

**T.C.
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJESİ
KESİN RAPORU**

**AKCİĞER KANSERİNDE METABOLİK (GSTP1) POLİMORFİZMİNİN İLAÇ
REZİSTANSINDAKİ ROLÜ**

**Proje Yürütücüsü:
Prof. Dr. Mümtaz İşcan**

Proje No: 20060803002HPD

Başlama Tarihi: 27. 03. 2006

Bitiş Tarihi: 27. 03. 2007

Rapor Tarihi: 11. 05. 2007

**Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Ankara- 2007**

I. PROJENİN TÜRKÇE VE İNGİLİZCE ADI VE ÖZETLERİ

AKCİĞER KANSERİNDE METABOLİK (GSTP1) POLİMORFİZMİNİN İLAÇ REZİSTANSINDAKİ ROLÜ

ÖZET:

Akciğer kanseri olgularının çoğunu oluşturan küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalarda kemoterapiye yanıt oldukça düşük düzeydedir. Bu kanser hücrelerin özellikle platinyum bileşiklerine karşı kemorezistansında çeşitli faktörler arasında glutatyon S-transferazlar (GST) önemli rol oynamaktadır. GST'lerdeki bazı polimorfizmler enzim aktivitesinin değişmesine ve bu da kemoterapiye duyarlılığın ve hastanın sağ kalım süresinin değişmesine neden olabilmektedir. Örneğin GSTP1 ekzon 5 (İle104Val) ve ekzon 6 (Ala114Val) genetik polimorfizmleri bu enzimin aktivitesini azaltabilmektedir. Bu çalışmada platinyum bazlı kemoterapi alan ilerlemiş evreli (evre III ve IV) küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) 139 hastanın (127'si erkek ve 12'si kadın) GSTP1 (İle104Val ve Ala114Val) gen polimorfizmleri ile kemoterapiye yanıtları ve sağ kalım süreleri ile ilişkileri araştırılmıştır. Genetik polimorfizmi lenfosit DNA'sı kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu ve restriksiyon parçası uzunluk yöntemiyle belirlenmiştir.. Platinyum bazlı kemoterapiye genelde hastaların 42'sinin (% 30.2) yanıt verdiği ve 97'sinin (% 69.8) ise yanıt vermediği saptanmıştır. Hastalarda GSTP1 polimorfizmlerinin platinyum bazlı kemoterapiye karşı alınan yanıtı anlamlı olarak değiştirmedeği saptanmıştır. Genotiplerin kemoterapiye karşı verdikleri yanıtın yaş, cinsiyet, sigara içme durumları, uygulanan farklı ilaç rejimi, hastalığın evresi ve tümör histolojisi ile de etkilenmediği belirlenmiştir. GSTP1 ekzon 5 variant genotipine sahip hastaların sağ kalım süreleri yabancı genotipe sahip hastalardan daha uzun bulunmazken (ortanca 16 aya karşı 18 ay; p=0,814) GSTP1 ekzon 6 variant genotipine sahip hastaların sağ kalım süreleri yabancı genotipe sahip hastalardan daha uzun bulunmuştur (ortanca 22 aya karşı 16 ay; p=0,036). Düzeltilmiş çoklu regresyon Cox proportional hazard modeli de hazard oranının (hazard ratio-HR) 0,49 (% 95 Güven Aralığı (GA), 0,26-0,95, p=0,034) variant genotip ile koruyucu yönde sağ kalım süresi arasında ilişki olduğunu göstermiştir. Bu koruyucu yönde etki ekzon 5'te gözlenmemiştir (HR, 1,23; 0,68-2,22, % 95 GA, p=0,489).

Benzer analiz, her iki genotipte, kemoterapiye yanıt ile sağ kalım arasında bir ilişkinin bulunmadığını göstermiştir (ekzon 5: HR, 1,48 ; % 95 GA, 0,83-2,63, p=0,181 ve ekzon 6: HR, 1,55; 95 % GA, 0,88-2,75, p=0,132). Bu sonuçlar, ileri evreli (evre III ve IV) KHDAK'lı hastalarda GSTP1 (Ala114 Val) polimorfizminin, yanıtta bağımsız olarak, klinik sonucu etkileyen lehte bir prognostik faktör olabileceğini ortaya koymaktadır.

THE ROLE OF METABOLIC POLYMORPHISM (GSTP1Ala114Val) IN DRUG RESISTANCE IN LUNG CANCER

SUMMARY:

The response to chemotherapy of patients with non-small cell lung cancer is rather poor. 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. For example genetic polymorphisms of GSTP1 exon 5 and exon 6 appear to reduce this enzyme's activity. In this study the association between GSTP1 exon 5 (*Ile105Val*) and exon 6 (*Ala114Val*) gene polymorphisms and response to chemotherapy and survival of the 139 (127 men and 12 women) patients with advanced-stage (stages III and IV) non-small cell carcinoma have been investigated. Lymphocyte DNA was used for PCR-RFLP based genotyping. GSTP1 exon 5 and exon 6 polymorphisms did not significantly influence the responses to platinum based chemotherapy. No significant associations were noted between the responses of genotypes to chemotherapy and age, sex, smoking status, chemotherapy treatment status, tumor stage or histology. Significant survival was not observed in patients with exon 5 variant genotype (median survival of 16 months for *Ile105Val* or *Val105Val* genotype and 18 months for *Ile105Ile* genotype; $p=0.814$) whereas patients who had the exon 6 variant genotype (*Ala114Val* or *Val114Val*) had significantly better survival compared to patients who had the wild type genotype (*Ala114Ala*; $p=0.036$) with median survival of 22 months and 16 months, respectively. Multivariate analysis also revealed a reduced adjusted hazard ratio (HR) of death associated with the exon 6 variant genotype of 0.49 (95% confidence interval [95% CI], 0.26-0.95, $p=0.034$) but not with the exon 5 variant genotype (HR, 1.23; 95 % CI, 0.68-2.22, $p=0.489$). The protective association was not observed in both genotypes with the response to chemotherapy (exon 5: HR, 1.48; 95 % CI, 0.83-2.63, $p=0.181$, and exon 6: HR, 1.55; 95 % CI, 0.88-2.75, $p=0.132$). These results show that the GSTP1 *Ala114Val* polymorphism is a favourable prognostic factor that influences the clinical outcome independent of response to chemotherapy in the patients with advanced-stage (stages III and IV) non-small cell lung carcinoma.

II. AMAÇ VE KAPSAM

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 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, 2002; 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). GSTP1 insan akciğerinde en fazla ekspres edilen izozimdir (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 platinum bileşiklerine karşı gelişen gerek intrinsik ve gerekse kazanılmış rezistansta önemli rol oynadığı ileri sürülmektedir (Ban ve ark., 1996; Goto ve ark., 1999). Ancak platin bileşiklerine karşı rezistansın 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 geni, ekzon 5 ve ekzon 6 bölgesinde iki mutasyona sahiptir. Ekzon 5’de olan ilk mutasyon 105. kodonun 313. pozisyonunda izolösin aminoasitinin valin aminoasitine dönüşümü sonucunda oluşmakta olup Ile105Val olarak gösterilmektedir. Bu mutasyonu taşıyan homozigot bireylerde GSTP1 enzim aktivitesinin azaldığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Watson ve ark., 1998). Enzim aktivitesinde meydana gelen bu düşüş, ilaçların GSTP1 aracılığıyla etkisini azaltacağından, hastanın kemoterapi için verilen ilaçtan daha iyi faydalanmasını sağlayacaktır. Sonuç olarak hastaların sağ kalım süreleri uzayabilecektir. Meme (Sweeney ve ark., 2000) ve kolon (Stoehlmacher ve ark., 2002) kanserlerinde yapılan çalışmalar da GSTP1 Ile105Val mutasyonuna sahip bireylerin sağ kalım sürelerinin uzadığını göstermiştir. Ancak akciğer kanserinde bu mutasyonun hastaların sağ kalım sürelerine etkileri ile ilgili çalışmalarda çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Yang ve ark’ları (2002) anlamlı etkiyi sadece hiç sigara içmeyenlerde gözlemişlerdir. Bazı araştırmacılar ise, hastaları sigara içim durumlarına göre ayırmadan yaptıkları değerlendirmede, bu mutasyonun sağ kalım üzerine etkisinin olmadığını saptamışlardır (Sweeney ve ark., 2003). Ayrıca bu çalışmalar da kemoterapi almış hastaların hangi ilaç rejimleri ile tedavi olduklarına ait bilgiler eksik olup kemoterapiye karşı alınan yanıtları da saptanmamıştır

Ekzon 6’da oluşan ikinci mutasyon ise 114. kodonun 341. pozisyonunda alanin aminoasitinin valin aminoasitine dönüşümü sonucunda oluşmaktadır. Bu mutasyonun enzim aktivitesini ne yönde değiştirdiği ise henüz bilinmemektedir. Bildiğimiz kadarı ile bu güne kadar bu mutasyonun platin bazlı kemoterapiye yanıt ve sağ kalım süresine etkisiyle ilgili akciğer kanser hastalarında bir araştırmanın yapılmadığı görülmektedir.

Bu GSTP1 polimorfizminin mutasyonlarının tek başlarına veya birlikte küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde platin bazlı ilaçlarla yapılan kemoterapiye karşı özellikle alınan yanıtlarla ilişkileri ve bunlarla sağ kalım süreleri arasında ilişkinin olup olmadığının henüz araştırılmadığı gözlenmektedir. Bu konunun aydınlatılması ile bu tip akciğer kanserinde platin bazlı kemoterapiye yanıtta bu polimorfik genin katkısının olup olmadığı ortaya konularak kemoterapiye yanıtta markır olarak kullanılabilirliği ve sonuçta bireysel bazda etkili tedavi için farklı kemoterapi rejimlerinin uygulanmasına olanak sağlayabilmeleri açısından son derece önemlidir.

Dolayısıyla bu çalışmada sisplatin veya karboplatin gibi platin bazlı ilaçlarla tedavi gören küçük hücreli olmayan akciğer kanserli hastaların GSTP1 gen polimorfizmleri, *Ile105Val* ile *Ala114Val* mutasyonları, kemoterapiye karşı yanıtları ve sağ kalım süreleri saptanarak bu GSTP1 polimorfizmlerin tedavi ve sağ kalım süreleri üzerine etkilerinin olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

III. MATERYAL VE YÖNTEM

III.1. Hastalar

Çalışmada Ankara Atatürk Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma hastanesinde primer küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) tanısı, görüntüleme yöntemleri ve patolojik olmak üzere iki şekilde, konmuş olan ve platin bazlı kemoterapi alan, 127 erkek ve 12 kadın olmak üzere toplam 139 hastadan alınan kan örnekleri ile çalışıldı. Erkeklerin yaş ortalaması 56 ± 9 (ortalama \pm SH), kadınların yaş ortalaması $57,5 \pm 8$ (ortalama \pm SH) ve çalışmaya alınan bütün hastaların yaş ortalaması 56 ± 8 (ortalama \pm SH)'dir. Hastaların onayı alındıktan sonra, dirsek ön yüzü toplardamarlarından bir seferde 7 ml'lik kan örneği araştırma grubumuz içinde bulunan doktor gözetiminde alındı. Sonuçların ayrıntılı bir biçimde değerlendirilebilmesi için her bir bireye ait beslenme, sigara ve kahve alışkanlıkları, geçirdiği hastalıklar ve gerekli diğer bilgileri içeren bilgilendirilmiş gönüllü onay formları ve anket formları dolduruldu. Bu işlemlerden sonra, örnekler buz içinde laboratuvarımıza getirildi. Çalışma için gerekli etik kurul kararı da örneklerin alındığı Atatürk Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim Hastanesi etik kurulunda alınmıştır.

III.2. DNA izolasyonu

Kan örneklerinin metabolik genotiplemesi için lenfositlerden Miller ve ark.'nın (1988) yöntemine göre yapılmış olan kit kullanılarak hazırlanan DNA, kullanılıncaya kadar -20° C'de saklanmıştır.

III.3. GSTP1 mutasyonlarının saptanması

Her bir polimorfik bölgenin PCR yöntemi ile çoğaltılması için spesifik primerler ve RFLP için spesifik kesim enzimleri kullanılmıştır. GSTP1 genindeki (ekzon 5) *Ile105Val* mutasyonu ile (ekzon 6) *Ala114Val* mutasyonu PCR ve RFLP yöntemleri kullanılarak saptanmıştır (Park ve ark., 1999).

III.3.1. GSTP1 *Ile105Val* mutasyonunun saptanması

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 içermektedir.

PCR koşulları, 95⁰C' de 2 dakikalık 1 PCR döngüsünü takiben, 40 PCR döngüsü erime (94⁰C 30 saniye), yapışma (58⁰C 30 saniye) ve sentez (72⁰C 30 saniye)'dir. GSTP1 genine ait PCR ürünü (568 bç) %2' lik etidyum bromür ihtiva eden %3' lük Nusieve agaroz jelde elektroforez edilmiştir.

GSTP1 genindeki *Ile105Val* mutasyonu PCR reaksiyonunu takiben 55⁰C' de 16 saat 2.5 U *BsmAI* enzimi ile kesilerek belirlenmiştir. Enzimle kesim işleminden sonra yapılan elektroforetik analiz sonucunda 305 ve 138 bç' lik iki bant *Ile105/Ile105* genotipini, 305, 222 ve 138 bç' lik üç bant *Ile105/Val105* genotipini, 222 ve 138 bç' lik iki bant ise *Val105/Val105* genotipini göstermektedir.

III.3.2. GSTP1 *Ala114Val* mutasyonunun saptanması

30 µl toplam reaksiyon karışımı; 3 µl 10 × PCR buffer (100mM Tris-HCl pH 9.0 25° C, 500 mM KCl),1.2 mM MgCl₂, 100 µmol dNTP karışımı, 25 pmol GSTP1 primerleri sense-ileri (5'-ACA GGA TTT GGT ACT AGC CT-3') ve antisense-geri (5'-AGT GCC TTC ACA TAG TCA TCC TTG CGC-3'), 0.75 U DNA *Taq* polimeraz (Promega Corporation, Madison, WI, USA) ve 0.6 µg DNA içermektedir.

PCR koşulları, 95° C' de 2 dakikalık 1 PCR döngüsünü takiben, 40 PCR döngüsü erime (94°C 30 saniye), yapışma (48°C 30 saniye) ve sentez (72°C 30 saniye) ayrıca son olarak 72°C de 10 dakikalık 1 PCR döngüsüdür.GSTP1 genine ait PCR ürünü (170 bç) %2' lik etidyum bromür içeren %3' lük Nusie ve agaroz jelde elektroforezi yapılmıştır.

GSTP1 genindeki *Ala114Val* mutasyonu PCR reaksiyonunu takiben 60°C' de 16 saat 10 U BstUI enzimi ile kesilerek belirlenmiştir. Enzimle kesim işleminden sonra yapılan elektroforetik analiz sonucunda 144 ve 26 bç' lik iki bant *Ala114/Ala114* genotipini, 170, 144 ve 26 bç' lik üç bant *Ala114/Val114* genotipini, 170 bç' lik tek bant ise *Val114/Val114* genotipini göstermektedir.

III.4. Kemoterapi protokolleri

Çalışmaya alınan hastalar platinyum bazlı tedavi almışlardır. Hastalara verilen ilaçlar aşağıdaki dozlarda ve intravenöz olarak uygulanmıştır.

Etoposid-sisplatin; 1.gün cisplatin (80 mg/m²), etoposid (100 mg/m²) verilir. 2. ve 3. günler sadece etoposid yine aynı dozlarda verilir.

Gemcitabin-sisplatin; 1.gün sisplatin (80 mg/m²), gemcitabin (1250 mg/m²), 8. gün gemcitabin (1250 mg/m²) verilir.

Dosetaksel-sisplatin; Sisplatin (75 mg/m²) ve dosetaksel (75 mg/m²) verilir.

Vinorelbin-sisplatin; 1.gün sisplatin (80 mg/m²), vinorelbin (30 mg/m²) ve 8. gün vinorelbin (30 mg/m²) verilir.

Paklitaksel-karboplatin; 1.gün paklitaksel (225 mg/m²/2), karboplatin 5 AUC (Glomerüler Filtrasyon Hızı + 25 mg) ve 8. gün paklitaksel (225 mg/m²/2) verilir.

Paklitaksel-sisplatin; 1. gün paklitaksel (225 mg/m²/2) ve 2. gün sisplatin (80 mg/m²) verilir.

Yukarıda belirtilen ilaç uygulama dozları sadece bir kürde uygulanan dozlardır. Her bir kürün süresi 21 gündür. DSÖ kriterlerine göre yapılan radyolojik değerlendirme 2. kür sonrası yapılmaya başlanmaktadır. Bu nedenle çalışmaya 2. kür ve sonrası hastalar dahil edilmiştir.

III.5. Kemoterapiye karşı alınan yanıtların değerlendirilmesi

Kemoterapiye karşı alınan yanıtlarda DSÖ kriterleri (akciğer kanseri tedavi sonrası radyolojik değerlendirme) kullanılmıştır (World Health Organization, 1979). Kısaca; Tam yanıt: En az 4 hafta süreyle asıl tümör ve bütün metastaslarda tam olarak yok olma görülür. Kısmi (Parsiyel) yanıt: En az 4 hafta süreyle bütün metastaslar ve asıl tümörde % 50'den fazla azalma görülür. Stabil hastalık: Mevcut lezyonda % 25'den az büyüme, % 50'den az küçülme

görülür. Progresyon: Bir veya daha fazla ölçülebilir lezyon tarafında % 25'den daha büyük bir artış veya yeni lezyon oluşumu görülür. Değerlendirmede; Yanıt verenler (YV) grubuna, Tam Yanıt ve Kısmi Yanıt veren hastalar, Yanıt vermeyenler (YM) grubuna, Stabil Hastalık ve Progresyon gözlenen hastalar alınmıştır.

III.6. İstatistiksel analiz

Genotiplerin dağılımı ve aralarındaki karşılaştırmalarla kemoterapiye karşı alınan yanıtların karşılaştırılmaları ki-kare veya Fischer'in exact testi ile yapılmıştır. Sağ kalım süreleri tanı tarihinden her hasta için izlenen sürede ölüm tarihine veya son izlendiği tarihte sağ oluşlarına kadar geçen süre (ay) olarak hesaplanmıştır. GSTP1 *Ile105 Val* ve *Ala114Val* genotipleri ile sağ kalım süreleri arasındaki ilişki Kaplan-Meier testi ile log rank metodu kullanılarak belirlenmiştir. Hazard oranları (Hazard ratio-HR) yaş, cinsiyet, sigara içme durumu, hastalığın evresi ve tümör histolojisi için düzeltilmiş çoklu regresyon Cox proportional hazard modeli ile belirlenmiştir. Değerlendirmelerde $p < 0,05$ değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir. Hesaplamalarda SPSS programının 11.0 sürümü kullanılmıştır.

IV. BULGULAR

IV.1. Hasta Özellikleri

Çalışmada yer alan toplam 139 hastanın 42'si (% 30.2) tedaviye yanıt vermiş, 97'si (% 69.8) ise yanıt vermemiştir. Çizelge IV.1.'de hastaların yaş, cinsiyet, histoloji, evre, ilaç rejimi, sigara içme durumu ve içilen sigara miktarı gibi özelliklerine göre kemoterapi tedavisine karşı alınan yanıtlar verilmektedir. Buna göre tedaviye karşı alınan yanıtlarda yaş, cinsiyet, hastalığın evresi, tümör histoloji, uygulanan ilaç rejimi, sigara içme durumu ve içilen sigaranın miktarı gibi özelliklerin etkisi olmadığı gösterilmiştir ($p>0.05$).

IV.2. Hasta Özellikleri özelliklerinin genotiplere göre dağılımları

Hastaların yaş, cinsiyet, histoloji, evre ve sigara içme durumlarına göre her bir genotipin dağılımı çizelge IV.2 ve IV.3'de gösterilmektedir. Genotiplerin bu kategorilerin alt grupları arasında dağılımında istatistiksel olarak bir anlamlılık görülmemiştir ($p>0.05$). Çizelge IV.4. ve IV.5' de ise ekzon 5 ve ekzon 6 heterozigot ve mutant genotiplerine sahip hastalar, hasta sayısının azlığından dolayı variant genotip adı altında birleştirilerek aynı değerlendirme yapılmış ve yine bir anlamlılık bulunamamıştır ($p>0.05$). Çalışmada yer alan 139 KHDAK'li hastanın 31'i ekzon 6 variant (İle/Val + Val/Val) genotipe ve 31'i ekzon 6 variant (Ala/Val + Val/Val) genotipe sahiptir.

Çizelge IV.1. Hasta Özelliklerinin Kemoterapiye Verilen Yanıt Durumuna Göre Dağılımı

Hasta Özellikleri	Hastalar	Hasta Sayısı (%)		P değeri ^c
		YV ^a	YM ^b	
Toplam	139	42 (30,2)	97 (69,8)	
Yaş				
≤50	40 (28,8)	15 (35,7)	25 (25,8)	
51-60	48 (34,5)	9 (21,4)	39 (40,2)	
≥61	51 (36,7)	18 (42,9)	33 (34,0)	0,09
Cinsiyet	127			
Erkek	(91,4)	38 (90,5)	89 (91,8)	
Kadın	12 (8,6)	4 (9,5)	8 (8,2)	0,80
Histoloji				
Epidermoid	50 (35,9)	18 (42,8)	32 (33,0)	
Adenokarsinoma	48 (34,6)	11 (26,2)	37 (38,1)	
Sınıflandırılmamış	41 (29,5)	13 (31,0)	28 (28,9)	0,35
Evre				
Evre III	60 (43,2)	21 (50)	39 (40,2)	
Evre IV	79 (56,8)	21 (50)	58 (59,8)	0,28
İlaç				
Etoposid	88 (63,3)	24 (57,1)	64 (66,0)	
Etoposid olmayan	51 (36,7)	18 (42,9)	33 (34,0)	0,32
Sigara öyküsü				
Hiç içmeyen	13 (9,4)	5 (11,9)	8 (8,2)	
Halen içen	86 (61,8)	28 (66,7)	58 (59,8)	
Bırakmış	40 (28,8)	9 (21,4)	31 (32,0)	0,41
Paket yıl				
0	13 (9,6)	5 (11,9)	8 (8,5)	
≤30	26 (19,1)	8 (19,0)	18 (19,1)	
31-60	52 (38,2)	17 (40,5)	35 (37,2)	
≥61	45 (33,1)	12 (28,6)	33 (35,1)	0,84

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

^b Kemoterapiye yanıt vermeyen (Stabil + Progresyon)

^c Ki- kare testi kullanılmıştır

Çizelge IV.2. Hasta Özelliklerinin ekzon 5 Genotiplerine Göre Dağılımı

Hasta Özellikleri	Hasta Sayısı (%)				p değeri ^a
	Bütün hastalar	İle/İle	İle/Val	Val/Val	
Toplam	139	88(63,31)	42(30,22)	9(6,47)	
Yaş					
≤50		29	16	3	
51-60		25	14	1	
≥61		34	12	5	0,521
Cinsiyet					
Erkek		80	38	9	
Kadın		8	4	-	0,633
Histoloji					
Epidermoid		27	19	4	
Adenokarsinoma		30	14	4	
Sınıflandırılmamış		31	9	1	0,279
Evre					
Evre III		42	16	2	
Evre IV		46	26	7	0,247
Sigara öyküsü					
Hiç içmeyen		11	2		
Halen içen		53	26	7	
Bırakmış		24	14	2	0,458

^a Ki- kare testi kullanılmıştır

Çizelge IV.3. Hasta Özelliklerinin ekzon 6 Genotiplerine Göre Dağılımı

Hasta Özellikleri	Bütün hastalar	Hasta Sayısı (%)			p değeri ^a
		Ala/Ala	Ala/Val	Val/Val	
		108			
Toplam	139	(77,7)	10 (7,2)	21 (15,1)	
Yaş					
≤50	40 (28,8)	30 (27,8)	4 (40,0)	6 (28,6)	
51-60	48 (34,5)	37 (34,3)	4 (40,0)	7 (33,3)	
≥61	51 (36,,7)	41 (37,9)	2 (20,0)	8 (38,1)	0,84
Cinsiyet		100			
Erkek	127 (91,4)	(92,6)	9 (90,0)	18 (85,7)	
Kadın	12 (8,6)	8 (7,4)	1 (10,0)	3 (14,3)	0,58
Histoloji					
Epidermoid	50 (35,9)	36 (33,3)	4 (40,0)	10 (47,6)	
Adenokarsinoma	48 (34,6)	38 (35,2)	3 (30,0)	7 (33,3)	
Sınıflandırılmamış	41 (29,5)	34 (31,5)	3 (30,0)	4 (19,1)	0,72
Evre					
Evre III	60 (43,2)	46 (42,6)	4 (40,0)	10 (47,6)	
Evre IV	79 (56,8)	62 (57,4)	6 (60,0)	11 (52,4)	0,89
Sigara öyküsü					
Hiç içmeyen	13 (9,4)	9 (8,3)	1 (10,0)	3 (9,4)	
Halen içen	86 (61,8)	68 (62,9)	4 (40,0)	14 (66,6)	
Bırakmış	42 (28,8)	31 (28,8)	5 (50,0)	4 (19,0)	0,43

^a Ki- kare testi kullanılmıştır

Çizelge IV.4. Hasta Özelliklerinin ekzon 5 yabancı tip ve varyant Genotiplerine Göre Dağılımı

Hasta Özellikleri	Hastalar	Hasta Sayısı (%)		p değeri ^a
		İle/İle (yabancı tip)	İle/Val + Val/Val (variant)	
Toplam	139	88	51	
Yaş				
≤50	48	29	19	
51-60	40	25	15	
≥61	51	34	17	0,806
Cinsiyet				
Erkek	127	80	47	
Kadın	12	8	4	0,801
Histoloji				
Epidermoid	30	27	3	
Adenokarsinoma	48	30	18	
Sınıflanmamış	41	31	10	0,103
Evre				
Evre 3	60	42	18	
Evre 4	79	46	33	0,154
Sigara öyküsü				
Hiç içmeyen	13	11	2	
Halen içen	86	53	33	
Bırakmış	40	24	16	0,242

^a Ki- kare testi kullanılmıştır

Çizelge IV.5. Hasta Özelliklerinin ekzon 6 yabancı tip ve varyant Genotiplerine Göre Dağılımı

Hasta Özellikleri	Hastalar	Hasta Sayısı (%)		p değeri ^a
		Ala/Ala (yabancı tip)	Ala/Val + Val/Val (variant)	
Toplam	139	108 (77,7)	31 (22,3)	
Yaş				
≤50	40 (28,8)	30 (27,7)	10 (32,3)	
51-60	48 (34,5)	37 (34,3)	11 (35,4)	
≥61	51 (36,7)	41 (38,0)	10 (32,3)	0,82
Cinsiyet				
Erkek	127 (91,4)	100 (92,6)	27 (87,1)	
Kadın	12 (8,6)	8 (7,4)	4 (12,9)	0,33
Histoloji				
Epidermoid	50 (36,0)	36 (33,3)	14 (45,2)	
Adenokarsinoma	48 (34,5)	38 (35,2)	10 (32,3)	
Sınıflanmamış	41 (29,5)	34 (31,5)	7 (22,5)	0,44
Evre				
Evre 3	60 (43,2)	46 (42,6)	14 (45,2)	
Evre 4	79 (56,8)	62 (57,4)	17 (54,8)	0,79
Sigara öyküsü				
Hiç içmeyen	13 (9,3)	9 (8,3)	4 (13,0)	
Halen içen	86 (61,9)	68 (63,0)	18 (58,0)	
Bırakmış	40 (28,8)	31 (28,7)	9 (29,0)	0,72

^a Ki- kare testi kullanılmıştır

IV.3. GSTP1 ekzon 5 ve ekzon 6 genotiplerinin kemoterapiye karşı verilen yanıtta etkisi

Çizelge IV.6 ve IV.7' de GSTP1 ekzon 5 ve ekzon 6 genotiplerini taşıyan hastaların kemoterapiye karşı verdikleri yanıtlar incelenmektedir. Yapılan istatistiksel değerlendirme

sonucunda hastaların kemoterapiye karşı verdikleri yanıtların GSTP1 ekzon 5 ve ekzon 6 genotipleri ile ilişkili olmadığı görülmüştür ($p>0.05$). Çizelge IV.8 ve IV.9' da ise aynı ilişkiye (hasta sayısının azlığından dolayı) ekzon 5 ve ekzon 6 heterozigot ve mutant genotiplerine sahip hastalar birlikte değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmelerin sonucunda da istatistiksel olarak bir anlamlılık bulunamamıştır ($p>0.05$).

Çizelge IV.6. GSTP1 ekzon 5 İle/İle, İle/Val ve Val/Val genotiplerine göre kemoterapide alınan yanıtlar

Genotip	Kemoterapiye Yanıt		p değeri ^c
	YV ^a	YM ^b	
İle/İle	28	60	0,805
İle/Val	12	30	
Val/Val	2	7	

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

^b Kemoterapiye yanıt vermeyen (Stabil + Progresyon)

^c Ki- kare testi kullanılmıştır

Çizelge IV.7. GSTP1 ekzon 6 Ala/Ala, Ala/Val ve Val/Val genotiplerine göre kemoterapide alınan yanıtlar

Genotip	Kemoterapiye Yanıt		p değeri ^c
	YV ^a	YM ^b	
Ala/Ala	30 (27,8)	78 (72,2)	0,32
Ala/Val	5 (50,0)	5 (50,0)	
Val/Val	7 (33,3)	14 (66,7)	

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

^b Kemoterapiye yanıt vermeyen (Stabil + Progresyon)

^c Ki- kare testi kullanılmıştır

Çizelge IV.8. GSTP1 ekzon 5 İle/İle ve İle/Val + Val/Val genotiplerine göre kemoterapide alınan yanıtlar

Genotip	Kemoterapiye Yanıt		p değeri ^c
	YV ^a	YM ^b	
İle/İle (yabanıl tip)	28	60	0,589
İle/Val + Val/Val (variant)	14	37	

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

^b Kemoterapiye yanıt vermeyen (Stabil + Progresyon)

^c Ki- kare testi kullanılmıştır

Çizelge IV.9. GSTP1 ekzon 6 Ala/Ala ve Ala/Val + Val/Val genotiplerine göre kemoterapide alınan yanıtlar

Genotip	Kemoterapiye Yanıt		p değeri ^c
	YV ^a	YM ^b	
Ala/Ala (yabanıl tip)	30 (27,8)	78 (72,2)	0,24
Ala/Val + Val/Val	12 (38,7)	19 (61,3)	

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

^b Kemoterapiye yanıt vermeyen (Stabil + Progresyon)

^c Ki- kare testi kullanılmıştır

IV.4. Hasta özellikleri ile GSTP1 ekzon 5 ve ekzon 6 genotiplerinin kemoterapi yanıtına etkisi

Hastaların yaş, cinsiyet, histoloji, evre, ilaç rejimi, sigara öyküsü ve paket/yıl durumlarına göre yabanıl ve variant genotiplerinin kemoterapide alınan yanıtta etkisi tek tek incelenmiştir. Bu özelliklerin hiçbirinin yanıtta yansımaları konusunda anlamlılık bulunmamıştır ($p > 0.05$). Örnek olarak çizelge IV.10 ve IV.11’ de hastalığın evrelerinin her bir genotip için yanıt durumları gösterilmektedir.

Çizelge IV.10. Hastalık evreleri arasında genotip ve yanıt ilişkisi.

Evre	Genotip		p değeri	Genotip		p değeri ^c
	İle/İle			İle/Val+Val/Val		
	YV ^a	YM ^b		YV ^a	YM ^b	
3	14	28		7	11	
				7	26	
4	14	32	0,771			0,176

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

^b Kemoterapiye yanıt vermeyen (Stabil + Progresyon)

^c Ki- kare testi kullanılmıştır

Çizelge IV.11. Hastalık evreleri arasında genotip ve yanıt ilişkisi

Evre	Genotip		p değeri	Genotip		p değeri ^c
	Ala/Ala	YM ^b		Ala/Val+Val/Val	YM ^b	
3	YV ^a 14 (46,7)	YM ^b 32 (41,0)		YV ^a 7 (58,3)	YM ^b 7 (36,8)	
4	16 (53,3)	46 (59,0)	0,59	5 (41,7)	12 (63,2)	0,24

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

^b Kemoterapiye yanıt vermeyen (Stabil + Progresyon)

^c Ki- kare testi kullanılmıştır

Çizelge IV.12 ve IV.13' de ise hastalık evreleri III olan bireylerin ekzon 5 ve ekzon 6 yabanıl veya variant genotipe sahip olmalarının tedaviye karşı alınan yanıtı değiştirmedeği, aynı şekilde evreleri IV olan hastaların da genotiplerinin alınan yanıtı etkilemediği gözlenmiştir. Benzer değerlendirme hastaların yaş, cinsiyet, histoloji, ilaç rejimi, sigara öyküsü ve paket yıl durumları için de yapılmıştır ve hiçbirinde anlamlı bir ilişki görülmemiştir ($p>0.05$).

Çizelge IV.12. Hastalık evrelerinin genotiplere göre yanıtı etkisi

Evre	Genotip	YV ^a	YM ^b	p değeri ^c
3	P1 İle/İle	14	28	
	İle/Val+Val/Val	7	11	0,679
4	P1 İle/İle	14	32	
	İle/Val+Val/Val	7	26	0,360

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

^b Kemoterapiye yanıt vermeyen (Stabil + Progresyon)

^c Ki- kare testi kullanılmıştır

Çizelge IV.13. Hastalık evrelerinin genotiplere göre yanıt etkisi

Evre	Genotip	YV ^a	YM ^b	p değeri ^c
3	P1 Ala/Ala	14 (30,4)	32 (69,6)	0,18
	Ala/Val+Val/Val	7 (50,0)	7 (50,0)	
4	P1 Ala/Ala	16 (25,8)	46 (74,2)	0,76
	Ala/Val+Val/Val	5 (29,4)	12 (70,6)	

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

^b Kemoterapiye yanıt vermeyen (Stabil + Progresyon)

^c Ki- kare testi kullanılmıştır

IV.5. GSTP1 ekzon 5 ve ekzon 6 genotiplerinin kemoterapiye karşı yanıtlarla ve sağ kalım süreleriyle ilişkisi

Çizelge IV.14 ve IV.15' de ekzon 5 ve ekzon 6 yabanıl, heterozigot ve mutant genotiplerin kemoterapiye yanıt veren ve yanıt vermeyen gruplar arasında sağ kalım süreleriyle ilişkisi incelenmiştir. Yanıt veren grup arasında log-rank p değeri ekzon 5 için 0.56 ve ekzon 6 için 0.20, yanıt vermeyen grup arasında ise log-rank p değeri ekzon 5 için 0.33 ve ekzon 6 için 0.25 olarak bulunmuştur ve bu değerler GSTP1 ekzon 5 ve ekzon 6 genotiplerinin kemoterapiye karşı yanıtlarla ve sağ kalım süreleriyle ilişkisi olmadığını göstermiştir.

Çizelge IV.14. İle/ İle, İle /Val, Val/Val genotip yanıtlarının sağ kalım süresine etkisi

Kemoterapiye yanıt	Genotip	Sağ kalım süresi (ay) (ort.± SH ^c)	p değeri ^d
YV ^a	İle / İle	15 ± 2	0,56
	İle /Val	18 ± 0	
	Val/Val	19 ± 3	
YM ^b	İle / İle	26 ± 3	0,33
	İle /Val	21 ± 4	
	Val/Val	17 ± 2	

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

^b Kemoterapiye yanıt vermeyen (Stabil + Progresyon)

^c Standart Hata

^d Kaplan-Meier - log rank ile hesaplanmıştır

Çizelge IV.15. Ala/Ala, Ala/Val, Val/Val genotip yanıtlarının sağ kalım süresine etkisi

Kemoterapiye yanıt	Genotip	Sağ kalım süresi (ay) (ort.± SH ^c)	p değeri ^d
YV ^a	Ala/Ala	15 ± 2	0,20
	Ala/Val	24 ± 4	
	Val/Val	16 ± 2	
YM ^b	Ala/Ala	17 ± 1	0,25
	Ala/Val	20 ± 2	
	Val/Val	30 ± 6	

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

^b Kemoterapiye yanıt vermeyen (Stabil + Progresyon)

^c Standart Hata

^d Kaplan-Meier - log rank ile hesaplanmıştır

Çizelge IV.16 ve IV.17'de ise GSTP1 ekzon 5 ve ekzon 6 yabanıl ve variant genotiplerinin kemoterapiye yanıt veren ve yanıt vermeyen gruplar arasında sağ kalım süreleriyle ilişkisi incelenmiştir. Bu durumda da anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir.

Çizelge IV.16. İle / İle ve İle /Val + Val/Val genotip yanıtlarının sağ kalım süresine etkisi

Kemoterapiye yanıt	Genotip	Sağ kalım süresi (ay) (ort.± SH ^c)	p değeri ^d
YV ^a	İle / İle	15 ± 2	0,29
	İle /Val +	19 ± 3	
	Val/Val		
YM ^b	İle / İle	26 ± 3	0,38
	İle /Val +	18 ± 2	
	Val/Val		

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

^b Kemoterapiye yanıt vermeyen (Stabil + Progresyon)

^c Standart Hata

^d Kaplan-Meier - log rank ile hesaplanmıştır

Çizelge IV.17. Ala/Ala ve Ala/Val + Val/Val genotip yanıtlarının sağ kalım süresine etkisi

Kemoterapiye yanıt	Genotip	Sağ kalım süresi (ay) (ort.± SH ^c)	p değeri ^d
YV ^a	Ala/Ala	15 ± 2	0,13
	Ala/Val + Val/Val	20 ± 3	
YM ^b	Ala/Ala	17 ± 1	0,97
	Ala/Val + Val/Val	28 ± 4	

a Kemoterapiye yanıt veren (Tam yanıt + Kısmi yanıt)

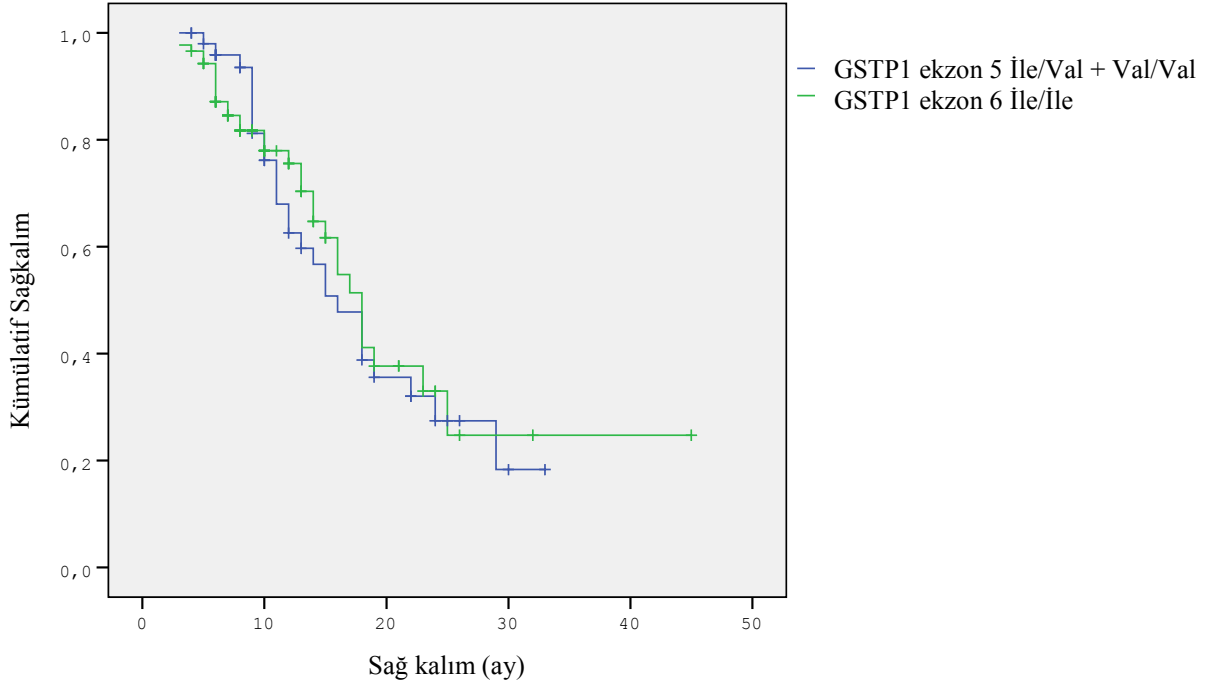
b Kemoterapiye yanıt vermeyen (Stabil + Progresyon)

c Standart Hata

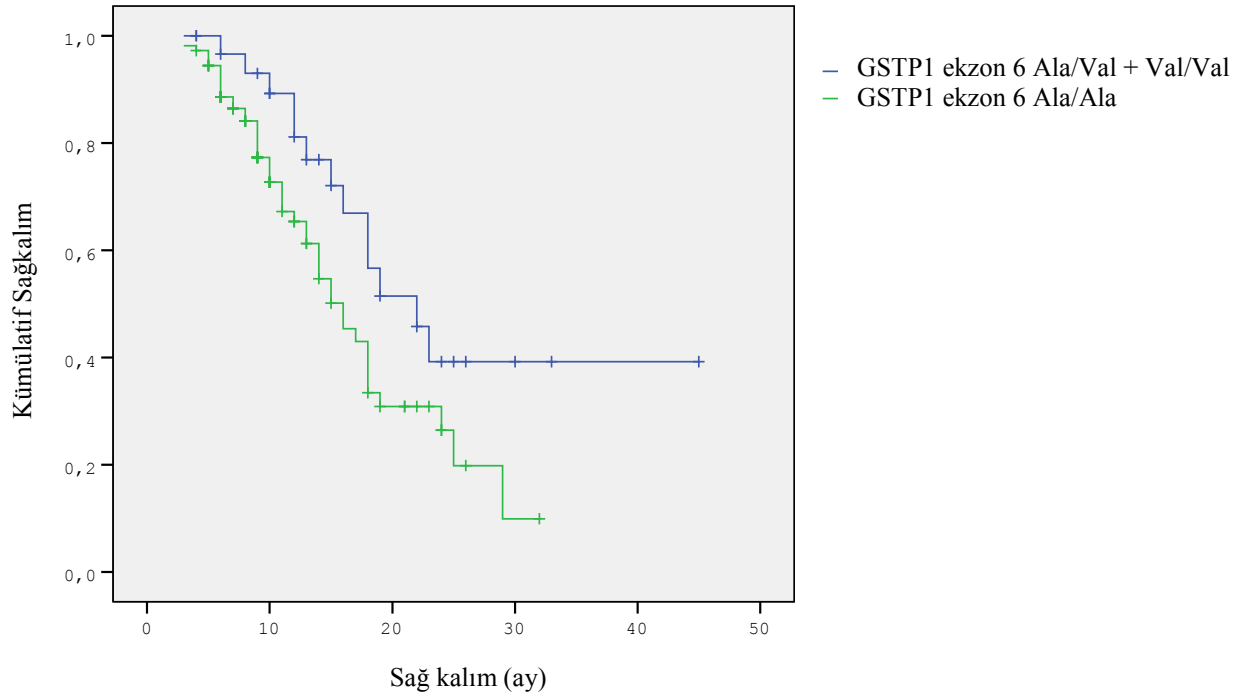
d Kaplan-Meier - log rank ile hesaplanmıştır

IV.6. GSTP1 ekzon 5 ve ekzon 6 genotiplerinin, yanıt verme durumunun ve ilaç rejiminin hastaların sağ kalım sürelerine etkisi

Çalışmada yer alan 139 hastanın sağ kalım süreleri, hastalara KHDAK tanısı konulan tarihten itibaren ay olarak hesaplanmıştır. Takip süresi boyunca 139 KHDAK'li hastanın 61'i (% 43.9) ölmüştür. GSTP1 ekzon 5 ve ekzon 6 genotiplerine göre sağ kalımlar Kaplan-Meier testi ile hesaplanmıştır ve genotiplerin sağ kalım sürelerine etkisi Şekil IV.1 ve IV.2' de gösterilmiştir. Bu değerlendirmenin sonucuna göre GSTP1 ekzon 5 variant (İle/Val + Val/Val) genotipin sağ kalım süresi üzerinde anlamlı etkisi olmadığı (log-rank p=0.814) ancak, GSTP1 ekzon 6 variant (Ala/Val + Val/Val) genotipin sağ kalım süresi üzerinde anlamlı etkisi olduğu saptanmıştır (log-rank p=0.036). GSTP1 ekzon 5 yabancıl (İle/İle) genotipe sahip hastalar için sağ kalım ortancası 18 ay, variant (İle/Val + Val/Val) genotipe sahip hastalar için ise 16 aydır. GSTP1 ekzon 6 yabancıl (Ala/Ala) genotipe sahip hastalar için sağ kalım ortancası 16 ay, variant (Ala/Val + Val/Val) genotipe sahip hastalar için ise 22 aydır. Bu değerlendirme GSTP1 ekzon 5 ve ekzon 6 yabancıl, heterozigot ve mutant genotipleri ayrı ayrı ele alınarak yapıldığında ise sağ kalım süreleri üzerine anlamlı bir etki gözlenmemiştir (ekzon 5 log-rank p= 0.614, ekzon 6 log-rank p= 0.111).



Şekil IV.1. KHDAK'li hastalarda GSTP1 ekzon 5 İle/İle ve İle/Val + Val/Val genotiplerinin sağ kalım üzerine etkisi



Şekil IV.2.. KHDAK'li hastalarda GSTP1 ekzon 6 Ala/Ala ve Ala/Val + Val/Val genotiplerinin sağ kalım üzerine etkisi

Kemoterapi tedavisine karşı alınan yanıtlarla sağ kalım süresi arasındaki ilişkiye yine Kaplan-Meier fonksiyonu ile bakılmıştır. Tedaviye karşı yanıt veren grup ile yanıt vermeyen grubun sağ kalım süreleri arasında anlamlı bir farklılığın olmadığı (ortanca 17 aya karşı 15 ay; log-rank $p=0.036$) bulunmuştur. Ayrıca genotiplerin aldıkları farklı ilaç rejimlerinin sağ kalım süresine bir etkisinin olmadığı da bulunmuştur (log-rank $p>0.05$).

IV.7. Genotip ve diğer faktörlerin sağ kalım üzerine etkisinin hazard oranı (HR) ile değerlendirilmesi

Çizelge IV.18 ve IV.19' da GSTP1 ekzon 5 ve ekzon 6 yabanıl ve variant genotipleri ile ölümlerin ilişkisi çoklu regresyon analizi ile düzeltilmiş hazard oranına göre değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmede hastaların yaş, cinsiyet, histoloji, evre, sigara içme ve yanıt durumları için düzeltme yapılarak hazard oranları (HR) hesaplanmıştır. GSTP1 ekzon 5

variant (İle/Val + Val/Val) genotipine sahip hastaların yabancı (İle/İle) genotipe sahip olanlarla karşılaştırıldığında variant genotipin sağ kalım üzerinde koruyucu etkinliği saptanmamıştır (1.23, HR; 0.68–2.22, %95 Güven Aralığı-GA; p=0.498). Ancak, GSTP1 ekzon 6 variant (Ala/Val + Val/Val) genotipine sahip hastaların yabancı (Ala/Ala) genotipe sahip olanlarla karşılaştırıldığında variant genotipin sağ kalım üzerinde koruyucu etkinliği belirlenmiştir (0.49, HR; 0.26-0.95, %95 Güven Aralığı-GA; p=0.034).

Çizelge IV.18. GSTP1 Ile105Val genotiplerinin sağ kalımla ilişkisi

Genotip	Ölen	Sağ Kalan	HR (%95 GA) ^a
Ile/Ile	32	56	Referans
Ile /Val + Val/Val	27	24	1.23 (0.68–2.22), p=0.498

^a Hazard oranı, %95 Güven Aralığı, yaş, cinsiyet, histoloji ,evre, sigara içme ve yanıt durumuna göre düzeltilmiş çoklu regresyon-Cox propotional hazard modeli ile hesaplanmıştır

Çizelge IV.19. GSTP1 Ala114Val genotiplerinin sağ kalımla ilişkisi

Genotip	Ölen	Sağ Kalan	HR (%95 GA) ^a
Ala/Ala	46	62	Referans
Ala/Val + Val/Val	13	18	0.49 (0.26–0.95), p=0.034

^a Hazard oranı, %95 Güven Aralığı, yaş, cinsiyet, histoloji, evre, sigara içme ve yanıt durumuna göre düzeltilmiş çoklu regresyon-Cox propotional hazard modeli ile hesaplanmıştır

Çizelge IV.20 ve IV.21’ de kemoterapi tedavisine karşı alınan yanıtlar, hastaların yaş, cinsiyet, histoloji, evre, sigara içme durumu ve GSTP1 ekzon 5 ve ekzon 6 genotipleri için düzeltilmiş çoklu regresyon-Cox propotional hazard modeli ile hesaplandığında, GSTP1 ekzon 5 için hazard oranı 1.48, 0.83–2.63 (HR, %95 GA), p=0.181 ve GSTP1 ekzon 6 için hazard oranı 1.55, 0.88–2.75 (HR, %95 GA), p=0.132 olarak saptanmıştır. Bu bulgular da yanıt ile sağ kalım arasında anlamlı bir ilişki olmadığını göstermiştir.

Çizelge IV.20. GSTP1 ekzon 5 genotipleri için yanıtların sağ kalımla ilişkisi

Yanıt	Ölen	Sağ Kalan	HR (95% GA) ^a
YM	37	60	Referans
YV	22	20	1.48 (0.83-2.63), p=0.181

^aHazard oranı, %95 Güven Aralığı, yaş, cinsiyet, histoloji, evre, sigara içme durumu ve genotipe göre düzeltilmiş çoklu regresyon-Cox proportional hazard modeli ile hesaplanmıştır.

Çizelge IV.21. GSTP1 ekzon 6 genotipleri için yanıtların sağ kalımla ilişkisi

Yanıt	Ölen	Sağ Kalan	HR (95% GA) ^a
YM	37	60	Referans
YV	22	20	1.55 (0.88-2.75), p=0.132

^aHazard oranı, %95 Güven Aralığı, yaş, cinsiyet, histoloji, evre, sigara içme durumu ve genotipe göre düzeltilmiş çoklu regresyon-Cox proportional hazard modeli ile hesaplanmıştır.

Aynı düzeltilmiş analiz modelinde yaş, cinsiyet, sigara durumu, hastalığın evresi ve tümör histolojinin sağ kalım üzerine koruyucu etkinliği de görülmemiştir (p>0.05).

V. SONUÇ ve ÖNERİLER

Akciğer kanseri küçük hücreli akciğer kanseri (KHAK) ve küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) olarak iki farklı histolojik tipe sahiptir. KHDAK akciğer kanserlerinin % 80'ini oluşturmaktadır ve gelişmesi ve yayılması KHAK'ya göre daha yavaştır. Özellikle KHDAK hastalarda kemoterapiye yanıt % 30-50 gibi çok düşük düzeydedir (Bai ve ark., 1996; Giovino, 2002; Rosell ve ark., 2004). Bu nedenle bu tip hastalarda kemoterapinin başarılı olmamasının nedenlerinin araştırılması son derece önem arz etmektedir.

Son zamanlarda ilaç rezistansı mekanizmaları üzerindeki çalışmalar kanser hücrelerinin kemorezistansında çeşitli faktörlerin rol oynadığını göstermiştir. Bunlar arasında glutatyon S-transferazlar (GST) önemli faktörlerden birisidir (Clapper ve ark., 1987; Wolf ve ark., 1987; Oguri ve ark.,2000). GST'ler, ikinci faz enzimlerinden olup elektrofilik özellikteki toksik maddelerin inaktivasyonunu sağlayan glutatyon konjugasyonunu katalizleyen enzimlerdir. GST'lerin 8 alt sınıfa sahip olduğu bilinmektedir. Bu sınıflar, GST alfa (GSTA), GST mü (GSTM), GST teta (GSTT), GST pi (GSTP), GST zeta (GSTZ), GST sigma (GSTS), GST kappa (GSTK), GST omega (GSTO) olarak belirlenmiştir (Strange ve ark., 2001). Artan veriler GST'lerin çeşitli kemoterapik ilaçların sitotoksik etkisini belirlediğini göstermektedir (Nakagawa ve ark., 1988, Hoban ve ark., 1992).

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 peroksitleri 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 sisplatinyum toksisitesi üzerindeki etkisini ise en azından iki farklı mekanizmayla değiştirdiği ileri sürülmektedir; 1) Sisplatinyumun doğrudan GSH ile bağlanmasına aracılık ederek onun kritik hedef olan DNA'ya ulaşmasını engelleyerek, 2) Platinyum toksisitesini toksik bifonksiyonel addakt (katım ürünü) oluşumu öncesindeki basamak olan DNA-Pt mono katım ürününü GSH ile onararak yapmaktadır (Eastman, 1987). GSH-platinyum kompleksinin oluşumu sisplatinyumun hücrel metabolizmasının önemli bir kısmı olarak kabul edilmektedir. Bu kompleksin tümör hücrelerinden eliminasyonunun,

hücre içi platinyum birikimini azaltması yönünde, önemli bir mekanizma olduğu bildirilmektedir (Ishikawa ve Ali-Osman, 1993). Tümör hücrelerinden GSH-platinyum kompleksinin eliminasyonunda ATP'ye bağımlı gluatasyon S-konjugat pompasının rol oynadığı ileri sürülmektedir (Ishikawa, 1992).

GSTP1 insan akciğerinde en fazla ekspres edilen izozimdir. GSTP1'in KHDAK 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 KHDAK dikkati çekmektedir (Hida ve ark. 1993, Bai ve ark., 1996; Arai ve ark., 2000, Oguri ve ark., 2000). Özellikle platinyum 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 platinyum 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 ekzon 5 'de (Ile 105 Val) 105. kodonun 313. pozisyonunda tek nükleotidin yer değiştirmesi (A-G) sonucunda izolösin yerini valine bırakmakta ve ekzon 6'da olan ikinci mutasyonda ise (Ala 114 Val) 114. kodonun 341. pozisyonunda tek nükleotidin yer değiştirmesi (C-T) sonucunda alanin yerini valine bırakmakta ve enzim aktivitesi azalmaktadır (Watson ve ark., 1998). Heterozigotlarda ise enzim aktivitesi orta düzeyde kalmaktadır.

Son zamanlarda akciğer kanserli hastalarda GSTP1 polimorfizmleri ile sağ kalım süreleri arasında ilişkiyi irdeleyen çalışmalar başlamıştır. Benzer hasta grubunda Yang ve ark'ları (2002), Sweeney ve ark'ları (2003) ve Lu ve ark., (2006) GSTP1 (Ile 105 Val) polimorfizmi ile sağ kalım süreleri arasındaki 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 kamoterapiye karşı sağ kalım sürelerinin yabanıl Ile/Ile genine sahip olanlardan daha uzun oldukları gösterilmiştir.

Bu çalışmada GSTP1 105 Val variant aleline sahip olan homozigot ve heterozigot hastaların cisplatinyuma dayalı kemoterapiye verdikleri yanıtların yabancı tip genotipine sahip olanlardan anlamlı olarak farklı olmadığı gözlenmektedir. Bunun yanısıra hastaların sağ kalım sürelerinin de GSTP1 polimorfizminden etkilenmediği görülmektedir (ortanca 16 aya karşı 18 ay; $p=0,814$). Çoklu regresyon analizi ile düzenlenmiş hazard oranında da bu variant alelin koruyucu etkinliği gözlenmemiştir (çizelge 4.10.a). İlaveten kemoterapiye yanıtın, yaş, cinsiyet, sigara içme durumu, hastalığın evresi ve tümör histolojisinin sağ kalım üzerine koruyucu etkinliği bulunmamıştır. Bu polimorfizm ile sağ kalım süresi arasındaki ilişkinin olmadığını gösteren bulgumuz Yang ve ark'ları (2002), Sweeney ve ark'ları (2003) ve Lu ve ark'larının (2006) bulgularına benzerlik göstermektedir.

Akciğer kanseri ile bu polimorfizm arasındaki ilişkiyi irdeleyen çalışmaların kurgularındaki farklılar (örneğin kemoterapi alımı, kemoterapiye karşı alınan yanıt ve hasta sayıları gibi) alınan sonuçları da farklılaştırmış olabilir. Örneğin bu çalışmada sağ kalım süreleri, diğerlerinde eksik olan kemoterapi almış hastaların ilaç rejimleri ile kemoterapiye karşı alınan yanıtlarla birlikte irdelenmiştir.

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 cisplatinyuma. karşı alınan yanıtta değil bu ilaçları içeren kombinasyonlara karşı alınabilecek yanıt için de geçerlidir. Ancak bunların dışındaki ilaç (örneğin 5-Flourourasil) 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.

Diğer taraftan KHDAK hastalarında GSTP1 (Ala 114 Val) polimorfizmi ile sağ kalım süreleri arasında tek bir çalışmaya rastlanmaktadır. Bu çalışmada ekzon 6 variant genotipine (Ala/Val veya Val/Val) sahip hastaların sağ kalım süresinin arttığı belirlenmiştir (ortanca 16.1 aya karşı 11.4 ay) (Lu ve ark., 2006). Bu araştırmacılar yaş, cinsiyet, sigara içme durumu, tümör evresi, ve histoloji için düzeltilmiş çoklu regresyon Cox proportional hazard modeli kullanarak hazard oranını (hazard ratio-HR) 0,75 ve % 95 Güven aralığını (95 % CI) ise 0,54-

1,05 olarak bulmuşlardır. Dolayısıyla bu variant genotipi ile sağ kalım arasında pozitif bir ilişki olabileceğini vurgulamaktadırlar. Ancak bu çalışmada kemoterapi ilaç rejimleri eksik olup kemoterapiye karşı alınan yanıtlar da irdelenmemiştir. Nitekim bu araştırmacılar araştırmalarında bu verilerin eksikliğinden söz etmekte ve GSTP1 ekzon 6 polimorfizminin kemoterapiye karşı alınan yanıtta nasıl etkiğinin eksik kaldığını bildirmektedirler. Dolayısıyla bu verilerin eklenmesi sonucunda ilerlemiş evreli (III ve IV) KHDAK hastalarda GSTP1 ekzon 6 polimorfizminin öneminin belirlenebileceğinden söz etmektedirler.

Bu çalışma bu yönüyle de yukarıda sözü edilen eksik noktalara ışık tutması açısından son derece gerekli olan verilere ulaşmış bulunmaktadır. Evreleri III ve IV olan KHDAK hastalarda platinyum bazlı yapılan kemoterapiye karşı alınan yanıtlarla ilişkileri ve bunlarla sağ kalım süreleri arasında ilişkinin olup olmadığı, bildiğimiz kadarı ile de ilk kez araştırılmaktadır.

Bu çalışmada GSTP1 114 Val variant aleline sahip olan homozigot ve heterozigot hastaların platinyuma dayalı kemoterapiye verdikleri yanıtların yabanıl tip genotipine sahip olanlardan anlamlı olarak farklı olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca kemoterapiye gerek yanıt veren ve gerekse yanıt vermeyen GSTP1 genotiplerinin, yaş, cinsiyet, sigara içme durumu, histoloji ve hastalığın evresi ile anlamlı bir ilişkilerinin olmadığı da belirlenmiştir. Benzeri ilişki eksikliği, GSTP1 ekspres eden KHDAK' nde (Bai ve ark., 1996) ve kolon kanserinde de gösterilmiştir (Stoehlmacher ve ark., 2002). Genotiplerin kemoterapiye karşı aldığı yanıtlarla sağ kalım süreleri arasında da anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Ancak genotip ile sağ kalım arasındaki ilişki irdelendiğinde variant aleline sahip hastaların sağ kalım sürelerinin anlamlı olarak arttığı (ortanca 22 aya karşı 16 ay; $p=0.036$) saptanmıştır. Bu sonuç Lu ve ark'larının (2006) bulguları ile uyumluluk göstermektedir. Ancak o çalışmada eksikliğinden söz edilen bir veri olan genotip ile yanıt arasındaki ilişkinin bu çalışmada gözlenmemesi Lu ve ark'larının (2006) spekülasyonları arasında yer alan polimorfizminin kemoterapik yanıtta prediktör olabileceği varsayımını çürütmektedir. İlâveten bu çalışmada genotip yanıtlarının ve genotip sağ kalım sürelerinin uygulanan farklı kemoterapi rejimlerine karşı değişmediğinin görülmesi, bu polimorfizmin, uygulanan kemoterapi rejiminden bağımsız olarak, klinik sonucu etkilediği izlenimini vermektedir.

Çoklu regresyon analizi ile düzenlenmiş hazard oranında saptanan azalma variant aleline sahip hastaların sağ kalım sürelerinin uzayabileceğini göstermektedir (Çizelge 4.11.). Bu

sonuçlar da Lu ve ark'larının (2006) sonuçlarına paralellik göstermektedir. Ancak kemoterapiye karşı alınan yanıtın koruyucu etkinliğinden söz etmek olası değildir (izelge 4.12.). Dolayısıyla yanıt ile sağ kalım arasında bir ilişkinin olmadığı görülmektedir. Aynı dzeltiymiş analiz modelinde yaş, cinsiyet, sigara durumu, hastalığın evresi ve tümör histolojinin sağ kalım üzerine koruyucu etkinliği görülmemiştir.

Bu mutant genotipin sağ kalım üzerindeki koruyucu etkinliğini yanıtta bağımsız olarak göstermesi biyolojik etkinliğini, ilacın terapötik etkisini arttırmamasının dışında, doğrudan veya dolaylı olarak olası koruyucu mekanizmaları tetiklemesine (rneğin; tümör baskılayıcı genleri aktive etmesine) bağlı olabilir. Ancak bu sonuçların altındaki nedenlerin açığa çıkarılması için daha ayrıntılı çalışmalara gereksinim olduğu açıktır. Bu aşamada sadece genotipin daha uzun sağ kalmanın bir n göstergesi olarak kabul edilebileceği söylenbilir. Ancak genotipin yanıtın ne yönde gelişebileceği konusunda yol gösterici olmadığı da açıktır. Dolayısıyla GSTP1 Ala114Val polimorfizmi, yanıtta bağımsız olarak, klinik sonucu etkileyen lehte bir prognostik faktör olarak belirlemektedir.

Sonuç olarak bu çalışma ileri evreli (III ve IV) KHDAK hastalarda

- a- GSTP1 ekzon 5 *İle104Val* ve ekzon 6 *Ala 114 Val* polimorfizmlerinin, platinyum bazlı kemoterapiye yanıtı değiştirmedini,
- b- Genotiplerin kemoterapiye karşı verdikleri yanıtın yaş, cinsiyet, sigara içme durumları, uygulanan farklı ilaç rejimleri, hastalığın evresi ve tümör histolojisi ile etkilenmediğini,
- c- GSTP1 ekzon 5 genotipinin sağ kalım süresine etkimezken GSTP1 ekzon 6 variant genotipinin sağ kalım süresini anlamlı olarak uzattığını ve bu genotip ile koruyucu yönde sağ kalım süresi arasında ilişki olabileceğini, ve
- d- Her iki GSTP1 polimorfizminde, kemoterapiye yanıtla sağ kalım arasında bir ilişkinin bulunmadığını ortaya koymaktadır.

Öneriler:

- a) Hasta sayısının artırılması GSTP1 ekzon 6 variant genotip ile sağ kalım arasında gösterilen ilişkinin platinyum bazlı kemoterapiye karşı alınan yanıtla bağlantısının daha sağlıklı ortaya konması açısından yararlı olabilir.
- b) Bu hastaların daha uzun süreli takip edilerek bu polimorfizmlerin uzun dönemdeki sağ kalım üzerine etkileri daha açık olarak ortaya konulabilir.

VI. KAYNAKLAR

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, TAKAYAMA 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.

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.

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.

CLAPPER MI, BULLER AL, SMITH TM, TEW KD (1987) Glutathione S-transferase in alkylating agent resistant cells. In: *Glutathione S-transferases and carcinogenesis*, Eds Mantle TJ, Pickett CB, Hayes JD, Taylor and Francis, London, 213-224.

EASTMAN, A. (1989). In: *Drug Resistance in Mammalian Cells*, vol.II. Anticancer and Other Drugs. R.C. Gupta(ed) CRC Pres, Florida, 47-56.

GIOVINI GA (2002) Epidemiology of tobacco use in the United states. *Oncogene* 21: 7326-7340.

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.

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.

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.

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.*, 17: 463-468.

ISHIKAWA, T., ALI-OSMAN, F. (1993). Glutathione associated cis diamminedichloroplatinum(II) metabolism and ATP-dependent efflux from leukemia cells. Molecular charecterization of glutathione-platinum complex and its biological significance. *J. Biol. Chem.*, 268: 20116-20125.

LU, C., SPITZ, M.R., ZHAO, H., DONG, Q., TRUONG, M., CHANG, J.Y., BLUMENSCHEN, G.R., HONG, W.K., WU, X. (2006). Association between Glutathione S-transferase π polymorphism and survival in patients with advanced nonsmall cell lung carcinoma. *Cancer*, 106: 441-447.

MILLER SA, DYKES DD, POLESKY HF (1988) A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acid Res*, 16:1215.

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 π gene. *Jpn J Clin Oncol* 26: 1-5.

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 π 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, KATO O, DAGA H, ISHIKAWA N, FUJITAKA K, YAMASAKI M, YOKOZAKI M, ISOBE T, ISHIOKA AI, YAMAKIDO M (2000) Glutathione S-transferase- π gene xpression and platinum drug exposure in human lung cancer. *Cancer Lett* 156: 93-99.

- PARK JY, SCHANTZ SP, STERN JC, KAUR T, LAZARUS P (1999) Association between glutathione S-transferase pi genetic polymorphism and oral cancer risk. *Pharmacogenetics*, 9: 497-504.
- 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.
- 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.
- STRANGE, R.C., SPITERI, M.A., RAMACHANDRAN, S., FRYER, A.A. (2001). Glutathione S-transferase family of enzymes. *Mutation Res.*, 482: 21-26.
- 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.
- TSUCHIDA S, SATO K (1992) Glutathione transferases and cancer. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 27. 337-384.
- UNSAI M, AKPOLAT I, KANDEMIR 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.

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.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (1979) WHO handbook for reporting results of cancer treatment. Geneva; World Health Organization, 1999.

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.

VII. EKLER

a) Mali Bilanço ve açıklamaları

1.6. PROJE BÜTÇESİ

1.6.1.TOPLAM BÜTÇE (BAP'DAN İSTENİLEN)4983.14YTL

BÜTÇE DETAYI .

ANALİTİK BÜTÇE KODU	EKONOMİK SINIFLANDIRMA	YTL
	MAKİNA - DONANIM	
	SARF MALZEMESİ	4983.14
	HİZMET ALIMI	
	MAKİNA_ TEÇHİZAT BAKIM ve ONARIMI	
	TOPLAMI	4983.14

1.7.1 AYRINTILI GİDER LİSTESİ					
MALZEME KODU (sıra no)	MALZEME ADI	MALZEME MİKTARI	ÖLÇÜ BİRİMİ	TAHMİNİ BEDEL	ANALİTİK BÜTÇE KODU (Boş Bırakınız)
1	(Promega) A1120 Wizard DNA purifikasyon Kiti	2 adet	100 izolasyon luk	720.00	
2	(Promega) M1665 Taq Polimeraz	1 adet	500 Ü	170.00	
3	NEB R0529S BsmA1 enzimi	1 adet	1000 Ü	205.00	
4	NEB R528S BstU1 enzimi	2 adet	1000 Ü	410.00	
5	CAMBREX 50000 Seakem LE Agaroz	3 adet	125 g	870.00	
6	DNA,Moleküller ağırlık markırı, 100 bp	2 adet	250 ul	193.80	
7	Promega G4521 DNA,Moleküller ağırlık markırı, 50 bp	2 adet	250 ul	640.00	
8	Ependorf otomatik pipet, 10-100 ul	1 adet		375.00	
9	0.2 ml PCR tüpü, Corning marka	1 adet	1000 adet/pk	112.20	
10	0.5 ml PCR tüpü, Corming marka	2 adet	1000 adet/pk	173.40	
11	Sarı pipet ucu, 200ul	10 adet	1000 adet/pk	204.00	
12	Heparinli kan	200 adet	10 ml	119.00	

	tüpü, Venojet, 10 ml				
13	Kan alma iğnesi, siyah yeşil	200 adet		30.60	
14	PCR Primeri	2 çift	100 nmol	150.00	
TOPLAM				4373.00 YTL	

b) Makine ve Teçhizatın Konumu ve ilerdeki kullanımına dair açıklamalar.

Projeden sadece sarf malzemesi satın alınmış olup bunlar da araştırmada kullanılmışlardır.

c) Teknik ve Bilimsel Ayrıntılar (varsa Kesim III'de yer almayan ayrıntılar)

Yok

d) Proje ile ilgili çeşitli Kongrelerde sunulan bildiri:

Henüz yok

e) Proje'den hakemli dergilerde (SCI) yayımlanan yayın:

Henüz yok