
3. Nükleotid çiftleri çift-sarmal molekülde (double-helix) şeker-fosfat omurga bağlantıları ve hidrojen bağları ile bağlıdır. Bazlar

birbirlerine hidrojen bağları ile bağlıdırlar. Bir baza riboz şekeri bağlanırsa oluşan yapıya nükleozid, baz ve şeker yapısına bir de fosforik asit katılırsa oluşan yapıya nükleotid denir.

4. AT baz çifti 2 hidrojen bağı, CT baz çifti 3 hidrojen bağı ile birbirine bağlıdır.

5. DNA molekülündeki her baz çiftinin arasında 3.4 Å mesafe vardır ve DNA sarmalı, her 10 nükleotid çiftinde bir dönüş yapar.

6. bir DNA molekülünde adenin moleküllerinin sayısı, timin moleküllerinin sayısına eşit olmalıdır. Aynı ilişki guanin ve sitozin molekülleri için de geçerlidir. Ancak AT çiftlerinin GC çiftlerine oranı türler arası farklılık göstermektedir.

7. DNA'nın iki sarmalı, her iki şeker fosfat omurgasının polaritesiyle ilişkili olarak birbirini tamamlayıcı ve birbirine antiparaleldir. Riboz şekerindeki terminal OH grubu ile ilişkili olarak bir sarmal 3'-5' yönünde, diğer sarmal ise 5'-3' yönündedir.

8. DNA kendini yarı korumacı (semikonservative) bir metodla eşler. Şöyle ki iki sarmal birbirinden ayrılır ve her biri kendisine ait yeni tamamlayıcı sarmalının sentezinde kalıp görevi üstlenir.

9. DNA'nın kendini eşlemesi (replikasyon) sırasında DNA nükleotid polimerizasyon hızı saniyede 600 nükleotiddir. Bu replikasyon hızına uyum sağlamak için kalıp sarmal, 3600rpm devirle dönmektedir.

10. Hücrelerin DNA içerikleri farklıdır. (E. coli 1.8×10^9 dalton; insan hücresi 1.9×10^{11} dalton).

Gen: DNA üzerinde protein sentezinden sorumlu olan bölüm ya da DNA molekülü üzerindeki en basit fonksiyonel birimdir.. Başka bir deyişle, DNA molekülü üzerinde fonksiyonel bir ürün oluşturmak için gerekli bilgiyi içeren kısım. Bütün genlerin ürünleri polipeptidlerdir

(amino asit heteropolimerleri). Bu polipeptidlerin fonksiyonları yapısal, enzimatik veya düzenleyicidir. Canlının tüm görünür ve fonksiyonel nitelikleri fenotip olarak adlandırılır ve bu gen ürünlerinin (polipeptidlerin bir diğer adıyla proteinlerin) hatasız sentezine bağlıdır.

Genotip: Anne ve babadan gelen gen çiftinin bileşimi (kompozisyonu, composition).

İntron: Ökaryotik hücre DNA' sında bazı genler üzerindeki fonksiyonel olmayan tekrarlanan dizilimler mevcuttur. Bu hücreler, aynı zamanda kodlama olmayan DNA (noncoding DNA) ihtiva ederler. Kodlanmanın olduğu dizilimler arasında kalan ve kodlamanın olmadığı bu bölgelere (non coding region) intron denir.

Ekson: Gen üzerinde kodlamanın olduğu ve protein sentezinden sorumlu olan dizilim bölgelerine (coding region) exon denir. Tekrarlanan DNA dizilimlerinin ve intron bölgelerinin fonksiyonları bilinmemektedir. Kısaca tanımlanacak olursa exon, gen üzerinde protein sentezinden sorumlu olan bölüm; intron ise gen üzerindeki protein sentezinden sorumlu olmayan bölümdür.

Kromozom: Türlerle bağlı olarak yüzlerce ya da binlerce gen ihtiva eden DNA' dan oluşan yapı. Kromozomdaki DNA ile birleşik halde (kompleksleşmiş), histon adı verilen basit proteinler mevcuttur.

Lokus: Kromozom üzerindeki gen bölgeleri

Alel: Kromozom üzerindeki belirli bir bölgedeki (lokus) anneden veya babadan gelen gen

Kromozomlar, hücre başına tek kopya olarak (haploid, n), veya hücre başına çoklu kopyalar halinde bulunabilirler [genellikle iki (diploid, $2n$) biri anneden, diğeri babadan gelir]. Haploid hücrelerde ifade edilebilen (sentez edilebilen, ekspresse edilebilen) tüm genler hücre içindedir.

Diploid hücrelerde, bir gen diğerine göre baskındır (dominant) ve dolayısıyla fonksiyonel çiftlerden baskın olanı eksprese edilir. Bu fonksiyonel gen çiftlerinden eksprese edilmeyen gene ise çekinik (resesif) gen denir. Fonksiyonel resesif genler ancak ve sadece her iki resesif kopyanın da birlikte bulunduğu durumda eksprese edilir. Memelilerdeki hücreler diploid olduğu halde, bazı hücre tipleri örneğin karaciğer hücreleri tetraploiddir (4n). Ancak gamet hücreleri her zaman haploiddir.

Wild type (homozigot wild type) genotip: Anne ve babadan gelen kardeş kromozomların her ikisi de mutasyona uğramamış aleli taşır.

Heterozigot mutant genotip: Anne ve babadan gelen kardeş kromozomlardan biri mutasyona uğramamış aleli (geni), diğeri mutasyona uğramış aleli taşır.

Homozigot mutant genotip: Anne ve babadan gelen kardeş kromozomların her ikisi de mutasyona uğramış aleli taşır.

Alel frekansı: Bir popülasyonda, söz konusu alelin frekansı, Hardy-Weinberg kanunu ile hesaplanır.

Hardy-Weinberg kanununa göre alellerin dağılımı binom açılımına uyar.

$$(p + q)^2 = p^2 + 2pq + q^2 =$$

Yukarıdaki denklemde p baskın aleli, q ise çekinik aleli göstermektedir. Homozigot çekinik aleli taşıyan kişilerin sayısının popülasyona oranı q^2 'ye eşittir. Bu oranın karekökü, homozigot mutant alelin frekansını verir.

Polimorfizm: Polimorfizm, poli ve morfizmos kelimelerinden oluşmuştur ve çok şekillilik anlamını taşıyan bir sözcüktür. Genetik polimorfizm ise, aynı popülasyonda bir lokusta iki veya daha fazla alelin belli frekansta görülmesidir.

2.6. Glutasyon-S-transferazlar

Glutasyon-S-transferazlar (GST), substratın elektrofilik karbon atomu ile glutasyonun nükleofilik sülfidril grubu arasındaki reaksiyonları katalizleyerek, kimyasal maddelerin değişik fonksiyonel gruplarının N-asetilsistein (merkaptürikasit) oluşturmaya neden olur. GST için substrat olan maddeler 2 özelliğe sahip olmalıdır:

- Lipofilik olmak,
- Elektrofilik karbon atomu içermek.

Bu özelliklere sahip maddeler glutasyon ile ölçülebilir düzeyde nonenzimatik reaksiyon vermelidir. Ayrıca, bu transferazlar enzimatik reaksiyonlar için substrat olmayacak pek çok kimyasal madde için ligand gibi hareket ederler. Transferazların lipofilik bölgeleri, ekzojen ve endojen maddeler için bağlanma bölgesi olarak yardımcı olurlar. GST' ler için depo veya transport görevi yaparlar (Casserett ve Doull, 1991).

Glutasyon konjugatından, glutamik asit çıkarılması γ -glutamil-transpeptidaz ile katalizlenir. Bu enzim hücrelerde emilim veya atılım fonksiyonları için bulunur. Sisteinil glisinaz ise, sistein konjugatından glisini koparır ve sonuçta N-asetil merkapturik asit oluşumuna neden olur. Bu asetilasyon reaksiyonu için kofaktör asetil ko-A' dır (Casserett ve Doull, 1991; Chasseand, 1979).

Glutasyon konjugatları böbrekte lokalize olan enzimlerde sistein türevlerine dönüşürler. Bu türevler daha sonra N-asetil sistein (merkaptürik asit) konjugatlarını vermek üzere asetillenerek idrarla atılırlar (Casserett ve Doull, 1991).

GST ile katalizlenen nükleofilik reaksiyonların önemi son yıllarda artmıştır. GST'ler, daha önce de bahsedildiği gibi pek çok elektrofilik bileşiklerin ki, bunların arasında pek çok ksenobiyotik ve lipid peroksidasyon sonucu oluşan ürünler vardır, detoksifikasyonunda önemli rol oynarlar (Manervik, 1984; Mantle ve ark., 1987; Trakshel ve Maines, 1988). GSH ayrıca, glutatyon peroksidaz için bir kofaktördür. GSH' ın eksikliğini lipid peroksidasyon artırır. Yapılan in vivo çalışmalarda, hepatositlerde GSH havuzunun tüketiminden sonra, lipid peroksidasyonun arttığı gözlenmiştir. Oluşan peroksitlere karşı GSH peroksidazların koruyucu etkisi olduğu görülmüştür (Cantford ve Giegelen, 1975). Glutatyon eksikliği, total glutatyonun %20-30' u civarında olursa, hücre hasarı ve ölümüyle sonuçlanan olaylar görülebilir (Moldeus ve Quanguan, 1987; Reed, 1984, 1990).

Aerobik organizmalarda, moleküler O_2 ' nin indirgenmesi süperoksit ve peroksitlerin oluşumu demektir ki, bu ürünler de hücre için toksiktir. H_2O_2 ve organik peroksitler lipid peroksidasyonu artırır. Endoplazmik retikulumda meydana gelen H_2O_2 , glutatyon peroksidaz ile inaktif hale getirilir. Hepatositlerde, GSH havuzu tükendiği takdirde H_2O_2 birikmeye başlar.

2.6.1. Glutatyon s-transferazların Sınıflandırılması

GST' ler, glutatyonun elektrofilik karbon atomu içeren substratla birleşmesini katalizleyen enzimlerdir. GST' ler pek çok türde bulunmaktadır. Ayrıca çeşitli dokularda bulunmaktadır. Ancak dokular arasında miktar olarak farklılık olduğu gibi, farklı tür hayvanların aynı dokularında da nitel ve nicel farklılıklar gözlenmektedir (Jakoby, 1978; Ketterer ve Mulder, 1990; Manervik ve ark., 1984).

GST'lerin doğal substratlarının tam olarak bilinmesine rağmen, bilinen substrat spesifiteleri ile farklı şekillerinin birbirlerinden ayrılması mümkün olmamıştır (Mannervik ve Danielson, 1988).

GST'lerin en eski sınıflandırılması Boyland ve Chasseaud tarafından 1969' da yapılmıştır ve aril transferaz, epoksit transferaz, alkil transferaz, arilalkil transferaz ve alken transferaz deyimleri ortaya çıkarılmıştır. Aynı zamanda, glutatyon transferazlar elektrofilik substratlarına göre ayrılmışlardır. Glutatyon transferazların saflaştırılmaları sağlanmış olmasına karşın, substrat spesifitesi tam olarak saptanamamıştır. Örn: Epoksit transferaz, hem alkil, hem de arilalkil halojenürler için aktiftir ve aril transferazın her iki şekli de epoksit substratlar için aktiftir (Pabst ve ark., 1973). Buna rağmen, orjinal adlandırma, enzimatik özelliklerinden çok proteinin fiziksel ve yapısal özelliklerine dayanır. Substrat dayalı adlandırmada, bütün araştırmacılar kloronitro-benzenler ve halojenlenmiş hidrokarbonlar gibi substratları kullanmışlardır. Son tanımlamalarda ise, sıçan dokularında GST'lerin hidrosialkenallere yüksek aktivite gösterdiği görülmüştür. Buna rağmen, şu anda bu tip adlandırma kesin temellere dayanmamaktadır (Jensson ve ark., 1986).

Sıçan karaciğerinde 6 tane GST şekli olduğu öne sürülmüş ve bu şekiller, karboksimetilselüloz iyon değiştirici matriksinden elde edilmesine göre E, D, C, B, A ve AA olarak isimlendirilmişlerdir (Habig ve ark., 1974, 1976; Jakoby ve ark., 1976). 7. şekil ise daha önce menafitil sülfat ile tanımlanarak M ismi verilmiştir (Gillham, 1973). Sıçan sitozolündeki GST'ler dimerik proteinlerdir. Bu 6 majör şekil, farklı substrat spesifitelerine göre 4 farklı alt grubun homo ve heterodimerik şekilleridir (Mannervik ve Jensson, 1982).

GST' lerle çalışan bütün araştırmacılar daha sonra adlandırmada, Arabik sayılarla sınıflandırmayı göz önüne almışlardır (Jakoby ve ark., 1984). Buna ek olarak, sıçan GST' nin sodyum dodesilsülfat-poliakrilamid jel elektroforez (SDS-PAGE) sistemi üzerindeki hareketine göre bir adlandırma geliştirilmiştir. Yapılan çalışmalarda, GST' lerin adlandırılmasında diğer memeli türlerinde de aynı prensiplerin kullanılması kararlaştırılmıştır. Ancak, bunun sonucunda farklı türlerdeki enzimleri karşılaştırmak güçleşmektedir. Örn: Farelerdeki GST şekilleri elde edildikleri enzimlere göre de yapılmıştır (Warholm ve ark., 1986).

Sitozolik GST' lerin; alfa (GSTA), mü (GSTM), pi (GSTP) ve teta (GSTT) olmak üzere 4 sınıf oldukları bilinmektedir. Son yıllardaki araştırmalarda, GST' lerin sigma (GSTS) ve zeta (GSTZ) olmak üzere iki sınıfının daha olduğu anlaşılmıştır. Hatta bazı araştırmacılar tarafından şimdiye kadar bulunanlardan başka, birbirinden farklı yapıda en az 25 sınıf GST daha olduğu öne sürülmektedir. (Snyder ve Maddison, 1997).

İnsan ve sıçanlardaki sitozolik GST' lerin sınıflandırılması Çizelge 2.10' da gösterilmiştir .

Çizelge 2.10. GST' lerin sınıflandırılması

<i>Tür</i>	<i>Sınıf</i>					
	Alfa (α)	Mu (μ)	Pi (π)	Teta (θ)	Zeta (Z)	Sigma (δ)
Sıçan	1-1	3-3	7-7	5-5		1-1
	1-2	3-4		12-12		
	2-2	4-4		13-13		
	8-8	3-6				
	4-6					
	6-6					
İnsan	α , β , τ (B2B2) δ (B1B2) ε (B1B1)	μ	π	θ (T1-1) θ (T2-2)	1-1	1-1

GSTA, organik peroksitlerin inaktivasyonunda; GSTM, diol epoksitlerin inaktivasyonunda; GSTP, epoksitler, aren epoksitler ve diol epoksitlerin inaktivasyonunda; GSTT, küçük moleküler yapıdaki organik çözücülerin inaktivasyonunda veya aktivasyonunda rol oynarlar. GSTZ' nin insanlardan bitkilere kadar birçok türde bulunduğu ve insanda fenil alanin katabolizmasında görev aldığı saptanmıştır (Blackburn ve ark., 1998). Çizelge 2.11.' de GST izozimlerinin polimorfik özellikleri ve substratları görülmektedir.

Memeli testisi iki ana kompartmana ayrılır: Spermatogenezden sorumlu olan bölge seminifer tübüllerdur ve sertoli hücrelerini içerirler. Hormon sentezinden sorumlu olan bölge interstitiumdur ve Leydig hücrelerinden oluşur.

Western blot analizleri ile bu kompartmanlardan her birinde α , μ ve π sınıfı GST'ların varlığı; HPLC analizleri ile de testis sitozolünde GST izoformlarından 1, 2, 3 , 4, 5, 6, 7, 8, 9 ve 11'in varlığı gösterilmiştir (Gandy ve ark., 1996). μ sınıfı GST'lardan hGSTM3 alt ünitesinin en çok testis ve beyinde bulunduğu gösterilmiştir (Listowsky ve ark., 1998).

Çizelge 2.11. GST izozimlerinin polimorfik özellikleri ve substratları

<i>İzozim</i>	<i>Polimorfik Özellik</i>	<i>Substrat</i>
GST-A (α)	Polimorfik olduğu şüpheli	Organik hidroperoksitler (Kümenhidroperoksit)
GST-M (μ)	Polimorfik	DCNB
GST-P (π)	Polimorfik	EAA
GST-T (θ)	Polimorfik	EPNP
GST-Z (Z)	Polimorfik	t-bütil hidroperoksit
GST-S (δ)	Polimorfik olduğu şüpheli	CDNB

Testiste diğer organlara kıyasla daha yüksek seviyelerde bulunan hGSTM3'ün yüksek katalitik kapasitesi sayesinde testiste oluşan zararlı reaksiyonların sonuçlarını önleyici ya da düzeltici etkili olduğu düşünülebilir. Testiste GST'lerin reaktif kimyasallar, hidroperoksitler ve oksidatif stresi indükleyen diğer maddelere karşı sperm hücrelerini koruyucu kapasitede oldukları muhtemeldir. Kemiricilerde GST'lerin hormonlar ve ksenobiyotikler tarafından indüklendiği bilinse de, insanlardaki GST enzimlerinin benzer şekilde indüklenip kontrol edildiği henüz açıklığa kavuşturulamamıştır (Listowsky ve ark., 1998). Çeşitli toksikanların üreme üzerinde farklı yaşlarda farklı etkiler göstermeleri üreme organlarındaki aktivasyon veya detoksifikasyondan sorumlu enzimlerin yaşa bağlı sentezinden ileri geldiği düşünülmektedir (Gandy ve ark., 1996).

2.7.İlaç Rezistansı

Kanser tedavisinde karşılaşılan en önemli problemlerden birisidir. Birçok kanser türünde, kanser hücreleri tedavi süresince kemoterapi ilaçlarına karşı direnç geliştirme yeteneğini kazanmışlardır. Bu rezistans bazı kanser hücrelerinde vardır (intrinsic), bazılarında ise sonradan kazanılır (acquired).

P-glikoprotein (pgp) ve multidrug rezistans protein (MRP) gibi, ilaç atım pompalarının fazla çalışması, folat taşıyıcılarındaki değişikliklere bağlı olarak, hücre içine ilaç alımının azalması, glutatyon aracılıklı ilaç inaktivasyonu, hedef enzimlerin fazla çalışması (timidilat sentazın daha etkin hale gelmesinde olduğu gibi), DNA onarım kapasitesinde artış, apoptozise uğrama yeteneğinde azalma şeklinde tanımlanır.

2.7.1. Cisplatin Rezistans Mekanizması

Hücresel taşınmadaki değişikliklerden dolayı ilaç birikiminde azalma, glutatyon ve glutatyon S transferazlarla (GST) inaktivasyonunda artış cisplatine rezistans oluşturur.

GST' ler platin toksisitesini farklı mekanizmalarla azaltırlar:

- 1- Cisplatin, GST' ler tarafından direkt olarak inaktive edilebilir, bu şekilde ilacın kritik DNA hedeflerine ulaşması engellenir.
- 2- GST' ler glutatyon ile DNA-pt monoadductlarının kalıcı olan bifonksiyonel adductlara dönüşümünü engeller ve böylece sitotoksitesini azaltabilirler.
- 3- GSH-pt komplekslerinin tümör hücrelerinden atılımında ise ATP bağımlı glutatyon S konjugat pompası görev alır. Bu şekilde tümör hücrelerinde cisplatinin intraselüler birikimi azaltılır.

KHOAK'inde, GSTP'nin immünohistokimyasal ekspresyonu ve cisplatinle yapılan kemoterapiye verilen cevap arasında anlamlı bir ilişki olduğu belirlenmiştir.

Bunların dışında, GSTP' nin akciğer kanserinde kemorezistansta önemli bir rolü olmadığını gösteren birkaç çalışmaya da rastlanmaktadır. Bunun, GSTP geninin polimorfik olmasından kaynaklandığını düşünülmektedir. GSTP1 geni polimorfik özellik gösterir ve iki mutant gene sahiptir;

1- GSTP1 ekzon5 (*İle105Val*)

2- GSTP1 ekzon6 (*Ala114Val*)

GSTP1' nin *İle105Val* mutasyonu ile ilgili meme kanseri ve kolon kanserlerinde yapılmış iki çalışma bulunmaktadır.

Değişik genotiplere sahip olan kanser hastalarında, terapi sonuçları ve tedavi ajanlarının uzaklaştırılması farklılık göstermektedir. Örneğin; valin içeren enzimler, alkilleyici ajanlara karşı düşük aktiviteye sahiptirler. İlk mutasyonu taşıyan enzimin alkilleyici ajanları inaktive edici etkisi azalmıştır. Bu mutant gene sahip hastalar, kemoterapide kullanılan ilaçlardan daha iyi faydalanırlar. İkinci mutasyonda ise enzim aktivitesinin ne yönde değiştiği konusunda henüz bir bilgi yoktur. Meme kanserinde yapılan çalışmada; tedavi gören 240 kadın arasında GSTP1 genotipine göre sağkalım durumları değerlendirilmiştir. Düşük aktiviteli val/val genotipine sahip kadınlar arasında daha yüksek oranda sağkalım elde edilmiştir.

2.8. GST'lerin platin bileşiklerine karşı rezistansı üzerine yapılan çalışmalar

Son zamanlarda ilaç rezistansı mekanizmaları üzerindeki çalışmalar oldukça yoğunluk kazanmış ve kanser hücrelerinin kemorezistansında çeşitli faktörlerin rol oynadığı saptanmıştır. Bunlar arasında glutatyon S-transferazlar (GST) ler önemli faktörlerden birisidir (Clapper ve ark., 1987; Wolf ve ark., 1987; Oguri ve ark.,2000). Artan veriler GST'lerin çeşitli kemoterapötik ilaçların sitotoksik etkisini belirlediğini göstermektedir (Nakagawa ve ark., 1988, Hoban ve ark., 1992).

GSTP formu ilaç rezistans gelişiminde önemlidir. GSTP'ye bağlı ilaç rezistans mekanizmasının temelinde GSTP'nin a) antineoplastik ajanların GSH ile konjugasyonunu sağlayarak detoksifiye etmesi, b) antineoplastik ajanlara doğrudan bağlanarak inaktive etmesi, c) lipid peroksidleri azaltması ve d) DNA peroksit düzeyini ve DNA onarımını azaltması yatmaktadır (Ban ve ark., 1996).

Akciğer kanseri tedavisinde platinyum bileşiklerine karşı oluşan rezistans karşılaşılan önemli bir problemdir. GSTP'nin cisplatin toksisitesi üzerindeki etkisini ise en azından iki farklı mekanizmayla değiştirdiği ileri sürülmektedir; 1) Cisplatinin doğrudan GSH ile bağlanmasına aracılık ederek onun kritik hedef olan DNA'ya ulaşmasını engelleyerek, 2) Platin toksisitesini toksik bifonksiyonel addakt (katım ürünü) oluşumu öncesindeki basamak olan DNA-Pt mono katım ürünü GSH ile onararak yapmaktadır (Eastman, 1987).

İlaç rezistansı gösteren tümörlerin GSTP1 düzeylerinin yüksek olduğu saptanmıştır (Tuschida ve Sato, 1992). Bunlar arasında özellikle

küçük hücreli olmayan akciğer tümörleri dikkati çekmektedir (Hida ve ark. 1994, Bai ve ark., 1996; Arai ve ark., 2000, Oguri ve ark., 2000). Özellikle platin bileşiklerinin detoksifikasyonuna GSTP1'in doğrudan katılmakta olduğu ve platin bileşiklerine karşı gelişen gerek intrinsik ve gerekse kazanılmış rezistansla önemli rol oynadığı ileri sürülmektedir (Ban ve ark., 1996; Goto ve ark., 1999).

Ancak platin rezistansının GSTP1'e bağlı olmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (Miyara ve ark., 1996). Benzeri çelişkili sonuçlar over kanserleri için de bildirilmektedir.(Hamaga ve ark., 1994; Van der Zee ve ark., 1995). GSTP1 ekspresyonu ile platin bileşiklerine karşı rezistans arasındaki ilişkinin her zaman gösterilememesinin nedenlerinden biri ve önemlisi GSTP1 geninin polimorfik oluşu olabilir. GSTP1 geninin polimorfik olduğu bilinmektedir. GSTP1 genindeki 2 mutasyondan birinde (İle 105 Val) 313. pozisyonda tek nükleotidin yer değiştirmesi (A-G) sonucunda izolösin yerini valine bırakmakta ve enzim aktivitesi düşmektedir (Watson ve ark., 1998). Heterozigotlarda ise enzim aktivitesi orta düzeyde kalmaktadır. GSTM1 ve GSTT1 genleri de polimorfik olup bu genlerin eksikliği enzim aktivitelerinin yokluğuna neden olmaktadır (London ve ark., 2000).

Polimorfik olan bu GST'lerin aktivitelerinin düşüşü ve yokluğu platin bileşiklerinin detoksifikasyonlarını yavaşlatacağından bu bileşiklerin sitotoksik etkilerinin ve sonuçta tedavi etkinliklerini güçlendirerek hastanın ilaca yanıtını arttırabilecektir. Bunun sonucunda sağkalım süresi de uzayabilecektir. Nitekim son zamanlarda akciğer kanserli hastalarda GST polimorfizmleri ile sağkalım süreleri arasında ilişkiyi irdeleyen çalışmalar başlamıştır. Ancak bu çalışmalarda alınan

sonuçlar çelişkilidir. Goto ve ark. ları (1996) ile Przygodzki ve ark.'ları (1998) küçük hücreli olmayan akciğer kanserli hastalarda GSTM1 polimorfizminin sağkalım süresini etkilemediğini saptarken Ge ve ark.'ları (1996) GSTM1- genotipine sahip hastaların sağkalım sürelerinin GSTM1+ olanlara göre daha yüksek olduğunu saptamışlardır.

Benzer hasta grubunda Yang ve ark.'ları (2002) ile Sweeneey ve ark'ları (2003) GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 polimorfizmleri ile sağkalım süreleri aralarındaki ilişkiyi irdelediklerinde ilk grup GSTM1 polimorfizmin etkisini gözlemekten ikinci grup GSTM1- genotipine sahip hastaların sağkalım süresinin GSTM1+ genotipine sahip olanlardan daha düşük olduğunu belirlemiştir. Her iki grup diğer polimorfizmlerin sağkalım ile ilişkisini görememişlerdir.

Diğer taraftan meme (Sweeney ve ark., 2000), lösemi (Alan ve ark., 2001) ve kolon (Stoehlmacher ve ark., 2002) kanserlerinde GSTP1 Val/Val homozigot mutant genine sahip hastaların kemoterapiye karşı sağkalım sürelerinin yabanıl Ile/Ile genine sahip olanlardan daha uzun oldukları gösterilmiştir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Gereçler

3.1.1. Kullanılan Kimyasallar ve Malzemeler

PCR buffer (Promega Corporation, ABD)

MgCl₂ (Promega Corporation, ABD)

dNTP (Promega Corporation, ABD)

Primerler (IDT, ABD)

Taq polimeraz (Promega Corporation, ABD)

PCR marker ve yükleme çözeltisi (Promega Corporation, ABD)

Restriksiyon enzimleri (New England Biolabs, İngiltere)

Glasiyal asetik asit (Merck, Almanya)

Etidiyum Bromür (AppliChem, Almanya)

DNA izolasyon kiti (Promega Corporation, ABD)

İzopropanol (Merck, Almanya)

Etanol (Merck, Almanya)

Agaroz (BMA, ABD)

Tris (AppliChem, Almanya)

EDTA (AppliChem, Almanya)

NaOH (Merck, Almanya)

3.1.2. Kullanılan Cihazlar

Otoklav (Sanyo, MAC-235 EX)

Rotatör (Labinco)

-80⁰' lik derin dondurucu (Sjniders Scientific)
 -20⁰' lik derin dondurucu (Bosch)
 Mikrosantrifüj (Hermle Z 160 M)
 Vortex (Labinco L46)
 Isıtıcı blok (Grant Boekel)
 Spektrofotometre (Shimadzu UV-160 A)
 Steril kabin (Bilser)
 Thermal cyclers (Thermo Hybaid)
 Mikrodalga Fırın (Arçelik MD55I)
 Mini Elektroforez Tankı (Thermo EC)
 Midi Elektroforez Tankı (Thermo EC)
 Elektroforez Güç Kaynağı (E-C Apparatus Corp. EC250-90)
 -80⁰' lik derin dondurucu (Sjniders Scientific)
 -20⁰' lik derin dondurucu (Bosch)
 Jel görüntüleme sistemi (Vilber-Lourmat, TCP-20-MX)

3.2. Kullanılan Yöntemler

3.2.1. Deney Kurgusu

3.2.1.1. Hastalar

Çalışmada Ankara'da bulunan Atatürk Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Merkezi'nde tedavi altında bulunan 67 adet primer küçük hücreli olmayan akciğer kanserli ve platin bazlı tedavi gören hastanın kan örneklerinde çalışıldı.

Çalışmaya alınan hastaların 6'sı kadın 61'i erkektir. Kadın hastaların yaş ortalaması 54 ± 9 (44 - 65 yaş arası), erkek hastaların yaş ortalaması ise 57 ± 9 (39 - 73 yaş arası)'dır. Genel toplamda yaş ortalaması 57 ± 9 (39 - 73 yaş arası)'dır.

Çalışmamızda hastaların KHOAK olduklarına dair tanı yöntemleri olarak görüntüleme yöntemlerinden direk göğüs grafisi, akciğer, sürrenal ve beynin bilgisayarlı tomografisi, kemik sintigrafisi, patolojik tanı için ise ince iğne aspirasyon biyopsisi, bronkoskopik biyopsi ve cerrahi olarak alınan biyopsi yöntemleri kullanılmıştır.

Hastaların kemoterapiye yanıt verip vermediği DSÖ (Dünya Sağlık Örgütü) kriterlerine göre radyolojik olarak değerlendirilmiştir. Yanıtların değerlendirilmesinde tam yanıt ve kısmi yanıt alınan hastalar , yanıt veren hastalar (YV) olarak değerlendirilmiştir. Stabil hastalık ve progresyon olduğuna karar verilen hastalar ise , yanıt vermeyen hastalar (YM) olarak değerlendirilmiştir. Kemoterapi başlama zamanından itibaren, hastanın ölümüne kadar yada sağ ise son tesbit zamanına kadar geçen süre sağkalım süresi olarak kabul edilmiş ve kullanılmıştır. Bu hastalardan 31'ine (% 46) ulaşılabilmiş ve sağkalımla ilgili son durumları tesbit edilmiştir.

Sonuçların ayrıntılı bir biçimde değerlendirilmesine yönelik olarak her bireye ait son sağlık durumları, geçirdiği hastalıklar, beslenme, sigara ve kahve alışkanlıkları ve gerekli diğer bilgileri içeren formlar doldurulmuştur. Bu formlardan alınan bilgiler çerçevesinde hastaların sigara içme durumları şöyledir:

6 kadın hastadan 1'i halen sigara içmekte, 3'ü sigara içmiş ve bırakmış, 2'si ise hiç sigara içmemiştir. Erkek hastalardan sigara içmeyen yoktur. 61 erkek hastadan 11'i halen sigara içmekte, 50'si ise sigarayı bırakmış kişilerden oluşmaktadır. Toplam olarak 67 hastadan

65'inin sigara hikayesi mevcuttur. Bu 65 kişinin ortalama olarak 48 paket/yıl sigara içtikleri saptanmıştır.

Doldurulan form örnekleri aşağıdadır:

**“Akciğer kanserinde metabolik polimorfizmin ilaç
rezistansındaki rolü” çalışması
GÖNÜLLÜLERİN BİLGİLENDİRİLMESİ VE RIZA
(OLUR) FORMU**

Sayın Bayan/ Bay

1. Çalışmanın amacı:

Hastalığınızda tedavi sonrası elde edilen düzelme oranları aynı hastalığa sahip hastalar arasında kişisel farklılıklar göstermektedir. Bu farklılığın kişilerin birtakım genetik özellikleri ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmada tedavi cevabı ile ilişkili olabilecek bir enzim (glutatyon s-transferaz) sisteminin genetik analizi yapılacak ve tedavi cevabı ile ilişkisi araştırılacaktır.

2. İzlenecek Yöntemler

Araştırmaya Atatürk Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesine başvuran sizinle aynı hastalığa sahip toplam 100 hasta alınacaktır. Her hastadan dirsek ön yüzü toplar damarlarından bir kez olmak üzere 7 c.c. kan alınacaktır. İşlem sonrasında nadiren işlem yerinde morarma gelişebilmektedir.

Hastanemiz dosyanızda kayıtlı olan ve çalışmamızla ilgili olan hastalık adı, tanı yöntemi, sigara ve verilen tedaviler kaydedilecektir. Eğer bu çalışmada yer almak istemiyorsanız bunu belirtmeniz yeterlidir ve bundan sonraki tedavinizi hiçbir şekilde etkilemeyecektir.

Verilerin Gizliliği:

Araştırmaya katılmanız halinde araştırmadan elde edilen bilgi ve bulguların tıp alanında yayınlanan yurt içi veya yurt dışı dergilerde yayınlanabileceğini kabul etmek durumundasınız.

3. Etik Komite Onayı

Hastanemiz etik kurulu bu araştırma programını onaylamıştır. Bu araştırma, klinik çalışmalarla ilgili etik bir rehber olan Helsinki Deklerasyonuna uygun olarak yürütülecektir.

4. Çalışmayı Bırakmak

Yalnızca serbest iradenizle çalışma programına katılabilirsiniz. Çalışmaya katılmamakta serbestsiniz. Çalışmaya katılmaya karar vererseniz, araştırmadan istediğiniz zaman çekilme hakkınız vardır, ancak bu kararı doktorunuza bildirmeniz gerekmektedir.

6.İstemli Katılım:

Bu çalışma programına katılım kararınız tamamen kendi isteğinize bağlı olacaktır.

Bu çalışma ile ilgili herhangi bir sorunuz olduğunda ne yapacağınızı sormak için aşağıda ismi yazılı olan doktora, verilen telefon numarasından ulaşabilirsiniz.

Dr. C. Semih Kunak İŞ: 363 33 30/1363

CEP: 0 532 500 84 35

HASTA OLUR (RIZA) FORMU:

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni önceden okudum. Bunlar hakkında bana sözlü ve yazılı açıklamalar yapıldı. Bu söz konusu klinik çalışmaya kendi rızamla , baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün;

Adı, Soyadı:

Tarih:

Tel:

İmzası:

Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya vasisinin;

Adı, Soyadı:

Tarih:

Tel:

İmzası:

Açıklamaları yapan araştıracının; Adı, Soyadı:

Tarih:

İmzası:

Rıza alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş:

Görevlisinin Adı, Soyadı:

Tarih:

İmzası:

**Akciğer Kanserinde Metabolik Polimorfizmin İlaç Rezistansındaki
Rolü
ANKET FORMU**

1. Adı Soyadı :
.....
2. Yaşı :
.....
3. Cinsiyeti : E ☐ K ☐
4. Kilosu , Boyu :
.....
5. Doğum Yeri :
.....
6. Yaşadığınız Yerler (İLİ, İLÇESİ , KÖYÜ , SÜRESİ)
- 1).....
.....
- 2).....
.....
- 3).....
.....
- 4).....
.....
7. Meslek :
.....
- Meslekte Çalışma Süresi (Yıl Olarak) :
.....

Bundan Önce Çalıştığınız İş ve İşyerleriniz ?

.....

.....

.....

.....

.....

8. Sigara İçme Alışkanlığınız ;

Hiç İçmedim ☐ Halen İçiyorum ☐ Eskiden İçiyordum ☐

Günde Paket / Yıl Bırakalı Yıl Oldu

9. Bulunduğunuz Ortamda (Ev / İş)

Sigara İçiliyor ☐ Sigara İçilmiyor ☐

10. Alkol Kullanıyor musunuz ?

Evet ☐ Hayır ☐

Hangi Sıklıkta :.....

11. Kahve İçme Alışkanlığınız Var mı ?

Var ☐ Yok ☐

Günde 1 Bardak ☐ Günde 2 Bardak ☐ 3 ve Daha Fazla ☐

14. Başka Sağlık Sorunlarınız Var mı ?

Var ☐ Yok ☐

Neler ?.....

12. Aile Bireylerinizde ve Sizde Herhangi bir Genetik Hastalık Var mı ?

(Şeker Hastalığı, Kanser gibi)

Nedir ?.....

13. Son Bir Yıldır Kullandığınız İlaçlar (Vitamin dahil) Nelerdir, Ne Kadar Süredir Alıyorsunuz ?

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

14.Beslenme Alışkanlığınız? (En Fazla Tercih Edilene 1 PUAN olmak üzere, En Aza Doğru 1’den 5’e kadar Numara Veriniz)

Et haşlama ☐ Izgara ☐ Kızartma ☐ Sebze ☐
Meyve ☐

TEŞEKKÜRLER



Hasta takip formu ise daha sonra tarafımızdan doldurulmuştur.

“Akciğer kanserinde metabolik polimorfizmin ilaç rezistansındaki rolü”
çalışması

HASTA TAKİP FORMU

Ad ve Soyad:

Yaş:

Cinsiyet:

Sigara Öyküsü:

Tanı:

Tanı Tarihi:

Tanı Yöntemi:

Evre:

Tedavi:

Tedavi sırasında kullanılan mukolitik ajan adı:

Tedavi Yanıtı:

Yanıt Süresi:

Ölüm Tarihi veya Son Kontrol Tarihi:

Genotipleme Sonucu:

GSTT1:

GSTM1:

GSTP1:

3.2.1.2.Kemoterapi protokolleri

Çalışmaya alınan bütün hastalar platin bazlı yani cisplatin veya carboplatin içeren tedavi almışlardır. Hastalara verilen ilaçlar aşağıdaki dozlarda ve intravenöz olarak uygulanmıştır:

Gemsitabin- cisplatin kombinasyonunda;

1.gün cisplatin ($80\text{mg}/\text{m}^2$), gemsitabin ($1250\text{ mg}/\text{m}^2$) , 8.gün gemsitabin ($1250\text{ mg}/\text{m}^2$),

Dosetaksel- cisplatin kombinasyonunda;

cisplatin ($75\text{ mg}/\text{m}^2$), dosetaksel ($75\text{ mg}/\text{m}^2$),

Vinorelbin- cisplatin kombinasyonunda;

1.gün cisplatin ($80\text{mg}/\text{m}^2$), vinorelbin ($30\text{ mg}/\text{m}^2$) , 8.gün vinorelbin ($30\text{ mg}/\text{m}^2$),

Paklitaksel-carboplatin kombinasyonunda;

1.gün paklitaksel ($225\text{ mg}/\text{m}^2/2$) , carboplatin 5 AUC (Glomerüler Filtrasyon Hızı + 25)mg., 8. gün paklitaksel ($225\text{ mg}/\text{m}^2/2$),

Etoposid - cisplatin kombinasyonunda;

1. gün cisplatin ($80\text{ mg}/\text{m}^2$), etoposid ($100\text{ mg}/\text{m}^2$) verilir. 2. ve 3. gün yalnız etoposid aynı dozlarda tekrarlanır.

Bu dozlar bir kürde uygulanan miktarlarıdır. Çalışmamızdaki hastalar 21 gün arayla en az iki veya daha fazla kür tedavi almışlardır. DSÖ kriterlerine göre yapılan radyolojik değerlendirmeleri 2. kür sonrası yapılmaya başlanmıştır.

3.2.1.3. DSÖ Kriterleri (Akciğer kanseri tedavi sonrası radyolojik değerlendirme)

TAM YANIT

Radyolojik olarak tüm semptomlar ortadan kalkmıştır.

KISMİ YANIT

Tümör büyüklüğü %50 ve üzerinde azalmıştır.

STABİL HASTALIK

Mevcut lezyon %25'ten az büyüme %50'den az küçülme göstermektedir.

PROGRESYON

Yeni lezyon oluşumu veya mevcut lezyonda %25 veya üzeri artma söz konusudur.

3.2.2.1. DNA İzolasyonu

Kan (yaklaşık 7 ml) örnekleri, bireylerin onayı alındıktan sonra çalışmanın yapıldığı hastane şartlarında alındı. Kan alma ve gerekli formların doldurulması işlemleri tamamlandıktan hemen sonra örnekler soğuk zincir şartlarında laboratuvarımıza getirildi. Kan örneklerinde metabolik genotipleme için DNA izolasyonuna hemen başlandı. Metabolik genotipleme için lenfositlerden Miller ve ark.'larının (1988) yöntemine göre yapılmış olan kit kullanılarak hazırlanan DNA, kullanılıncaya kadar derin dondurucuya -20⁰C' ye kaldırılmıştır. Her bir genin polimorfik bölge analizinde PCR reaksiyonu için optimum

koşullar belirlendi. Her bir polimorfik bölgenin PCR yöntemi ile çoğaltılması için spesifik primerler ve RFLP için spesifik kesim enzimleri kullanıldı.

3.2.2.2. DNA Safılık ve Miktar Tayini

İzole edilen DNA miktarlarının tayini için Miller ve ark'larının (1988) yöntemine göre hazırlanmış olan kit kullanılarak ve üretici firmanın belirttiği basamaklar takip edilerek her bir DNA çözeltisi 1' e 20 oranında seyreltildi (5µl çözelti+95µl distile su). Seyreltik DNA çözeltileri Hazırlandıktan sonra spektrofotometrede 260nm dalga boyunda verdikleri absorbanlar, aşağıda ifade edilen formüle göre saptanarak içerdikleri DNA miktarı µg/ml olarak belirlendi.

$$\text{DNA miktarı (}\mu\text{g/ml)} = A_{260} \times d \times l \times 50$$

Bu formülde;

A_{260} : 260nm dalga boyunda spektrofotometrede okunan değer,

d: Seyreltme faktörü,

l: Spektrofotometre küvetinin uzunluğu,

50: Sabit değer

Spektrofotometrede 260nm' de okunan absorban değerinin 280nm' de okunan absorban değerine bölünmesi ile de DNA çözeltilerinin saflıkları tespit edildi. 1,7 ile 2,0 arasındaki değerlere sahip olan DNA' ların yeterli saflıkta izole edildiği saptandı.

3.2.3. Genotiplerin belirlenmesi

3.2.3.1. GSTM1 ve GSTT1 genotiplerinin belirlenmesi

GSTM1 ve GSTT1 genotipleri multipleks PCR yöntemi kullanılarak Abdel-Rahman ve ark' larının (1996) belirttiği şekilde saptanmıştır.

30 µl toplam reaksiyon karışımı; 3µl 10X PCR tamponu (100mM Tris-HCl pH 9.0 25⁰C, 500 mM KCl), 1.6mM MgCl₂, 200µmol dNTP karışımı, 50 pmol GSTM1 primerleri sense-ileri (5'-GAA CTC CCT GAA AAG CTA AAG C-3') ve antisense-geri (5'-GTT GGG CTC AAA TAT ACG GTG G-3'), 75 pmol GSTT1 primerleri sense-ileri (5'-TTC CTT ACT GGT CCT CAC ATC TC-3') ve antisense-geri (5'-TCA CCG GAT CAT GGC CAG CA-3'), 50 pmol internal kontrol olarak CYP1A1 primerleri sense-ileri (5'-GAA CTG CCA CTT CAG CTG TCT-3') ve antisense-geri (5'-CAG CTG CAT TTG GAA GTG CTC-3'), 0.75 Ünite DNA *Taq* polimeraz ve 0.8 µg DNA içermektedir.

PCR koşulları şöyle oluşturulmuştur; 95⁰C' de 2 dakikalık ilk denatürasyonu takiben 35 PCR döngüsü erime (94⁰C 2 dakika), yapışma (59⁰C 1 dakika) ve sentez (72⁰C 2 dakika). Reaksiyon 72⁰C' de 10 dakikalık son bir sentez basamağı sonrasında tamamen durdurulmuştur. GSTM1, GSTT1 ve CYP1A1 genlerinin çoğaltılması sonucu oluşan PCR ürünleri %2' lik etidiyum bromür içeren %3' lük Nusieve agaroz jelde elektroforez edilmiştir. CYP1A1'i gösteren 312 bç bandı her zaman mevcuttur. PCR reaksiyonunun başarılı olup olmadığının belirlenmesinde internal kontrol olarak kullanılmıştır.

GSTM1' i gösteren 215 bç ve GSTT1'i gösteren 480 bç bantlarının varlığı ve yokluğu araştırılmıştır.

3.2.3.2. GSTP1 *İle105Val* mutasyonunun belirlenmesi

GSTP1 genindeki *İle105Val* mutasyonu, PCR ve RFLP yöntemleri kullanılarak yapılmıştır (Park ve ark., 1999). 30 µl toplam reaksiyon karışımı; 3µl 10X PCR buffer (100mM Tris-HCl pH 9.0 25⁰C, 500 mM KCl), 1.2mM MgCl₂, 100µmol dNTP karışımı, 25 pmol GSTP1 primerleri sense-ileri (5'-AAT ACC ATC CTG CGT CAC CT-3') ve antisense-geri (5'-TGA GGG CAC AAG AAG CCC CTT -3'), 0.75 U DNA *Taq* polimeraz (Promega Corporation, Madison, WI, USA)ve 0.6 µg DNA içerir.

PCR koşulları şu şekilde oluşturulmuştur: 95⁰C' de 2 dakikalık 1 PCR döngüsünü takiben, 40 PCR döngüsü erime (94⁰C 30 saniye), yapışma (58⁰C 30 saniye) ve sentez (72⁰C 30 saniye).

GSTP1 genine ait PCR ürünü (568 bç) %2' lik etidiyum bromür içeren %3' lük Nusieve agaroz jelde elektroforez edilmiştir. GSTP1 genindeki *İle105Val* mutasyonunu belirlemek için PCR reaksiyonunu sonrası 55⁰C' de 16 saat 2.5 U *BsmAI* enzimi ile kesilmiştir. Sonrasında yapılan elektroforetik analizde 305 ve 138 bç' lik iki bant *İle₁₀₅/İle₁₀₅* genotipini, 305, 222 ve 138 bç' lik üç bant *İle₁₀₅/Val₁₀₅* genotipini, 222 ve 138 bç' lik iki bant ise *Val₁₀₅/Val₁₀₅* genotipini göstermektedir.

3.2.4. Kullanılan İstatistiksel Yöntem

GST genotipleri ile kemoterapiye yanıtların arasındaki ilişki, kemoterapiye yanıt veren ve vermeyen genotiplerin, yaş, cinsiyet ve evresi arasındaki ilişkiler Ki-kare veya Fischer exact testi ile analiz edilmiştir. Genotiplerin sağkalım ile ilişkileri için Kaplan Meier testi kullanılmıştır. Log rank metodu ile değerlendirilmiştir. Değerlendirmelerde $p < 0,05$ değeri, anlamlı olarak kabul edilmiştir. Hesaplamalarda SPSS programının 13.0 sürümü kullanılmıştır.



4. BULGULAR

4.1.Hasta özellikleri

KHOAK'lı 67 hastanın cinsiyet, histoloji ve evre olarak genel dağılımı Çizelge 4.1.'de görülmektedir. Bu hastaların bireysel özellikleri bakımından yaş, cinsiyet, histoloji, evre, GSTM1, GSTT1, GSTP1 genotip durumları, kemoterapilerinde kullanılan ilaçlar, kemoterapiye yanıtları ve sağkalım süreleri Çizelge 4.2.'de gösterilmektedir. Çalışmaya alınan KHOAK'lı 67 hastadan 26'sı (% 39) kemoterapiye yanıt vermiş, 41'i ise (% 61) yanıt vermemiştir.

Çizelge 4.1. Hastaların Cinsiyet, Histoloji ve Evre Dağılımı

	Hasta Sayısı
Toplam	67
Kadın	6
Erkek	61
Histoloji	
Epidermoid CA	31
Adeno CA	21
Sınıflandırılmamış	15
Evre	
III	28
IV	39

Çizelge 4.2. Küçük Hücreli Olmayan Akciğer Kanserli Hastaların Özellikleri

Sıra No	Ad	Yaş	Cinsiyet	Histoloji	Evre	M1	T1	P1	Kemoterapiye Yanıt	Sağkalım Süresi(ay)	İlaç Rejimi
1	AT	73	erkek	epidermoid	4	-	+	ile/val	YV ^a	°	Etopozid + Cisplatin
2	EK	62	erkek	epidermoid	3	+	-	ile/val	YV	9	Paklitaksel + Carboplatin
3	ZS	47	kadın	adeno	3	-	+	ile/val	YV	°	Etopozid + Cisplatin
4	AD	64	erkek	epidermoid	3	-	+	ile/ile	YV	°	Etopozid + Cisplatin
5	HG	56	kadın	epidermoid	4	+	-	ile/val	YV	°	Etopozid + Cisplatin
6	RA	43	erkek	sınıflandırılmamış	4	+	+	ile/ile	YV	21	Paklitaksel + Cisplatin
7	AK	69	erkek	sınıflandırılmamış	4	-	-	ile/val	YV	°	Vinorelbin + Cisplatin
8	VS	44	erkek	sınıflandırılmamış	4	-	-	ile/ile	YV	°	Vinorelbin + Cisplatin
9	SB	45	erkek	adeno	3	-	+	ile/ile	YV	18	Gemsitabin + Cisplatin
10	ÖY	64	erkek	epidermoid	3	-	+	ile/val	YV	12	Paklitaksel + Carboplatin
11	HK	48	erkek	epidermoid	4	-	-	ile/val	YV	19	Paklitaksel + Carboplatin
12	NU	49	erkek	adeno	4	+	+	ile/ile	YV	°	Paklitaksel + Carboplatin
13	İA	46	erkek	epidermoid	4	-	+	ile/ile	YV	°	Etopozid + Cisplatin
14	SY	49	erkek	sınıflandırılmamış	3	+	+	ile/val	YV	°	Etopozid + Cisplatin
15	ŞC	56	erkek	epidermoid	4	-	+	ile/val	YV	22	Paklitaksel + Cisplatin
16	EE	52	kadın	adeno	3	+	+	ile/val	YV	18	Vinorelbin + Cisplatin
17	ZE	51	erkek	adeno	4	-	+	ile/ile	YV	19	Vinorelbin + Cisplatin
18	MK	62	erkek	sınıflandırılmamış	3	-	-	ile/val	YV	°	Paklitaksel + Cisplatin
19	MB	52	erkek	adeno	4	-	-	ile/ile	YV	°	Etopozid + Cisplatin
20	HA	65	erkek	epidermoid	4	+	+	ile/ile	YV	17	Etopozid + Carboplatin
21	AÇ	54	erkek	adeno	4	+	-	val/val	YV	18	Paklitaksel + Cisplatin

22	YH 44	erkek	epidermoid	3	-	+	ile/val	YV	19	Paklitaksel + Carboplatin
23	MK 53	erkek	sınıflandırılmamış	4	-	+	ile/val	YV	18	Etopozid + Cisplatin
24	NC 61	erkek	adeno	4	-	+	ile/ile	YV	c	Gemsitabin + Cisplatin
25	YH 54	erkek	sınıflandırılmamış	3	-	-	ile/ile	YV	c	Etopozid + Cisplatin
26	TS 48	erkek	epidermoid	4	+	+	ile/ile	YV	c	Vinorelbin + Cisplatin
27	MB 66	erkek	epidermoid	4	+	-	ile/val	YM ^b	13	Paklitaksel + Carboplatin
28	NY 65	kadın	adeno	3	+	+	ile/val	YM	c	Paklitaksel + Carboplatin
29	AB 55	erkek	epidermoid	4	+	+	ile/val	YM	c	Paklitaksel + Cisplatin
30	EU 71	erkek	sınıflandırılmamış	3	-	+	ile/ile	YM	c	Vinorelbin + Cisplatin
31	MD 64	erkek	sınıflandırılmamış	4	-	+	ile/ile	YM	8	Paklitaksel + Cisplatin
32	RG 42	erkek	epidermoid	4	+	+	ile/val	YM	c	Cisplatin + Etopozid
33	YK 68	erkek	epidermoid	4	+	+	ile/ile	YM	c	Gemsitabin + Cisplatin
34	HY 66	erkek	epidermoid	4	-	+	val/val	YM	c	Paklitaksel + Carboplatin
35	AY 66	erkek	adeno	4	-	+	ile/ile	YM	c	Etopozid + Cisplatin
36	ÖÖ 63	erkek	epidermoid	3	+	+	ile/ile	YM	c	Etopozid + Cisplatin
37	HH 54	erkek	sınıflandırılmamış	3	-	+	val/val	YM	7	Gemsitabin + Cisplatin
38	LD 66	erkek	epidermoid	4	-	-	ile/val	YM	11	Paklitaksel + Carboplatin
39	RB 71	erkek	sınıflandırılmamış	4	+	+	ile/ile	YM	c	Etopozid + Cisplatin
40	NE 58	erkek	epidermoid	3	-	+	val/val	YM	22	Paklitaksel + Cisplatin
41	İY 61	erkek	epidermoid	3	-	+	val/val	YM	5	Etopozid + Cisplatin
42	ÖÖ 63	erkek	epidermoid	3	+	-	ile/ile	YM	9	Etopozid + Cisplatin
43	LB 58	erkek	sınıflandırılmamış	4	-	-	ile/ile	YM	16	Etopozid + Cisplatin
44	HN 53	erkek	adeno	4	+	+	ile/ile	YM	13	Etopozid + Cisplatin
45	ŞC 42	erkek	adeno	3	+	+	ile/ile	YM	23	Gemsitabin + Cisplatin
46	CA 61	erkek	epidermoid	3	-	-	ile/val	YM	24	Etopozid + Cisplatin

47	EN	55	erkek	epidermoid	4	+	+	ile/ile	YM	18	Etopozid + Cisplatin
48	TA	45	erkek	sınıflandırılmamış	4	-	-	ile/ile	YM	10	Gemsitabin + Cisplatin
49	AA	70	erkek	epidermoid	3	-	-	ile/val	YM	c	Etopozid + Cisplatin
50	AK	44	erkek	epidermoid	3	+	+	ile/ile	YM	18	Etopozid + Cisplatin
51	NE	59	kadın	adeno	4	-	-	ile/val	YM	c	Pakitaksel + Carboplatin
52	ŞK	59	erkek	adeno	3	+	+	ile/val	YM	c	Etopozid + Cisplatin
53	MD	64	erkek	adeno	4	+	+	ile/ile	YM	32	Dosetaksel + Cisplatin
54	DT	39	erkek	epidermoid	3	-	-	ile/ile	YM	5	Gemsitabin + Cisplatin
55	KÇ	60	erkek	adeno	4	-	-	val/val	YM	c	Etopozid + Cisplatin
56	MŞ	58	erkek	epidermoid	3	-	+	ile/ile	YM	c	Dosetaksel + Cisplatin
57	RT	44	kadın	adeno	4	-	-	ile/val	YM	18	Gemsitabin + Carboplatin
58	SÖ	49	erkek	epidermoid	3	-	+	ile/ile	YM	c	Etopozid + Cisplatin
59	AT	55	erkek	adeno	3	+	+	ile/ile	YM	7	Etopozid + Cisplatin
60	İY	68	erkek	sınıflandırılmamış	4	+	+	ile/val	YM	c	Etopozid + Cisplatin
61	DK	63	erkek	epidermoid	4	-	+	ile/ile	YM	14	Vinorelbin + Cisplatin
62	RK	75	erkek	epidermoid	3	-	-	val/val	YM	10	Etopozid + Cisplatin
63	İP	70	erkek	sınıflandırılmamış	4	-	+	ile/val	YM	9	Etopozid + Cisplatin
64	MV	51	erkek	epidermoid	3	+	+	ile/val	YM	c	Etopozid + Cisplatin
65	MÖ	49	erkek	adeno	4	+	+	ile/ile	YM	29	Dosetaksel + Cisplatin
66	NÇ	64	erkek	adeno	4	-	-	val/val	YM	15	Dosetaksel + Cisplatin
67	YK	43	erkek	adeno	4	+	-	ile/ile	YM	14	Etopozid + Cisplatin

^a YV: Kemoterapiye yanıt veren (Kısmi yanıt + Tam yanıt)

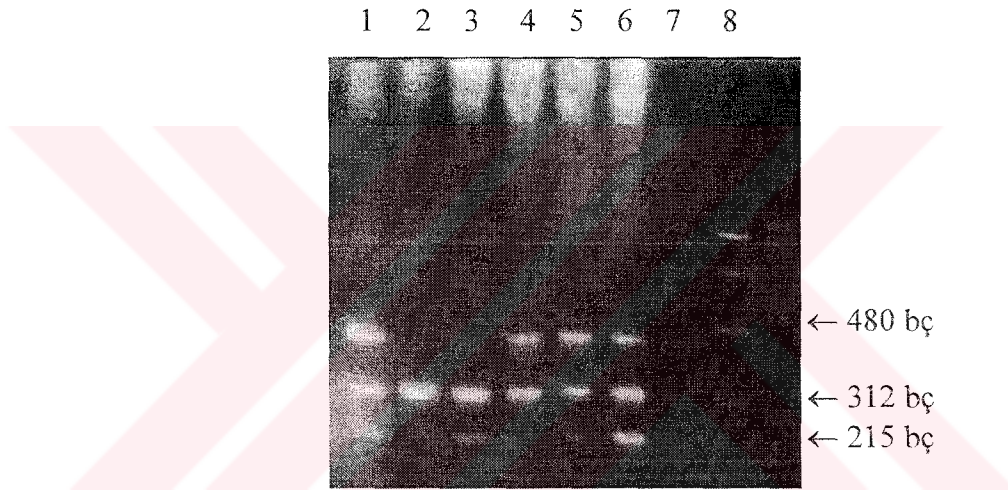
^b YM: Kemoterapiye yanıt vermeyen (Stabil + Progresyon)

^c hastaya ulaşılamadı

4.2. Genotip bulguları

4.2.1. GSTM1 genotip bulguları

67 kişilik KHOAK hasta grubunda GSTM1 geni taşıyan hastaların sayısının 28 (% 42) , taşımayan hastaların sayısının da 39 (% 58) olarak saptanmıştır. Hasta grubuna ait GSTM1 gen dilisyon sonuçları Çizelge 4.2.'de gösterilmiştir. GSTM1 genotipine ait jel elektroforez sonucu Şekil 4.1.'de gösterilmiştir.



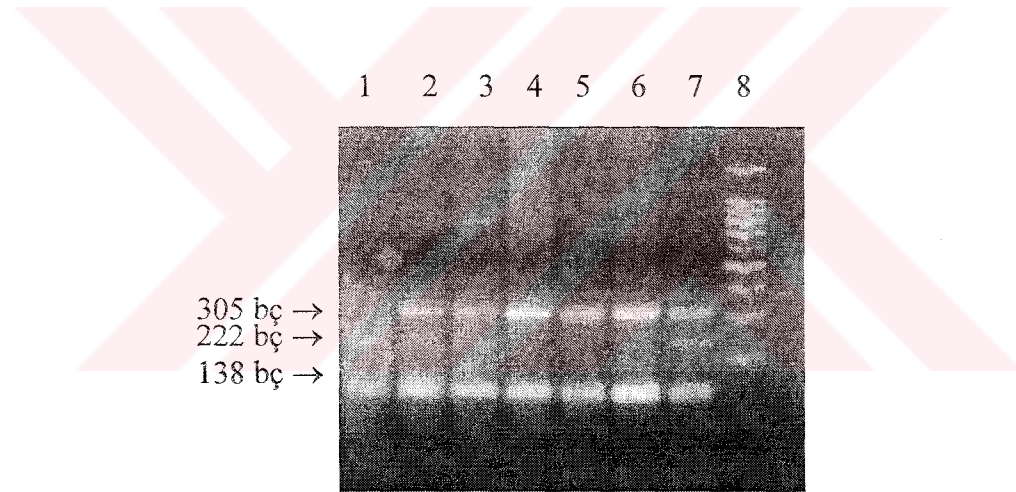
Şekil 4.1. GSTM1 ve GSTT1 genotiplerine ait jel elektroforez sonucu:

- 1.,5., 6. sütunlar; 215 bç' lik bant GSTM1 genotipini, 480 bç' lik bant GSTT1 genotipini, 312bç 'lik bant internal kontrol olan CYP1A1'i,
2. sütun; GSTM1 ve GSTT1 dilisyonunu, 312bç 'lik bant internal kontrol olan CYP1A1'i,
3. sütun; 215 bç' lik bant GSTM1 genotipini, 312bç 'lik bant internal kontrol olan CYP1A1'i,
4. sütun; 480 bç' lik bant GSTT1 genotipini, 312bç 'lik bant internal kontrol olan CYP1A1'i,
7. sütun; boş kontrol sütununu,
- 8.sütun; 100 bç' lik DNA markeri göstermektedir.

4.2.2. GSTT1 genotip bulguları

67 kişilik hasta grubunda GSTT1 genini taşıyan hastaların sayısı 43 (% 64), bu geni taşımayan hastaların sayısı da 24 (% 36) olarak saptanmıştır. Hasta grubuna ait GSTT1 gen dilisyonlarının sonuçları Çizelge 4.2.'de gösterilmiştir. GSTT1 genotipine ait jel elektroforez sonucu Şekil 4.1.'de gösterilmiştir.

4.2.3. GSTP1 *İle105Val* genotip bulguları



Şekil 4.2. GSTP1 *İle105Val* genotipine ait jel elektroforez sonucu:

- 1.sütun; 138 ve 222 bç' lik iki bant *Val₁₀₅/Val₁₀₅* genotipini,
- 2.,3. ve 7. sütun; 138, 222 ve 305 bç' lik üç bant *İle₁₀₅/Val₁₀₅* genotipini,
- 4., 5. ve 6. sütun; 138 ve 305 bç' lik iki bant *İle₁₀₅/İle₁₀₅* genotipini,
- 7. sütun; 100 bç' lik DNA markeri göstermektedir.

67 kişilik KHOAK'li hasta grubunda GSTP1 *Ile*₁₀₅/*Ile*₁₀₅ (yabanıl tip) genotipe sahip bireylerin sayısı 33 (% 49), *Ile*₁₀₅/*Val*₁₀₅ (heterozigot) genotipe sahip bireylerin sayısı 26 (% 39) ve *Val*₁₀₅/*Val*₁₀₅ (homozigot mutant) genotipe sahip bireylerin sayısı 8 (%12) olarak saptanmıştır. Hasta grubuna ait GSTP1 *Ile*₁₀₅*Val* gen polimorfizm sonuçları Çizelge 4.2.'de gösterilmiştir.İle 105 val genotipine ait jel elektroforez sonuçları Şekil 4.2.'de gösterilmiştir.

4.3.GST genotiplerinin kemoterapi yanıtıyla ilişkisi

Tekli GST genotipine göre hastaların kemoterapiye verdiği yanıtlar değerlendirilmiştir. Sonuçları Çizelge 4.3.'te görülmektedir.İkili GST genotip kombinasyonlarının sonuçları Çizelge 4.4.'te, üçlü GST genotip kombinasyonlarının sonuçları ise Çizelge 4.5.'te görülmektedir. GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 genini taşıyan ve taşımayan hastaların kemoterapi yanıtları farklılık göstermemektedir. GSTP1 geninin mutant olup olmadığı da kemoterapi yanıtını etkilememektedir. GSTP1 val/val homozigot mutant genini taşıyan hastalar, GSTP1 ile/val heterozigot hastalarla bir arada değerlendirildiğinde de yanıtlarda anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

Çizelge 4.3. Tekli GST Genotip Durumuna Göre
Kemoterapide Alınan Yanıtlar

		Kemoterapiye Yanıt		
Genotip		YV ^a	YM ^b	p değeri ^c
M1	-	17	22	p > 0.05
	+	9	19	
T1	-	9	15	p > 0.05
	+	17	26	
P1	ile/ile	12	21	p > 0.05
	ile/val	13	13	
	val/val	1	7	

^a Yanıt Veren(Tam Yanıt + Kısmi Yanıt)

^b Yanıt Vermeyen(Stabil Hastalık + Progresyon)

^c Ki – kare testi kullanılmıştır

Çizelge 4.4. İkili GST Genotip Kombinasyonlarına Göre Kemoterapide Alınan Yanıtlar

Genotipler				Kemoterapiye Yanıt		
				YV ^a	YM ^b	p değeri ^c
M1	-	T1	-	6	11	
			+	11	11	
	+	T1	-	3	4	
			+	6	15	
M1	-	P1	ile/ile	8	9	
			ile/val	9	6	
			val/ val	0	7	
	+	P1	ile/ile	4	12	
			ile/val	4	7	
			val/ val	1	0	
T1	-	P1	ile/ile	3	6	
			ile/val	5	6	
			val/ val	1	3	
	+	P1	ile/ile	9	15	
			ile/val	8	7	
			val/ val	0	4	

^a Yanıt Veren(Tam Yanıt + Kısmi Yanıt)

^b Yanıt Vermeyen(Stabil Hastalık + Progresyon)

^c Ki-kare ve Fischer Exact test kullanılmıştır

Çizelge 4.5. Üçlü GST Genotip Kombinasyonlarına Göre Kemoterapide Alınan Yanıtlar

Genotipler				Kemoterapiye Yanıt		
M1	T1			YV ^a	YM ^b	p değeri ^c
-	-	P1	ile/ile	3	3	p > 0.05
			ile/val	3	5	
			val/ val	0	3	
	+	P1	ile/ile	5	6	p > 0.05
			ile/val	6	1	
			val/ val	0	4	
+	-	P1	ile/ile	0	3	p > 0.05
			ile/val	2	1	
			val/ val	1	0	
	+	P1	ile/ile	4	9	p > 0.05
			ile/val	2	6	
			val/ val	0	0	

^a Yanıt Veren(Tam Yanıt + Kısmi Yanıt)

^b Yanıt Vermeyen(Stabil Hastalık + Progresyon)

^c Ki-kare testi kullanılmıştır.

4.4.Kanserin evresi ile GST genotipi ve kemoterapi yanıtı ilişkisi

Hastaların yaş, cinsiyet ve kanserin evresi de değerlendirilmiştir. Kemoterapiye gerek yanıt veren gerek yanıt vermeyen GST genotiplerinin yaş, cinsiyet ve hastalığın evresi ile anlamlı bir

ilişkilerinin olmadığı görülmüştür ($p>0,05$). Çizelge 4.6. evre ile GST genotipleri ve kemoterapi yanıtları arasındaki ilişkiyi göstermektedir. İstatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmemiştir($p>0,05$).

Çizelge 4.6. Hastalık Evrelerine Göre GST Tiplerinin Yanıt Durumu

Evre			YV ^a	YM ^b	p değeri ^c
3	M1	+	3	8	$p > 0.05$
		-	7	10	
4		+	6	11	$p > 0.05$
		-	10	12	
3	T1	+	7	13	$p > 0.05$
		-	3	5	
4		+	10	13	$p > 0.05$
		-	6	10	
3	P1	ile/ile	7	5	$p > 0.05$
		ile/val	3	9	
		val/val	0	4	
4		ile/ile	6	8	$p > 0.05$
		ile/val	9	12	
		val/val	1	3	

^a Yanıt Veren(Tam Yanıt + Kısmi Yanıt)

^b Yanıt Vermeyen(Stabil Hastalık + Progresyon)

^c Ki-kare testi kullanılmıştır

4.5. GST Genotiplerinin Kemoterapi Yanıtı ve Sağkalım ile İlişkisi

Çizelge 4.7.'de GST genotiplerinin sağkalım süresine etkileri gösterilmiştir. GST genotiplerinin sağkalım süresine etkmediği

saptanmıştır ($p>0,05$). Çizelge 4.8.'de hastalardan sağ kalan ve ölenlerin sayıları ve GST genotipleri verilmiştir. Sağ kalanlar üzerine GST genotipinin etkili olmadığı bulunmuştur($p>0,05$). Çizelge 4.9.'da da kemoterapiye yanıt, GST genotipi ve sağkalım süreleri arasında anlamlı bir ilişki saptanamamıştır ($p>0,05$).



Çizelge 4.7. GST Genotiplerinin Sağkalım Süresine Etkileri

GST Genotipleri	Hasta Sayısı	Sağkalım Süresi(ay)(ort.± SH)	Yaşam Aralıkları (ay)	p değeri ^a
M1	21	16 ±2	13 - 19	
	15	21 ±3	16 - 27	p > 0.05
T1	15	19 ±3	13 - 25	
	21	21 ±2	16 - 25	p > 0.05
P1	18	20 ±3	15 - 25	
	12	18 ±2	15 - 22	
	6	12 ±3	8 - 18	p > 0.05

SH: Standart Hata

^a log-rank yöntemi ile hesaplanmıştır.

Çizelge 4.8. GST Genotiplerinin Sağkalım Durumları İle İlişkisi

Genotip	Sağ Kalan	Ölen	p değeri ^a
M1 -	13	14	p > 0.05
+	16	7	
T1 -	10	6	p > 0.05
+	19	15	
P1 ile/ile	16	9	p > 0.05
ile/val	8	10	
Val/val	5	2	

^a Log-rank yöntemiyle hesaplanmıştır.

Çizelge 4.9. Kemoterapiye Yanıtın GST Genotipi ve Sağkalım Süresiyle İlişkisi

Kemoterapiye Yanıt	Genotip	Sağkalım Sür.(ay) (ort.± SH)	p değeri ^a
YV	M1	-	
		20 ±1	
	+	19 ±3	p > 0.05
	T1	-	
		15 ±3	
	+	20 ±1	p > 0.05
YM	P1	ile/ile	
		20 ±1	
	ile/val	19 ±2	
	val/val	-	p > 0.05
	M1	-	
		14 ±4	
	+	21 ±4	p > 0.05
	T1	-	
		18 ±3	
	+	19 ±3	p > 0.05
	P1	ile/ile	
		20 ±3	
	ile/val	16 ±3	
	val/val	11 ±3	p > 0.05

YV: Yanıt Veren(Tam Yanıt + Kısmi Yanıt)

YM: Yanıt Vermeyen(Stabil Hastalık + Progresyon)

SH: Standart Hata

^a log-rank yöntemi ile hesaplanmıştır

5.TARTIŞMA

Akciğer kanseri özellikle erkeklerde Türkiye’de ve dünyada görülen en sık kanser türü olup kanserden ölümlerde birinci sırada yer almaktadır. Akciğer kanserli hastaların üçte ikisi ameliyat edilemeyen lezyonlara sahiptirler. Bu hastalara en ağır kemoterapi uygulansa dahi çoğu bir yıl içinde ölmektedir. Özellikle kanser olgularının % 80-85’ini oluşturan küçük hücreli olmayan akciğer kanserli hastalarda kemoterapiye yanıt % 30-50 gibi çok düşük düzeydedir (Bai ve ark., 1995; Giovino, 202; Rosell ve ark., 2004). Bu nedenle bu tip hastalarda kemoterapinin başarılı olmamasının nedenlerinin araştırılması son derece önem arz etmektedir.

Bu bağlamda son zamanlarda ilaç rezistansı mekanizmaları üzerindeki çalışmalar oldukça yoğunluk kazanmış ve kanser hücrelerinin kemorezistansında çeşitli faktörlerin rol oynadığı saptanmıştır. Bunlar arasında glutatyon S-transferazlar (GST) ler önemli faktörlerden birisidir (Clapper ve ark., 1987; Wolf ve ark., 1987; Oguri ve ark.,2000). GST’ler II. Faz reaksiyonlarını katalizleyen dimerik yapıda bir süper aile olup hücrel savunma sisteminde önemli rol oynarlar. GST’ler toksik ve karsinogenik elektrofilik moleküllerin glutatyon ile konjugasyonunu katalizleyerek hücrel makromolekülleri hasarlardan korurlar (Boyer ve Kenney, 1985). Artan veriler GST’lerin çeşitli kemoterapik ilaçların sitotoksik etkisini belirlediğini göstermektedir (Nakagawa ve ark., 1988, Hoban ve ark., 1992). GST’lerin 6 alt ailesi vardır. Bunlar GST Alfa GSTA, Pi GSTP, Mu GSTM, Teta GSTT, Sigma GSTS ve Zeta GSTZ ‘dır (Board ve ark., 1997).

GSTP’ye bağlı ilaç rezistans mekanizmasının temelinde GSTP’nin
a) antineoplastik ajanların GSH ile konjugasyonunu sağlayarak

detoksifiye etmesi, b) antineoplastik ajanlara e doğrudan bağlanarak inaktive etmesi, c) lipid peroksitleri azaltması ve d) DNA peroksit düzeyini ve DNA onarımını azaltması yatmaktadır (Ban ve ark., 1996).

Akciğer kanseri tedavisinde platin bileşiklerine karşı oluşan rezistans karşılaşılan önemli bir problemdir. GSTP'nin cisplatinyum toksisitesi üzerindeki etkisini ise en azından iki farklı mekanizmayla değiştirdiği ileri sürülmektedir; 1) Cisplatinin doğrudan GSH ile bağlanmasına aracılık ederek onun kritik hedef olan DNA'ya ulaşmasını engelleyerek, 2) P latin toksisitesini toksik bifonksiyonel addakt (katım ürünü) oluşumu öncesindeki basamak olan DNA-Pt mono katım ürünü GSH ile onararak yapmaktadır (Eastman, 1987). GSH-platinyum kompleksinin oluşumu cisplatinin hücrel metabolizmasının önemli bir kısmı olarak kabul edilmektedir. Bu kompleksin tümör hücrelerinden eliminasyonunun, hücre içi platin birikimini azaltması yönünde, önemli bir mekanizma olduğu bildirilmektedir (Ishikawa ve Ali-Osman, 1993). Tümör hücrelerinden GSH-platin kompleksinin eliminasyonunda ATP'ye bağımlı glutatyon S-konjugat pompasının rol oynadığı ileri sürülmektedir (Ishikawa, 1992).

GSTP1 insan akciğerinde en fazla ekspres edilen izozimdir. GSTM1 ve GSTT1 izozimleri de daha az olmak üzere akciğerde ekspres edilmektedirler (Anttila ve ark., 1993; Cantlay ve ark., 1994). GSTP1'in küçük hücreli olmayan akciğer tümörlerinde en fazla ekspres edilen GST olduğu da bildirilmektedir (Howie ve ark., 1990). İlaç rezistansı gösteren tümörlerin GSTP1 düzeylerinin yüksek olduğu saptanmıştır (Tuschida ve Sato, 1992). Bunlar arasında özellikle küçük hücreli olmayan akciğer tümörleri dikkati çekmektedir (Hida ve ark. 1993, Bai ve ark., 1996; Arai ve ark., 2000, Oguri ve ark., 2000). Özellikle platin bileşiklerinin detoksifikasyonuna GSTP1'nin doğrudan katılmakta olduğu ve platin bileşiklerine karşı gelişen gerek intrinsik ve gerekse kazanılmış

rezistansta önemli rol oynadığı ileri sürülmektedir (Ban ve ark., 1996; Goto ve ark., 1999).

Ancak platin rezistansının GSTP1 'ye bağlı olmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (Miyara ve ark., 1996; Unsal ve ark., 2003). Benzeri çelişkili sonuçlar over kanserleri için de bildirilmektedir.(Hamaga ve ark., 1994; van der Zee ve ark., 1995). GSTP1 ekspresyonu ile platin bileşiklerine karşı rezistans arasındaki ilişkinin her zaman gösterilememesinin nedenlerinden biri ve önemlisi GSTP1 geninin polimorfik oluşu olabilir. GSTP1 geninin polimorfik olduğu bilinmektedir. GSTP1 genindeki 2 mutasyondan birinde (Ile 105 Val) 313'ün pozisyonda tek nükleotidin yer değiştirmesi (A-G) sonucunda izolösin yerini valine bırakmakta ve enzim aktivitesi düşmektedir (Watson ve ark., 1998). Heterozigotlarda ise enzim aktivitesi orta düzeyde kalmaktadır.

Ayrıca GSTM1 ve GSTT1'in de akciğer dahil birçok kanserlerin oluşumunda ve tedaviye yanıtta etkili olabileceği bildirilmektedir (Hengster ve ark., 1998; Stucker ve ark., 2002; Sorensen ve ark., 2004). GSTM1 ve GSTT1 genleri de polimorfik olup bu genlerin eksikliği enzim aktivitelerinin yokluğuna neden olmaktadır (London ve ark., 2000).

Son zamanlarda akciğer kanserli hastalarda GST polimorfizmleri ile sağ kalım süreleri arasında ilişkiyi irdeleyen çalışmalar başlamıştır. Ancak bu çalışmalar da alınan sonuçlar çelişkilidir. Goto ve ark. ları (1996) ile Przygodzki ve ark.'ları (1998) küçük hücreli olmayan akciğer kanserli hastalarda GSTM1 polimorfizminin sağ kalım süresini etkilemediğini saptarken Ge ve ark.'ları (1996) GSTM1- genotipine sahip hastaların sağ kalım sürelerinin GSTM1+ olanlara göre daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Benzer hasta grubunda Yang ve ark'ları (2002) ile Sweeneey ve ark'ları (2003) GSTM1, GSTT1 ve GSTP1

polimorfizmleri ile sağ kalım süreleri aralarındaki ilişkiyi irdelediklerinde ilk grup GSTM1 polimorfizmin etkisini gözlemezken ikinci grup GSTM1- genotipine sahip hastaların sağ kalım süresinin GSTM1+ genotipine sahip olanlardan daha düşük olduğunu belirlemiştir. Her iki grup diğer polimorfizmlerin sağ kalım ile ilişkisini görememişlerdir. Diğer taraftan meme (Sweeney ve ark., 2000), lösemi (Alan ve ark., 2001) ve kolon (Stoehlmacher ve ark., 2002) kanserlerinde GSTP1 Val/Val homozigot mutant genine sahip hastaların kemoterapiye karşı sağ kalım sürelerinin yabanıl Ile/Ile genine sahip olanlardan daha uzun oldukları gösterilmiştir.

Akciğer kanserleri ile yapılan çalışmaların kurgularındaki farklılar (örneğin kemoterapi alımı ve hasta sayıları gibi) alınan sonuçlarını da farklılaştırmış olabilir. Ayrıca bu çalışmalar da kemoterapi almış hastaların ilaç rejimleri olmayıp kemoterapiye karşı alınan yanıtları da saptanmamıştır. Dolayısıyla bu GST'lerin polimorfik oluşlarının tek başlarına veya birlikte özellikle küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde platin bazlı yapılan kemoterapiye karşı alınan yanıtlarla ilişkileri ve bunlarla sağ kalım süreleri arasında ilişkinin olup olmadığı, bildiğimiz kadatı ile ilk kez çalışılmaktadır.

Bu çalışmada GSTP1 105 Val variant aleline sahip olan homozigot ve heterozigot hastaların cisplatine dayalı kemoterapiye verdikleri yanıtların yabanıl tip genotipine sahip olanlardan anlamlı olarak farklı olmadığı gözlenmektedir. Bunun yansıması olarak kısıtlı sayıda (n=31) ulaşılabilen yaşayan hastaların sağ kalım sürelerinin de GSTP1 polimorfizminden etkilenmediği görülmektedir. Genotip ile sağ kalım süresi arasındaki ilişkinin olmadığını gösteren bulgumuz Ge ve ark.'ları (1996) ile Sweeney ve ark.'larının (2003) bulgularına benzerlik göstermektedir.

GSTP1 cisplatinyum veya carboplatine yanısıra etoposid, klorombusil, melfalan ve adriomisine karşı da direnç oluşturmaktadır (Nakagawa ve ark., 1988; Ban ve ark., 1996). Dolayısıyla 105 Val alellin yararlı etkisi sadece tek bir ilaca, örneğin cisplatin karşı alınan yanıtta değil bu ilaçları içeren kombinasyonlara karşı alınabilecek yanıt için de geçerlidir. Ancak bunların dışındaki ilaç (örneğin 5-Florourasil) veya diğer ilaç kombinasyonları ile yapılan kemoterapideki yararı o ilaçların GSTP1 tarafından detoksifiye edildiği gösterilene kadar belirsiz kalacaktır. Bu çalışmada elde edilen sonuçların kolon, meme ve lösemi çalışma sonuçlarından farklılıklarının nedenleri a) bu çalışmada irdelenen hasta sayısını azlığı b) farklı tümör tiplerinde farklı direnç mekanizmalarının baskın oluşları ve c) farklı kanser tiplerinde farklı kemoterapi rejimlerinin uygulanması olabilir. Ayrıca kemoterapiye gerek yanıt veren ve gerekse yanıt vermeyen GSTP1 genotiplerin yaş, cinsiyet ve hastalığın evresi ile anlamlı bir ilişkilerinin olmadığı da belirlenmiştir. Benzeri ilişki eksikliği, GSTP1 ekspres eden küçük hücreli olmayan tümör hücrelerinde (Bai ve ark., 1996) ve kolon kanserinde de gösterilmiştir (Stoehlmacher ve ark., 2002).

Bu çalışma GSTM1 ve GSTT1 polimorfizmlerinin cisplatine dayalı kemoterapi alan küçük hücreli olmayan akciğer kanserli hastaların yanıtlarına etkmediğini göstermektedir. Bu veriler bildiğimiz kadarı ile ilk kez elde edilmiştir. Bu GST polimorfizmleri ve genotipe göre kemoterapiye yanıt veren veya vermeyenler ile sağ kalım süreleri arasında ilişkinin olmadığı da bu çalışmada gösterilmiştir. Bu çalışmada elde edilen GSTM1 genotipi ile sağ kalım arasındaki ilişki eksikliği bulgusu Goto ve ark.'ları (1996) ile Przygodzki ve ark.'larının (1998) bulgularıyla uyumlu ve Ge ve ark.'larının (1996) bulgularıyla uyumsuzdur. GSTT1 genotipinin sağ kalım üzerine etkisinin olmadığını gösteren bulgumuz ise Yang ve ark.'ları (2002) ile Sweneey ve

ark.'larının (2003) bulgularına paralellik göstermektedir. GSTMI ve GSTT1 polimorfizmlerinin küçük hücreli olmayan akciğer kanserli hastalarda kemoterapiye yanıtlarına etkili olmayışlarının bir nedeni akciğerde az miktarda ekspres edilmeleri olabilir. Benzeri bulgu platin bazlı tedavi alan kolon kanserli hastalarda da saptanmıştır (Stoehlmacher ve ark., 2002). Akciğerde olduğu gibi bu enzimlerin ekspresyonlarının kolon tümörlerinde de az olduğu ve buna karşın GSTP1 ekspresyonunun çok olduğu bildirilmektedir (Moscow ve ark., 1989). Diğer taraftan bu GST'lerin cisplatine dayalı ilaçların etkinliğinde ne kadar belirleyici rol aldığı konusunda da yeterli veri yoktur. Sıçanda GST Mu'nun cisplatine karşı rezistans gösterdiği gösterilmiştir (Puchalski ve Fahl, 1990). Ancak bunların insan GSTM1'sinin substratları olduğu gösterilmemiştir. İlaveten GSTT1'in de cisplatinyumu detoksifiye etmedeki rolü bilinmemektedir. Ancak bu iki GST de lipid peroksitlerin inaktivasyonunda görev alabilmektedirler (Ketterer ve Meyer, 1989; Ketterer ve Mulder, 1990). Dolayısıyla bu GST'lerin alkilleyici ajanların sitotoksik etkilerini bu yolla gidererek rezistans oluşturmada katkıda bulunabilecekleri düşünülebilir. Ancak bu çalışma bunun geçerli olmadığı izlenimini vermektedir.

GSTM1, GSTP1 ve GSTT1 genotiplerin ikili ve üçlü kombinasyonlarının birlikte kemoterapik yanıt ve sağ kalım süresine etkileri irdelendiğinde de anlamlı etki görülmemiştir. Bu GST genotip kombinasyonları ile sağ kalım süreleri arasındaki ilişki eksikliği daha önce de gözlenmiştir (Yang ve ark., 2002). GSM1 ve GSTT1 genotip kombinasyonunun sağ kalım süresi üzerine etkisinin olmadığı kolon kanserinde de gösterilmiştir (Stoehlmacher ve ark., 2002). Oysa glioma kanserli hastalarda M1 geninin (M1-) P1 ile birlikte nitrozoüre alkilleyicilerini içeren kemoterapiye karşı alınan yanıtları arttırdığı ve sağ kalım sürelerini uzattığı bildirilmektedir.(Okcu ve ark., 2004).

Dolayısıyla, kemoterapide uygulanan ilaçlara karşı alınan yanıtlar üzerinde GST polimorfizminin etkileri farklı tümör tipine, ve uygulanan kemoterapi rejimine bağlı olarak, değişebilmektedir.



6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak bu çalışma küçük hücreli olmayan akciğer kanserli hastalarda;

a- GSTM1, GSTP1 (Ile 105 Val) ve GSTT1 polimorfizmlerinin tek başlarına veya birlikte platin bazlı kemoterapiye yanıtı ve yaşam süresini değiştirmediğini ve

b- kemoterapiye gerek yanıt veren ve gerekse yanıt vermeyen genotiplerin yaş, cinsiyet ve hastalığın evresi ile anlamlı bir ilişkilerinin olmadığını ortaya koymaktadır.

Öneriler:

Hasta sayısının artırılması ve farklı histolojik tümör tiplerinin platin bazlı kemoterapiye yanıtlarının irdelenmesi konusunun daha kapsamlı ortaya konması açısından yararlı olabilir.

ÖZET

Akciğer Kanserinde Metabolik Polimorfizmin İlaç Rezistansındaki Rolü

Akciğer kanseri özellikle erkeklerde Türkiye’de ve dünyada görülen en sık kanser türlerinden olup Türkiye’de kanserden ölümlerde birinci sırada yer almaktadır. Kanser olgularının % 80-85’ini oluşturan küçük hücreli olmayan akciğer kanserli hastalarda kemoterapiye yanıt % 30-50 gibi çok düşük düzeydedir. Bu nedenle bu tip hastalarda kemoterapinin başarılı olmamasının nedenlerinin araştırılması son derece önemlidir.

Akciğer kanser hücrelerin özellikle platin bileşiklerine karşı kemorezistansında çeşitli faktörler arasında glutatyon S-transferazlar (GST)lerin önemli rol oynadığı saptanmıştır. GST’lerdeki bazı polimorfizmler enzim aktivitesinin, kemoterapiye duyarlılığın ve hastanın yaşam süresinin değişmesine neden olabilmektedir. Bu çalışmada platin bazlı kemoterapi alan küçük hücreli olmayan 67 (61 erkek ve 6 kadın) akciğer kanserli hastanın GST alt ailelerinden GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 gen polimorfizmleri ile kemoterapiye yanıtları ve yaşam süreleri ile ilişkileri araştırılmıştır. Genetik polimorfizmler lenfosit DNA’sı kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu ve restriksiyon parçası uzunluk yöntemiyle belirlenmiştir. GSTM1 ve GSTT1 dilisyonları ve GSTP1 ile 105 Val polimorfizmleri ile kemoterapiye karşı alınan yanıtlarla ve yaş, cinsiyet ve evre gibi faktörler arasındaki ilişkiler ki-kare veya Fischer’in exact testi ile yapılmıştır. GST polimorfizmleri ile yaşam süreleri arasındaki ilişki Kaplan-Meier testi ile log rank metodu kullanılarak belirlenmiştir. Platin bazlı kemoterapiye genelde hastaların % 39’unun yanıt verdiği ve % 61’inin ise yanıt vermediği saptanmıştır. Kemoterapiye gerek yanıt veren ve gerekse yanıt vermeyen genotiplerin yaş, cinsiyet ve hastalığın evresi ile anlamlı bir ilişkilerinin olmadığı bulunmuştur ($p>0.05$). GSTM1, GSTP1 (ile 105 Val) ve GSTT1 polimorfizmlerinin gerek tek başlarına ve gerekse ikili ve üçlü birlikteliğinin platin bazlı kemoterapiye yanıtı ile yaşam süresi üzerine anlamlı olarak etkisinin olmadığı saptanmıştır ($p>0.05$).

Sonuç olarak bu çalışma GST’lerin polimorfizmlerinin küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde klinik olarak platin bazlı kemoterapiye karşı alınan yanıtı ve yaşam süresini değiştirmediğini ortaya koymaktadır.

Anahtar sözcükler : Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri, platin bileşikleri, ilaç rezistansı, genetik polimorfizm, Glutatyon S-transferaz.

SUMMARY

The Role of Metabolic Polymorphism in Drug Resistance in Lung Cancer

Cancer of the lung is the most common tumor in humans especially in man and ranka in the first place from cancer deaths in the Turkey and world. The response to chemotherapy for patients with non-smal cell lung cancer which accounts for 80-85% of all lung cancers, is poor, only 30-50 %. Thus, the investigation of the possible reasons behind this fenomenan is utmost importance.

The chemoresistance of lung cancer cells especially against platinum compounds is influenced by several factors including Glutathione S-transferases (GST)s. Certain polymorphisms in GSTs are associated with changes in enzyme activity, sensitivity to chemotherapy and overall patient survival. In this study the associations between the polymorphismsm in genes for several GST subclasses (GSTM1, GSTP1 and GSTT1) and response to chemotherapy and survival of the 67 (61 men and 6 women) patients with non-small cell carcinoma have been investigated. Lymphocyte DNA was used for PCR-RFLP based genotyping. Associations between deletion polymorphisms in GSTM1 and GSTT1 gene and GSTP1 (Ile 105 Val) gene and response to chemotherapy and age, sex and stage of the cancer were evaluated with chi-square test or Fisher's exact test. The association between GST polymorphisms and survival times were calculated by the Kaplan-Meier test and examined using the log rank method. Overall 39% of the patients responded whereas 61% of the patients did not respond to the platinum based chemotherapy. No significant associations were noted between responsive or non responsive genotypes and age, sex and grade of the cancer ($p>0.05$). The polymorphisms of GSTM1, GSTP1 (Ile 105 Val) and GSTT1 either alone or combinations did not significantly influence the responses to platinum based chemotherapy and survival times ($p>0.05$).

In conclusion, this study shows that the polymorphisms GSTs do not modify the response to platinum based chemotherapy and survival times in non-small cell lung carcinomas.

Key Words: Non-small cell lung carcinoma, platinum compounds , drug resistance, genetic polymorphism, glutathione S-transferase.

KAYNAKLAR

- AKIYAMA S., CHEN Z.S., SUMIZAWA T., FURUKAWA T. (1999). Resistance to cisplatin. *Anticancer Drug Design*; 14, 143-147.
- ALLAN JM, WILD CP, ROLLINSON S, WILLETT EV, MOORMAN AV, DOVEY GJ. (2001). Polymorphism in glutathione S-transferase P1 is associated with susceptibility to chemotherapy-induced leukemia. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 98: 11592-11597.
- ANTTILA S, HIRVONEN A, VAINIO H, HUSGAFVEL-PURSIAINEN K, HAYES JD, KETTERER B. (1993). Immunohistochemical localization of glutathione S-transferases in human lung. *Cancer Res.*, 53: 5643-5648.
- ARAI T, YASUDA Y, TAKAYA T, HAYAKAWA K, TOSHIMA S, SHIBUYA C, KASHIKI Y, YOSHIMI N, SHIBAYAMA M. (2000). Immunohistochemical expression of glutathione transferase-pi in untreated primary non-small-cell lung cancer. *Cancer detect prevent*, 24: 252-257.
- BAI F, NAKANISHI Y, KAWASAKI M, TOKOYAMA K, YATSUNAMI J, PEI XH, TSURUTA N, WAKAMATSU K, HARA N. (1996). Immunohistochemical expression of glutathione S-transferase -Pi can predict chemotherapy response in patients with nonsmall cell lung carcinoma. *Cancer*, 78: 416-421.
- BAN N, TAKAHASHI Y, TAKAYAMA T, KURA T, KATAHIRA T, SAKAMAKI S, NIITSU Y. (1996). Transfection of glutathione S-transferase (GST) -Pi antisense complementary DNA increases the sensitivity of a colon cancer cell line to adriamycin, cisplatin, melphalan, and etoposide. *Cancer, Res* 56: 3577-3582.
- BLACKBURN, A.C., WOOLLAT, E., SUTHERLAND, G.R., BOARD, P.G. (1998). Characterization and chromosome location of the gene GSTZ1 encoding the human zeta class glutathione transferase and maleylacetoacetate isomerase. *Cytogenet. Cell Genet.*, 83,1-2, 109-114.
- BOARD PG, BAKER RT, CHELVANAYAGAM G, JERMIIN LS. (1997). Zeta, a novel class of glutathione transferases in a range of species from plants to humans. *Biochem, J* 328: 929-935.

- BOYER TD, KENNEY WC. (1985). Preparation, characterization and properties of glutathione S-transferases. In: *Biochemical Pharmacology and Toxicology*, Eds Vessey ZD, John Wiley & Sons, New York.
- BOYLAND E, CHASSEAUD LF. (1969). The role of glutathione and glutathione S-transferases in mercapturic acid biosynthesis. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol.*;32:173-219.
- CANTFORD JV, GIEGELEN J. (1975). Organ specificity of aryl hydrocarbon hydroxylase induction by cigarette smoker in rats and mice. *Biol. Pharm* 24, 1253-56.
- CANTLEY AM, SMITH CA, WALLACE WA, YAP PL, LAMB D, HARRISON DJ. (1994). Heterogeneous expression of and polymorphic genotype of glutathione S-transferase in human lung. *Thorax*, 49: 1010-1014
- CASSERETT AND DOULL'S TOXICOLOGY, (1991). fourth ed. New York: Pergamon Press.
- CHASSEAND L.F. (1979). The role of glutathione and glutathione S-transferases in the metabolism of chemical carcinogenes and other electrophilic agent. *Adv. Canc. Res.* 29:176-274.
- CLAPPER MI, BULLER AL, SMITH TM, TEW KD. (1987). Glutathione S-trasferase in alkylating agent resistant cells. In: *Glutathione S-transferases and carcinogenesis*, Eds Mantle TJ, Pickett CB, Hayes JD, Taylor and Francis, London, 213-224.
- ÇOBAN T. (1994) Meme dokusu karsinomalarında antioksidan enzim aktivitelerinin araştırılması. Doktora tezi. Ankara Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- D'INCALEI M., BONFANTI M., PIFFERI A. (1998). The antitumour activity of alkylating agents is not correlated with the levels of glutathione, glutathione transferase and O6-alkylguanine-DNA alkyltransferase of human tumour xenografts. *Eur. J. Cancer*, 34, 1749-1755.
- EASTMAN A. (1987). Glutathione-mediated activation of anticancer platinum(IV) complexes. *Biochem Pharmacol.*, Dec 1;36(23):4177-8.
- GANDY, J., PRIMIANO, T., NOVAK, F., KELCE, W.R., YORK, J.L. (1996). Differential expression of glutathione S-transferase isoforms in compartments of the testis and segments of the epididymis of the rat. *Drug. Metab. Dispos.* 24(7), 725-733.

- GARTE S., GASPARI L., ALEXANDRIE A.K. (2001). Metabolic gene polymorphism frequencies in control populations. *Cancer Epidemiol. Biomark Prev.*, 10, 1239-1248.
- GE H, LAM WK, LEE J, WONG MP, YEW WW, LUNG ML. (1996). Analysis of L-myc and GSTM1 genotypes in Chinese non-small cell lung carcinoma patients. *Lung Cancer* 15: 355-366.
- GILLHAM, B. (1973). The mechanism of reaction between glutathione and 1-menaphthyl sulphate catalysed by a glutathione S-transferase from rat liver. *Biochem. J.*, 135, 797-804.
- GIOVINI GA. (2002). Epidemiology of tobacco use in the United States. *Oncogene* 21: 7326-7340.
- GOTO I, YONEDA S, YAMAMOTO M, KAWAJIRI K. (1996). Prognostic significance of germ line polymorphisms of the CYP1A1 and glutathione S-transferase genes in patients with non-small cell lung cancer. *Cancer Res* 56: 3725-3730.
- GOTO S, LIDA T, CHO S, OKA M, KOHNO S, KONDO T. (1999). Overexpression of glutathione S-transferase pi enhances the adduct formation of cisplatin with glutathione in human cancer cells. *Free Radic Res.* 31: 549-558.
- GÜNEŞ B. (2003). Farmalist, 1. Baskı, Antineoplastikler.
- HABIG, W. H., PABST, M. J., JAKOBY, W. B. (1974). Glutathione-S-transferase. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.*, 249, 7130-7139.
- HABIG, W.H., PABST, M.J., JAKOBY, W.B.. (1976). Glutathione S-transferases AA from rat liver. *Arch. Biochem. Biophys.*, 175, 710-716.
- HAMAGA SI, KAMADA M, FURUMOTO H, HIRAO T, AONO T. (1994). Expression of glutathione S-transferase -pi in human ovarian cancer as an indicator of resistance to chemotherapy. *Gynecol Oncol*, 52: 313-319.
- HAMILTON T.C., LAI G.M., ROTHENBERG M.L.. (1989). Mechanism of resistance to cisplatin and alkylating agents. *In Drug Resistance in Cancer Therapy*, Ozols R.E (ed.), Kluwer; Boston, MA. 151-163.
- HENGSTER JG, ARAND M, HERRERO ME, OESCH F. (1998). Polymorphisms in N-acetyltransferases, glutathione S-transferases,

microsomal epoxide hydrolase and sulfotransferases: influence on cancer susceptibility. *Recent Results Cancer Res.*, 154: 47-85.

HASTÜRK S., YÜKSEL M. Akciğer Kanseri (2000) 6. bölüm.

HIDA T, KUWABARA M, ARIYOSHI Y, TAKAHASHI T, SUGUIRA T, HUSUDA K. (1994). Serum glutathione S-transferase –Pi level as a tumor marker for non-small cell lung cancer. Potential predictive value in chemotherapeutic response. *Cancer*, 73: 1377-1382.

HOBAN PR, ROBSON CN, DAVIES SM, HALL AG, CATTAN RA, HICKSON ID. (1992). Reduced topoisomerase II and elevated alpha class glutathione S-transferase expression in a multidrug resistant CHO cell line highly cross-resistant to mitomycin C. *Biochem Pharmacol*, 43:685-693.

HOSSFELD D.K., SHERMAN CD., LOVE R.R., BOSCH F.X. (1990). Manual of Clinical Oncology de., 5th ed., Springer-Verlag, New York.

HOWIE AF, FORRESTER LM, GLANCEY MJ, SCHLAGER JJ, POWIS G, BECKETT GJ. (1990). Glutathione S-transferase and glutathione peroxidase expression in normal and tumor human tissues. *Carcinogenesis*, 11: 451-458.

ISHIKAWA T. (1992). The ATP-dependent glutathione S-conjugate export pump. *Trends Biochem Sci.*, Nov;17(11):463-8.

ISHIKAWA T, ALI-OSMAN F. (1993). Glutathione-associated cis-diamminedichloroplatinum(II) metabolism and ATP-dependent efflux from leukemia cells. Molecular characterization of glutathione-platinum complex and its biological significance. *J.Biol Chem.*, Sep 25;268(27):20116-25.

JAKOBY, W.B. (1978). The glutathione-S-transferases, A group of multifunctional detoxification proteins. *Adv Enzymol.* 46, 383-414.

JAKOBY, W.B., HABIG. W.H., KEEN. J.H., KETLEY. J.N., PABST, M.J. (1976). Glutathione S-Transferases: *Catalytical aspects in glutathione: Metabolism and function.*, Ed.: Arias, I.M. and Jakoby, W.B. Raven Press. New York, p.: 189.

JAKOBY. W.B., KETTERER. B., MANNERVIK. B. (1984). Glutathione Transferases: Nomenclature. *Biochem. Pharmacol.*, 33(16), 2539-2540.

- JENSSON, H., GUTHENBERG. C, AIM. P., MANNERVIK. B. (1986). Rat glutathione transferases 8-8, on enzyme efficiently defoxifying 4-hydroxyalk-2-enals. *FEBS Lett.*, 203, 207-209.
- KAYAALP, S.O. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmokoloji. (2000). 9.Baskı, Antineoplastikler.
- KETTERER B, MEYER DJ. (1989). Glutathione transferases: a possible role in the detoxication and repair of DNA and lipid hydroperoxides. *Mutat Res.*, Sep;214(1):33-40.
- KETTERER. B., MULDER, G.J. (1990). Glutathione conjugation. *Conjugation Reactions in Drug Metabolism*, Mulder G.J. Taylor and Francis, London, New York-Philadelphia, p.: 308-364.
- KUTLUK T., KARS A. (1992). *Kanser konusunda genel bilgiler*. Turk kanser araştırma ve savaş, kurumu yayını. Ankara.
- LAWRENCE M., TIERNEY, JR., STEPHEN J. MCPHEE, MAXINE A. PAPADAKIS. (1998). *Current, Medical Diagnosis & Treatment 37th Edition*.Chapter 9.
- LISTOWSKY, I., ROWE, J.D., PATSKOVSKY, Y.V., TCHAIKOVSKAYA, T., SHINTANI, N., NOVIKOVA, E., NIEVES, E. (1998). Human testicular glutathione S-transferases: insights into tissue-specific expression of the diverse subunit classes. *Chemico-Biological Interactions*. 111-112, 103-112.
- LONDON SJ, YUAN JM, CHUNG FL, GAO YT, COETZEE GA, ROSS RK. (2000). Isothiocyanates, glutathione S-transferase M1 and T1 polymorphisms, and lung cancer risk: a prospective study in Shanghai, China. *Lancet*, 356: 724-729.
- MANNERVIK, B., DANIELSON, U.H. (1988). Glutathione transferases structure and catalytic activity. *CRC Crit. Rev. Biochem.*, 23(3), 283-337.
- MANNERVIK B. (1987). The roles of different classes of glutathione in the detoxication of reactive products of oxidative metabolism. *Chem. Scr.* 27A:121-123.
- MANNERVIK. B., GUTHENBERG. C, JENSSON. H., TAHIR. M.K. (1984). Warholm. Alin. P. Species and tissue differences in the occurence of isoenzymes of glutathione transferase. *IUPHAR, Proceeding*, 3,225-230.

- MANNERNVIK, B., JENSSON. H. (1982). Binary combinations of four protein subunits with different catalytic specificities explain the relationship between six basic glutathione-S-transferases in rat liver cytosol. *J.Biol. Chem.*, 257, 9909-9914.
- MANTLE I.J., PICKETT C.B., HAYES J.D. (1987). Eds. Glutathione-S-transferases and carcinogenesis. Taylor and Francis. London.
- MEIJER C, MULDER N.H., Timmer-Bosscha H. (1992). Relationship of cellular glutathione to the cytotoxicity and the resistance of seven platinum compounds, *Cancer Res.*, 52 , 6885-6890.
- MIYARA H, HIDA T, NISHIDA K, TAKAHASHI T, SUGIURA T, ARIYOSHI Y, MORISHITA M, TAKAHASHI T, UEDA R. (1996). Modification of chemo-radiosensitivity of a lung cancer cell line by introduction of the glutathione S-transferase pi gene. *Jpn J Clin Oncol*, 26: 1-5.
- MOLDEUS P., QUANGUAN J. (1987). Importance of the glutathione cycle in drug metabolism. *Pharmacol. Ther.* 33:37-40.
- MOSCOW J.A., FAIRCHILD C.R., MADDEN M.J. (1989). Expression of anionic glutathione S-transferase and P-glycoprotein genes in human tissues and tumors. *Cancer Res.*, 49, 1422-1428.
- NAKAGAWA K, YOKOTA J, WADA M, SASAKI Y, FUJIWARA Y, SAKAI M, MURAMATSU M, TERASAKI T, TSUNOKAWA Y, TERADA M, SAIJO N. (1988). Levels of glutathione S-transferase Pi mRNA in human lung cancer cell lines correlate with the resistance to cis-platin and carboplatin. *Jpn J Cancer Res (Gann)*, 79: 301-304.
- OGURI T, FUJIWARA Y, KATOH O, DAGA H, ISHIKAWA N, FUJITAKA K, YAMASAKI M, YOKOZAKI M, ISOBE T, ISHIOKA AI, YAMAKIDO M. (2000). Glutathione S-transferase- Pi gene expression and platinum drug exposure in human lung cancer. *Cancer Lett*, 156: 93-99.
- OKCU MF, SELVAN M, WANG LE, STOUT L, ERANA R, AIREWELE G, ADATTO P, HESS K, ALI-OSMAN F, GROVES M, YUNG AW, LEVIN VA, WEI Q, BONDY M. (2004). Glutathione S-transferase polymorphisms and survival in primary malignant glioma. *Clin Cancer Res.*, Apr 15;10(8):2618-25.

- PABST, M.J., HABIG. W.H., JAKOBY. W.B. (1973). Mercapturic acid formation: the several glutathione transferases of rat liver. *Biochem Biophys. Res. Commun.*, 52, 1123-1128.
- PARKIN D.M., LAARA E., MUIR C.S. (1988). Estimates of the worldwide frequency of sixteen major cancers in 1980. *Int. J. Cancer*, 41, 184-197.
- PRZYGODZKI RM, BENNETT WP, GUINEE DG JR, KHAN MA, FREEDMAN A, SHIELDS PG, TRAVIS WD, JETT JR, TAZELAAR H, PAIROLERO P, TRASTEK V, LIOTTA LA, HARRIS CC, CAPORASO NE. (1998). p53 mutation spectrum in relation to GSTM1, CYP1A1 and CYP1E1 in surgically treated patients with non-small cell lung cancer. *Pharmacogenetics* 8:503-511.
- PUCHALSKI RB, FAHL WE. (1990). Expression of recombinant glutathione S-transferase pi, Ya, or Yb1 confers resistance to alkylating agents. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1990 Apr;87(7):2443-7.
- REED D.J. (1990). Glutathione toxicological implications. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 30:603-631.
- REED D.J., FARRIS M.W. (1984). Glutathione depletion and susceptibility. *Pharmacol. Rev.*, 36:255-230.
- RICHARDSON GE, JOHNSON BE. (1993). The biology of lung cancer. *Semin Oncol*, 20: 105.
- ROBBINS, KUMAR, COTRAN. (1995). *Temel Patoloji 2*. Baskı, neoplazi.
- ROSELL R, FELIP E, GARCIA-CAMPELO R, BALAFIA C. (2004). The biology of non-small-cell lung cancer: identifying new targets for rational therapy. *Lung Cancer* 46: 133-148.
- SCANLON K.J., KASHANI-SABET M., MIYACHI H. (1989). Molecular basis of cisplatin resistance in human carcinomas: model systems and patients. *Anticancer Res.*, 9, 1301-136.
- SLEBOS RJ, HRUBAN RH, DALESIO O. (1991). Relationship between K-ras oncogene activation and smoking in adenocarcinoma of the human lung. *J Natl Cancer Inst.*, 83: 1024.
- SNYDER, M.J., MADDISON, D.R. (1997). Molecular phylogeny of glutathione-S-transferases. *DNA Cell Biol.*, 16, 1373-1384.

- SORENSEN M, AUTRUP H, TJONNELAND A, OVERVAD K, RAASCHOU-NIELSEN O. (2004). Glutathione S-transferase T1 null-genotype is associated with an increased risk of lung cancer. *Int J Cancer*, 110: 219-224.
- SPURZEM JR, RENNARD SI, ROMBERGER DJ. (1997). Bombesin-like-peptides and airway repair: a recapitulation of lung development. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 16: 209.
- STOEHLMACHER J, PARK DJ, ZHANG W, GROSHEN S, TSAO-WEI DD, YU MC, LENZ HJ. (2002). Association between glutathione S-transferase P1, T1, and M1 genetic polymorphism and survival of patients with metastatic colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst*, 94. 936-942.
- STUCKER I, HIRVONEN A, DE WAZIERS I, CABELGUENNE A, MITRUNEN K, CENEE S, KOUM-BESSON E, HEMEON D, BEAUNE P, LORIOT MA. (2002). Genetic polymorphisms of glutathione S-transferases as modulators of lung cancer susceptibility. *Carcinogenesis*, 23: 1475-1481.
- SWEENEY C, MCCLURE GY, FARES MY, STONE A, COLES BF, THOMPSON PA, KORORIAN S, HUTCHINS LF, KADLUBAR FF, AMBROSON CB. (2000). Association between survival after treatment for breast cancer and glutathione S-transferase P1 Ile¹⁰⁵ Val polymorphism. *Cancer Res*, 60: 5621-5624.
- SWEENEY C, NAZAR-STEWART V, STAPLETON PL, EATON DL, VAUGHAN TL. (2003). Glutathione S-transferase M1, T1, P1 polymorphisms and survival among lung cancer patients. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 12:527-533.
- T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI KANSER SAVAŞ. DAİRESİ BAŞKANLIĞI VERİLERİ (1999). Basılmamış veri.
- TRAKSHEL GM, MAINES MD. (1988). Characterization of glutathione S-transferases in rat kidney. Alteration of composition by cis-platinum. *Biochem J*. May 15;252(1):127-36.
- TSUCHIDA S, SATO K. (1992). Glutathione transferases and cancer. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 27. 337-384.
- UNSAL M, AKPOLAT I, KANDEMİR B. (2003). Glutathione-S transferase-pi expression in non small cell lung cancer in the assessment of response to chemotherapy. *Saudi Med J* 24: 493-498.

- VAN DER ZEE AGJ, HOLLEMA H, SUURMAIJER AJH, KRANS M, SLUITER WJ, WILLEMSE PHB. (1995). Value of P-glycoprotein, glutathione S-transferase pi, c-erbB-2, and p53 and prognostic factors in ovarian carcinomas. *J Clin Oncol*, 13: 70-78.
- WARHOLM, M., JENSSON, H., TAHIR, M.K., MANNERVIK, B. (1986). Purification and characterization of three distinct glutathione transferases from mouse liver. *Biochemistry*. 25, 4119-4124.
- WATSON MA, STEWART RK, SMITH GB, MASSEY TE, BELL DA. (1998). Human glutathione S-transferase P1 polymorphisms: relationship to lung tissue enzyme activity and population frequency distribution. *Carcinogenesis*, 19: 275-280.
- WOLF CR, LEWIS AS, CARMICHAEL J, ANSELL J, ADAMS DJ, HICKSON IJ. (1987). Glutathione S-transferase expression in normal and tumour cells resistant to cytotoxic drugs. In: *Glutathione S-transferases and carcinogenesis*, Eds Mantle TJ, Pickett CB, Hayes JD, Taylor and Francis, London, 199-212.
- www.cancersourcemd.com (2005). cisplatin.
- YANG P, YOKOMIZO A, TAZELAAR HD, MARKS RS, LESNICK TG, MILLER DL, SICAN JA, EDELL ES, MEYER RL, JETT J, LIU W. (2002). Genetic determinants of lung cancer short-term survival: the role of glutathione-related genes. *Lung Cancer* 35: 221-229.

ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler:

Ad :C. Semih
 Soyadı :Kunak
 Doğum yeri ve tarihi :Ankara 1964
 Uyruğu :T.C.
 Medeni Durumu :Evli
 Askerlik durumu :Yaptı(1993-Hakkari/Çukurca)
 İletişim adresi ve telefonu :44.Cad.457.sok.No:4/5 Çukurambar-Ankara 0312 285 41 85

Eğitimi :

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji- Toksikoloji AD (Özel Öğrenci) 1995-1996

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi (1992)

Ankara Aydınlikevler Lisesi (1981)

Ünvanları:

Tıp Doktoru (1992)

Mesleki Deneyimi:

S.B. Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Toksikoloji Ünitesi kuruluş çalışmaları (2003-)

S.B.Ankara İl Sağlık Müdür Yardımcılığı (1998-2003)

- Bulaşıcı Hastalıklar ve Bağışıklama Şube Müdürlüğünden sorumlu olarak Ankara merkez ve ilçelerinin akrep ve yılan sokmalarına karşı önlemlerin alınması.
- Ankara İlının Kimyasal ve Nükleer silahlara karşı korunma planlarının hazırlanması.
- Ulusal ve yerel radyolarla, yerel televizyonlarda “soba zehirlenmeleri”, “sigara ve zararları” konulu konuşmalar.

Bilimsel Etkinlikleri:

-“Türkiye’de ve Dünyada Hemşirelik ve Sorunları” konulu panel (Moderatör)

Diğer Bilgiler:

Alınan Eğitimler:

Spor Hekimliği ,Kalite Yönetimi ,Muhakkiklik ,657 sayılı D.M.K. ,İletişim Becerileri , Devlet İhale Kanunu ,Sağlık Ekonomisi.

Organizasyonuna Katkıda Bulunduğu Bilimsel Toplantılar:

Ankara İl Sağlık Müdürlüğü bünyesinde 400’ü aşkın bilimsel toplantı.

Diğer Üyelikleri:

- Türkiye Futbol Hakemleri Derneği
- Kırım Türkleri Derneği
- Ukrayna Dostluk Derneği