



GSTT-1 ve GSTM-1 Gen Delesyonlarının Mide Kanseri Gelişim Riski Üzerine Etkisi

The Effect of GSTT-1 and GSTM-1 Gene Deletions on Gastric Cancer Development Risk

Ömer Faruk BÜK , Sönmez OCAK

Samsun Eğitim Araştırma Hastanesi, Genel Cerrahi, Samsun – Türkiye

(Bu makale yazar isimleri sırası hatalı olarak yayınlandığı için tekrar yayınlıyoruz).

Öz

GİRİŞ ve AMAÇ: Mide kanseri tüm dünyada en sık görülen kanserlerden olup erken tespiti ve risk faktörlerinin kontrolü en etkin korunma yöntemi olmaktadır. Değişik genlerin spesifik varyant alellerine bağlı genetik yatkınlık çevresel maruziyetin etkisini modifiye edebilmektedir. Bu çalışmada GSTT-1 ve GSTM-1 gen delesyonlarının mide kanseri üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

YÖNTEM ve GEREÇLER: Bu çalışmaya, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Kliniğine Mide Adenokanseri tanısı alan 61 hasta vaka grubu olarak, endoskopi ünitesine üst Gastrointestinal sistem endoskopisi yaptırmak için başvuran 61 hasta kontrol grubu olmak üzere toplamda 122 hasta dahil edildi. Vaka ve kontrol grubuna ait parafin doku örneklerinden sıvı DNA izole edildi. Sıvı formdaki DNA'lardan PCR yapılarak GSTT-1 ve GSTM-1 gen delesyonu durumuna bakıldı.

BULGULAR: Vaka grubunda tümöral ve normal dokuların GSTT-1 ve GSTM-1 gen delesyonu durumuna göre karşılaştırılmasında anlamlı bir fark ortaya çıkmadı. Vaka grubu tümöral ve normal dokularının GSTT-1 ve GSTM-1 gen delesyonu durumu ile kontrol grubu GSTT-1 ve GSTM-1 gen delesyonu durumu arasında anlamlı bir fark ortaya çıkmadı.

TARTIŞMA ve SONUÇ: Bu çalışmada GSTT-1 gen delesyonu ya da GSTM-1 gen delesyonu ile mide kanseri arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

Anahtar Kelimeler: Mide kanseri, Gen delesyonu, GSTT-1, GSTM-1

Abstract

INTRODUCTION: Gastric cancer is one of the most common malignancies worldwide, and early detection and controlling risk factors are best effective preventative methods. Genetic susceptibility due to specific variant alleles of different genes can modify the effect of environmental exposure. In this paper effects of GSTT-1 and GSTM-1 gene deletions on gastric cancer were evaluated.

METHODS: One-hundred and twenty-two patients were included in the study. Sixty-one patients those were treated in Ankara University Department of General Surgery and included in case group, 61 patients those were performed upper gastrointestinal system endoscopy included in control group. Liquid DNA was isolated from paraffin blocks and GSTT-1 and GSTM-1 gene deletions were evaluated in both groups.

RESULTS: There were no significant difference between normal and tumor tissue in the case group in terms of GSTT-1 and GSTM-1 deletions. Also in comparison of GSTT-1 and GSTM-1 gene deletion status, there were no significant difference between control group and case group.

DISCUSSION and CONCLUSION: In this study, no relationship was found between GSTT-1 or GSTM-1 gene deletions and gastric cancer.

Keywords: Gastric cancer, gene deletion, GSTT-1, GSTM-1

GİRİŞ

Mide kanseri dünyada en sık görülen gastrointestinal sistem kanserlerinden biridir (1,2). Düşük survi oranları göz önüne alındığında mide kanseri risk faktörlerinin belirlenmesi ve önlenmesi önem arz etmektedir. Mide kanserinin gelişiminde çevresel faktörlerin yanında genetik faktörlerin de rol oynadığı çalışmalarda gösterilmiştir (3-8).

Glutatyon S transferaz gen ailesi çevresel karsinojenlere karşı hücrelerin korunmasında rol oynamaktadır (9,10). GSTT1 ve GSTM1 gen delesyonlarının mide kanseri gelişimi arasındaki ilişki bazı çalışmalarda ortaya konmuş olmakla birlikte literatürde çelişkili veriler mevcuttur (11-15). Bu çalışmada mide kanseri olgularının tümör dokusu, tümör olmayan mide dokusu ve sağlıklı kontrol grubundaki kişilerden alınan mide dokusu örneklerindeki GST gen delesyon durumu araştırılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEMLER

Bu çalışma Ankara 2 Nolu Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı'nın 19 Ekim 2009 tarih ve 02-03 Sayılı onayı ile yapılmıştır. Çalışmaya Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi kliniğinde Ocak 2008- Ocak 2010 tarihleri arasında mide adenokarsinomu tanısı ile ameliyat edilen 61 hasta (Vaka grubu) ile dispeptik şikayetler nedeniyle yine aynı kliniğin endoskopi ünitesinde üst gis endoskopisi yapılan 61 hasta kontrol grubu olmak üzere toplam 122 hasta dahil edildi. Tüm olgulardan aydınlatılmış onam formları alındı ve çalışmaya katılan hastalara anket formu dolduruldu.

DNA İzolasyonu

Tümör DNA'sını elde etmek için rezeksiyon materyalinden rutin inceleme için hazırlanmış olan tümörlü parafin bloklardan 10 µ kalınlığında parafin kesitler alındı. İşaretlenen boyalı preparatlara denk gelen boyasız kesitlerin deparafinizasyonu sonrasında mikroskop altında tümör diseksiyonu yapıldı. Takiben diseksiyon materyali DNA ekstraksiyonunun gerçekleşeceği DNA ekstraksiyon buffer içine alındı. Ekstraksiyon buffer daha önce tanımlanan şekilde hazırlandı. Bloкта az sayıda tümör hücresi bulunması durumunda ise lazer mikrodiseksiyon ile elde edilen hücrelerden 'QIAamp DNA FFPE T tissue kit (Qiagen) ile DNA ekstraksiyonu gerçekleştirildi. Yukarıda tanımlanan yöntemler ile mide tümörlü hastaların rezeksiyon materyallerindeki tümörsüz sahadan alınan örneklerden ve kontrol grubundan alınan örneklerden DNA ekstraksiyonu yapıldı.

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

Bu çalışmada PCR tekniği ile GSTT1 ve GSTM1 gen delesyonları için seçilen bölgenin amplifikasyonu gerçekleştirildi. GSTT1 ve GSTM1 gen delesyonlarının belirlenmesi için yapılan polimeraz zincir reaksiyonlarında son konantrasyonları 10pmol/µl olacak şekilde primerler kullanıldı. GSTT1 geninin delesyonunu

göstermek amacı ile yapılan PCR tekniği için amplifikasyonda forward 5' TCCTTACTGGTCCTCACATCT - 3 reverse: 5'-GTGTGGCAGCATAAGCAGGACT-3' primer çiftleri kullanıldı. GSTM1 geninin delesyonunu göstermek amacı ile de forward: 5'-GAA GGT GGC CTC CTC CTT GG-3' reverse: 5'-AATTCTGGATTGTAGCAGAT-3' primer çiftleri kullanıldı.

İstatistiksel Analiz

Verilerin analizinde SPSS 23.0 paket program kullanıldı. Sayısal değişkenlerin karşılaştırılmasında ki-kare, sürekli değişkenlerin karşılaştırılmasında ise Student-t testi kullanıldı. Tümör dokusu ve sağlıklı dokulardaki GSTT1 ve GSTM1 dağılımları arasındaki farkın saptanması için Mc-Nemar testi kullanıldı. Tüm testler için $p < 0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

Olguların klinik ve demografik özellikleri tablo 1'de gösterilmiştir. Adenokanser tanısı alan hastalarda tümörlü dokular ile normal dokular arasında GSTT1 ve GSTM1 delesyonları açısından bir fark saptanmadı ($p=1.00$, $p=1.00$). Vaka grubunun tümörlü dokuları ile kontrol grubunun dokuları karşılaştırıldığında GSTT1 ve GSTM1 delesyonu açısından anlamlı fark bulunamadı ($p=0.823$ ve $p=0.856$). Vaka grubunun normal dokuları ile kontrol grubu dokuları arasında GSTT1 ve GSTM1 delesyonu açısından anlamlı fark bulunamadı ($p=1.00$ ve $p=1.00$). Vaka ve kontrol grubundaki hastalar cinsiyet açısından ayrı ayrı değerlendirildiğinde GSTT1 ve GSTM1 delesyonları açısından anlamlı fark saptanmadı. Sigara kullanımı ile GSTT1 ve GSTM1 delesyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0.975$). (Tablo 2).

TARTIŞMA

Çalışmamızda GSTT1 ya GSTM1 gen delesyonları ile mide kanseri arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. GST gen delesyonu ile ilgili yapılan çalışmaların çoğunda analizler periferik kan örnekleri alınarak yapılmıştır (13-15). Diğer

çalışmalardan farklı olarak bu çalışmada genetik analizler mide dokusundan yapılmıştır. Ayrıca genetik polimorfizmin yanı sıra yaşam tarzı, beslenme alışkanlığı ve sigara kullanma gibi faktörler de analiz edilmiştir. Torre ve arkadaşları tarafından yapılan meta-analizde periferik kan örneklerinden yapılan analizde GSTM1 delesyonu ile mide kanseri arasında anlamlı ilişki saptanmıştır. Yine bu çalışmada sigara kullanan hastaların GSTM1 eksikliğinin mide kanseri riskinin yaklaşık 3 kat arttığı bildirilmiştir (16). Ricerio ve arkadaşlarının yayınladığı bir meta-analizde GSTM1 ve mide kanseri arasında Asya ve Avrasya popülasyonunda pozitif korelasyon saptanırken, Avrupa ve Amerika popülasyonunda korelasyon saptanmamıştır (17). Bu meta-analiz etnik faktörlerin de mide kanseri gelişimi üzerinde etkili olabileceğini göstermektedir. Ülkemizde yapılan bir çalışmada Tamer ve arkadaşları GSTM1 delesyonunun mide kanseri riskini arttırdığını ileri sürmüşlerdir (18). Bizim çalışmamızda GSTM1 delesyonu ile mide kanseri arasında bir ilişki saptanmamıştır.

GSTT1 delesyonu ile ilgili literatürde çelişkili sonuçlar bulunmaktadır. Uzakdoğu ülkelerinden yapılan bazı çalışmalarda GSTT1 delesyonunun mide kanseri gelişiminde rol oynamadığı bildirilmiş iken karşıt görüş bildiren çalışmalar da mevcuttur (19-22). Tamer ve arkadaşları iki farklı bölgeden hastaların dahil edildiği çalışmada GSTT1 delesyonu ile mide kanseri arasında ilişki gösterememiştir (18). Bizim çalışmamızda GSTT1'in mide kanseri gelişimi üzerine bir etkisi olmadığı sonucuna varılmıştır. Çalışmalar arasındaki bu çelişkili sonuçlar bölgesel ve etnik faktörlerin gen delesyonları ve kanser gelişimi üzerine etkili olduğunu düşündürmektedir.

Çalışmamızda mide kanseri ile kahve tüketimi arasında anlamlı ilişki bulunmuş olup bu bulgu literatür verileri ile de uyumludur (23,24). Ancak fazla sayıda hasta içeren popülasyon bazlı çalışmalarda kahve tüketiminin mide kanseri riskini arttırmadığı bildirilmiştir (25,26).

Çalışmamızın belirtilmesi gereken birtakım kısıtlılıkları mevcuttur. İlk olarak çalışmamızda denek sayısı görece olarak az olup daha yüksek olgu sayısı içeren çalışmalar istatistiksel olarak farklılık gösterebilir. Ayrıca tümör yerleşim yeri, tümörün derecesi ve evresi ile gen delesyonları arasındaki ilişki çalışılmamış olup çalışmanın limitasyonları olarak kabul edilebilir.

Sonuç

Bulgularımız GSTT1 ve GSTM1 gen delesyonlarının mide kanseri üzerine etkili olmadığını göstermektedir. Benzer çalışmalarda gen delesyonu özellikle sigara içimi ile değerlendirildiğinde anlamlı sonuçlara ulaşılmıştır. Çalışmalar arası farklılıklar etnik ve coğrafik değişikliklerin mide kanseri gelişiminde etkili olması nedeniyle olabilir.

Bilgilendirilmiş Onam: Katılımcılardan yazılı onam alınmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemişlerdir.

Finansal Destek: Yazarlar finansal destek beyan etmemişlerdir.

KAYNAKLAR

1. Van Cutsem E, Sagaert X, Topal B, Haustermans K, Prenen H. Gastric cancer. Lancet. 2016 Nov 26;388(10060):2654-2664.
2. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. CA Cancer J Clin. 2011;61(2):69-90.
3. Bornschein J, Selgrad M, Warnecke M, Kuester D, Wex T, Malfertheiner P. H. pylori infection is a key risk factor for proximal gastric cancer. Dig Dis Sci. 2010; 55: 3124-31.
4. Oliveira C, Pinheiro H, Figueiredo J, Seruca R, Carneiro F. Familial gastric cancer: genetic susceptibility, pathology, and implications for management. Lancet Oncol 2015; 16: e60-70.
5. Blair V, Martin I, Shaw D, Winship I, Kerr D, Arnold J, ve ark. Hereditary diffuse gastric cancer: diagnosis and management. Clin Gastroenterol Hepatol. 2006 ;4(3):262-75.
6. Lunet N, Valbuena C, Vieira AL, Lopes C, Lopes C, David L, ve ark. Fruit and vegetable consumption and gastric cancer by location and histological type: case-control

- and meta-analysis. *Eur J Cancer Prev.* 2007;16(4):312-27.
7. Ladeiras-Lopes R, Pereira AK, Nogueira A, Pinheiro-Torres T, Pinto I, Santos-Pereira R, ve ark. Smoking and gastric cancer: systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Cancer Causes Control.* 2008 ;19(7):689-701.
 8. Yang P, Zhou Y, Chen B, Wan HW, Jia GQ, Bai HL, ve ark. Overweight, obesity and gastric cancer risk: results from a meta-analysis of cohort studies. *Eur J Cancer.* 2009 Nov;45(16):2867-73.
 9. Hayes JD, Pulford DJ. The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 1995;30(6):445-600.
 10. de Bruin WC, Wagenmans MJ, Peters WH. Expression of glutathione S-transferase alpha, P1-1 and T1-1 in the human gastrointestinal tract. *Jpn J Cancer Res.* 2000 ;91(3):310-6.
 11. García-González MA, Quintero E, Bujanda L, Nicolás D, Benito R, Strunk M, ve ark. Relevance of GSTM1, GSTT1, and GSP1 gene polymorphisms to gastric cancer susceptibility and phenotype. *Mutagenesis.* 2012 ;27(6):771-7.
 12. Boccia S, Sayed-Tabatabaei FA, Persiani R, Gianfagna F, Rauei S, Arzani D, ve ark. Polymorphisms in metabolic genes, their combination and interaction with tobacco smoke and alcohol consumption and risk of gastric cancer: a case-control study in an Italian population. *BMC Cancer.* 2007;7:206.
 13. Chen B, Cao L, Zhou Y, Yang P, Wan HW, Jia GQ, ve ark. Glutathione S-transferase T1 (GSTT1) gene polymorphism and gastric cancer susceptibility: a meta-analysis of epidemiologic studies. *Dig Dis Sci.* 2010 ;55(7):1831-8.
 14. Masoudi M, Saadat I, Omidvari S, Saadat M. Genetic polymorphisms of GSTO2, GSTM1, and GSTT1 and risk of gastric cancer. *Mol Biol Rep.* 2009;36(4):781-4.
 15. Piao JM, Shin MH, Kweon SS, Kim HN, Choi JS, Bae WK, ve ark. Glutathione-S-transferase (GSTM1, GSTT1) and the risk of gastrointestinal cancer in a Korean population. *World J Gastroenterol.* 2009;15(45):5716-21.
 16. La Torre G, Boccia S, Ricciardi G. Glutathione S-transferase M1 status and gastric cancer risk: a meta-analysis. *Cancer Lett.* 2005 ;217(1):53-60
 17. Ribeiro RX, Nascimento CILL, Silva AMTC. GENOTYPE ASSOCIATION GSTM1 NULL AND GASTRIC CANCER: EVIDENCE-BASED META-ANALYSIS. *Arq Gastroenterol.* 2017 ;54(2):101-108.
 18. Tamer L, Ateş NA, Ateş C, Ercan B, Elipek T, Yildirim H, ve ark. Glutathione S-transferase M1, T1 and P1 genetic polymorphisms, cigarette smoking and gastric cancer risk. *Cell Biochem Funct.* 2005; 23(4):267-72.
 19. Chen ZH, Xian JF, Luo LP. Association between GSTM1, GSTT1, and GSP1 polymorphisms and gastric cancer risk, and their interactions with environmental factors. *Genet Mol Res.* 2017 ;16(1).
 20. Hidaka A, Sasazuki S, Matsuo K, Ito H, Charvat H, Sawada ve ark. JPHC Study Group. CYP1A1, GSTM1 and GSTT1 genetic polymorphisms and gastric cancer risk among Japanese: A nested case-control study within a large-scale population-based prospective study. *Int J Cancer.* 2016 ;139(4):759-68.
 21. Li XM, Yu XW, Yuan Y, Pu MZ, Zhang HX, Wang KJ, ve ark. Glutathione S-transferase P1, gene-gene interaction, and lung cancer susceptibility in the Chinese population: An updated meta-analysis and review. *J Cancer Res Ther.* 2015 ;11(3):565-70.
 22. Zeng Y, Bai J, Deng LC, Xie YP, Zhao F, Huang Y. Association of the Glutathione S-transferase T1 Null Genotype with Risk of Gastric Cancer: a Meta-analysis in Asian Populations. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2016;17(3):1141-8.
 23. Deng W, Yang H, Wang J, Cai J, Bai Z, Song J, et al. Coffee consumption and the risk of incident gastric cancer--A meta-analysis of prospective cohort studies. *Nutr Cancer.* 2016;68(1):40-7.
 24. Larsson SC, Giovannucci E, Wolk A. Coffee consumption and stomach cancer risk in a cohort of Swedish women. *Int J Cancer.* 2006 ;119(9):2186-9.
 25. Kim H, Keum N, Giovannucci EL, Fuchs CS, Bao Y. Garlic intake and gastric cancer risk: Results from two large prospective US cohort studies. *Int J Cancer.* 2018;143(5):1047-1053.
 26. Parra-Lara LG, Mendoza-Urbano DM, Bravo JC, Salamanca CH, Zambrano AR. Coffee Consumption, Antioxidant Properties and Stomach Cancer. *Preprints* 2020, 2020050280

Tablo 1. Grupların demografik ve klinik özellikleri

	Vaka	Kontrol	P değeri
Yaş (ortalama±SS)	60.46 ±10.2	41.79 ±13.5	p<0.01
Cinsiyet			
Erkek	42 (%68.9)	25 (%41)	p<0.01
Kadın	19 (%31.1)	36 (%59)	
Sigara			
İçiyor	26 (%42.6)	33 (%54.1)	p<0.162
İçmiyor	26 (%42.6)	16 (%26.2)	
Ex-smoker	9 (%14.8)	12 (%19.7)	
Alkol			
Yok	33 (%54.1)	35 (%57.4)	*
Nadiren	22 (%36.1)	25 (%41)	
Haftada bir	5 (%8.2)	0 (%0)	
Sık	1 (%1.6)	1 (%1.6)	
Tütsülenmiş gıda			
Yok	3 (%4.9)	4 (%6.6)	p=0.240
Nadiren	39 (%63.9)	46 (%75.4)	
Sık	19 (%31.1)	11 (%18)	
Kahve			
Yok	26 (%42.6)	21 (%34.4)	P<0.01
Nadiren	13 (% 21.3)	31 (%50.8)	
Sık	22 (% 36.1)	9 (% 14.8)	
Çay			
Yok	4 (%6.6)	1 (%1.6)	*
Nadiren	1 (% 1.6)	2 (%3.3)	
Sık	56(% 91.8)	58 (% 95.1)	

Tablo 2. Çalışma gruplarındaki GSTT1 ve GSTM1 delesyonları

	Normal doku (Vaka grubu)	Tümör Dokusu (Vaka grubu)
GSTT1 delesyonu (n)		
Var	12	13
Yok	49	48
Toplam	61	61
GSTM1 delesyonu (n)		
Var	29	30
Yok	32	31
Toplam	61	61
	Normal doku (Kontrol grubu)	Tümör Dokusu (Vaka grubu)
GSTT1 delesyonu (n)		
Var	12	13
Yok	49	48
Toplam	61	61
GSTM1 delesyonu (n)		
Var	29	31
Yok	32	30
Toplam	61	61
	Normal doku (Kontrol Grubu)	Normal doku (Vaka grubu)
GSTT1 delesyonu (n)		
Var	12	12
Yok	49	49
Toplam	61	61
GSTM1 delesyonu (n)		
Var	29	30
Yok	32	31
Toplam	61	61