

ÖZGÜN ARAŞTIRMA / ORIGINAL ARTICLE

Glutathione S-transferase P1 geni ekson-6 (ala114val) polimorfizminin akciğer kanseri etyolojisindeki olası etkileri*Probable effects of glutathione s-transferase p1 gene exon-6 (ala114val) polymorphism on the etiology of lung cancer*Etem Akbaş¹, Ertuğrul Seyrek², Nazan Eras Erdoğan¹, Hicran Şenli¹, İlter Helvacı³

ÖZET

Amaç: Akciğer kanseri etyolojisinde en önemli faktör sigara kullanımı olmakla beraber, genetik faktörlerin de önemli yeri vardır. Genetik etmenlerin rolüne dair yapılan çalışmalarda başta Glutasyon S-Transferaz P1 (GSTP1) geni olmak üzere bazı genetik polimorfizmlerin önemli bir yeri olduğu saptanmıştır. GSTP1 geni, ksenobiyotik metabolizmasının faz II evresinde rol oynamaktadır. GSTP1 ekson-6 polimorfizmleri gen ürünü üzerinde fonksiyonel etkiye sahiptir ve enzim aktivitesinde farklılığa neden olmaktadır. Bu çalışmanın amacı GSTP1geni ekson-6 (ala114val) polimorfizminin akciğer kanseri etyolojisindeki olası etkilerini araştırmaktır.

Gereç ve yöntem: Araştırma popülasyonumuz; 80 kişi kontrol grubu ve 80 kişi akciğer kanserli olmak üzere toplam 160 kişiden oluşmuştur. Bireylerden alınan kanlardan DNA izolasyonu yapılmış ve genotipler polimerase chain reaction (PCR), ve restriction fragment length polymorphisms (RFLP) yöntemleri kullanılarak belirlenmiştir.

Bulgular: GSTP1 geni ekzon 6 (ala114val) polimorfizm bu çalışmada akciğer kanseri etyolojisinde etkili bulunmadı. Bu çalışmada sigara içme, ileri yaş, ve erkek cinsiyet akciğer kanseri için önemli risk faktörleri olarak belirlendi. İlave olarak kendi çalışma grubumuzda GSTP1 geni ekzon 6 (ala114val) polimorfizm sıklığını belirledik.

Sonuç: Sonuç olarak, bu çalışmadan elde ettiğimiz verilerle GSTP1 geni ekzon 6 (ala114val) polimorfizmi akciğer kanseri etyolojisinde etkili bulunmadı.

Anahtar kelimeler: GSTP1 polimorfizmi, ekson-6 (ala114val), akciğer kanseri

ABSTRACT

Objectives: Genetic susceptibility also has significant effects on the etiology of lung cancer, besides smoking. Previously it has been reported that some genetic polymorphisms have important roles; especially Glutasyon S-Transferaz P1 (GSTP1) gene for the development of lung cancer. GSTP1 gene has a role in phase II of xenobiotic metabolism. GSTP1 Exon-6 polymorphisms have functional effects on gene production and causes differences in enzyme activity. The aim of this study was to investigate probable effects of GSTP1gene exon-6 (ala114val) polymorphism on the etiology of lung cancer.

Materials and methods: Our research population consisted of 160 subjects; 80 as control group and 80 suffering from lung cancer. Genomic DNA was extracted from peripheral blood leukocytes and the genotypes have been determined by using PCR and RFLP methods.

Results: No effect of exon 6 (ala114val) polymorphism genotype of GSTP1 gene were found on etiology of lung cancer in present study. This study showed that smoking, old age and being male are important risk factors for lung cancer. Additionally, our sample's GSTP1 gene exon 6 (ala114val) polymorphism genotype frequencies were determined.

Conclusions: Our data derived from present study did not suggest an effect of GSTP1gene exon-6 (ala114val) polymorphism on the etiology of lung cancer.

Key words: Polimorphism of GSTP1 - exon-6 (ala114val) - lung cancer -

¹ Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Mersin, Türkiye² Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Onkoloji Bilim Dalı, Mersin, Türkiye³ Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyoistatistik Anabilim Dalı, Mersin, Türkiye

Yazışma Adresi /Correspondence: Dr. Etem Akbaş,

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD, Mersin, Türkiye Email: etem_a@yahoo.com

Geliş Tarihi / Received: 12.03.2012, Kabul Tarihi / Accepted: 06.08.2012

Copyright © Dicle Tıp Dergisi 2012, Her hakkı saklıdır / All rights reserved

GİRİŞ

Akciğer kanseri dünyada en yaygın görülen kanser türlerinden olup ABD’de ölümlerle sonuçlanan kanser türleri içinde % 28 ile başta gelmektedir. Erkeklerde görülme sıklığı kadınlara göre yaklaşık iki kat daha yüksektir.¹ 5 yıllık sağkalım %15 civarındadır. Akciğer kanseri histolojik olarak; Skuamoz hücreli karsinom, adenokarsinom, küçük hücreli karsinom, büyük hücreli karsinom ve adenoskuamoz karsinom olmak üzere 5 alt tipe ayrılır.² Genellikle 45 yaşından sonra ortaya çıkmakta ve ileri yaş gruplarında insidansı yükselmektedir. Akciğer kanserinin etyolojisinde en büyük risk faktörü sigara kullanımı (erkeklerde %92, kadınlarda %78) olmakla beraber meslek koşulları, beslenme, yaş, cinsiyet, sosyoekonomik durum ve genetik yatkınlık da önemli yer tutmaktadır.³⁻⁵ Genetik faktörler; tümör süpresör genler, onkogenler, ksenobiyotik metabolizması enzimlerini kodlayan genler ve gen amplifikasyonunun etkileşimlerinden oluşur.⁶ Akciğer kanserinin etyolojisinde genetik yatkınlığın rolü büyüktür ve ebeveynlerden birinde akciğer kanseri görülen olguların çocuklarında akciğer kanseri riski önemli derecede artmaktadır.⁷

Sigara içeriğindeki karsinojen maddelerin önemli bir bölümü sigara dumanındaki polisiklik aromatik hidrokarbonlardan (PAH) oluşmaktadır.⁸ Glutasyon S-Transferaz (GST) enzimleri ksenobiyotik metabolizmasının Faz II evresindeki konjugasyon reaksiyonlarını katalizlerler. Bu enzimler PAH’lar gibi potansiyel olarak toksik olan ksenobiyotiklerin, glutasyon (GSH, L- γ -glutamyl-L-cysteinyl-glycine) ile konjuge olmasını ve bu şekilde polar metabolitlere dönüştürerek vücuttan atılımını sağlarlar.⁹ İnsan sitozolik glutasyon S-transferaz enzimleri, Alpha (A), Mu (M), Pi (P) ve Teta (T) olmak üzere 4 sınıfa ayrılırlar. GST’ların Zeta (GSTZ1) olarak adlandırılan yeni bir formu daha belirlenmiştir.¹⁰ Ayrıca kromozomal lokalizasyonu tam olarak belirlenmemekle birlikte GST kappa (K) adı verilen bir mitokondrial glutasyon S-transferaz üzerinde çalışılmaktadır. GSTM1, GSTM3, GSTT1, GSTT2 ve GSTP1 insan populasyonlarında polimorfiktir. GSTP1 geninin kromozomal lokalizasyonu 11q13 olup, yaklaşık 3 kb uzunluğundadır ve 7 ekson içermektedir.¹¹ GSTP1 geninde biri ekson 5, diğeri ise ekson 6’da olmak üzere 2 polimorfizm ve GSTP1*A (ile105/ala114), GSTP1*B (val105/ala114), GSTP1*C (val105/val114) ve GSTP1*D

(ile105/val114) olmak üzere 4 allelik varyant bulunmaktadır. Bu polimorfizmlerin her ikisi de tek nükleotid değişimiyle ilişkilidir. GSTP1’deki ekson-6 polimorfizmi 341. nükleotidlerdeki C \rightarrow T transisyonlarına yol açmaktadır. Tek nükleotid değişimleri sonucu oluşan aminoasit değişiklikleri GSTP peptidinin hidrofobik substrat bağlayan aktif bölgesinde farklılığa yol açarak enzimin ksenobiyotik metabolizmasıyla ilgili fonksiyonunu kısıtlamaktadır.¹² Bu durum ise aktifleşmiş PAH’ların detoksifikasyonunu azaltarak ortamda birikmesine yol açmakta, artan PAH ise DNA hasarını tetikleyerek kansere neden olabilmektedir. Bu konuda yapılan epidemiyolojik çalışmalarda çelişkili sonuçlar bildirilmektedir. Örneğin valin varyantına sahip kişilerde GSTP1 geninin PAH’ların diol epoksidlerine karşı aktivitesinin çok düşük olduğunu bildiren çalışmalar olmakla birlikte¹³⁻¹⁵ bunun aksine yapılan bir çalışmada ise GSTP1/val105’in GSTP1/ile105’e göre kanserojenik epoksidlere karşı daha yüksek katalitik fonksiyona sahip olduğu gösterilmiştir.⁸

Glutasyon S-Transferaz enziminin ekson 6 polimorfizminin akciğer kanseri ile ilişkisini belirlemeye yönelik yapılan çalışmalarda akciğer kanserine yakalanma riskini etkilediğine dair bulgularda çelişkili sonuçlar söz konusudur. Wang ve arkadaşları¹⁶ kuvvetli bir ilişki olduğunu rapor ederken, Watson ve arkadaşları¹⁷ ise ilişkinin bulunmadığını bildirmektedir. Bütün bu çelişkili sonuçlar bu konuda daha fazla çalışmaya gereksinim duyulduğunu göstermektedir. Çalışmamızın temel hareket noktası; GSTP1 geninin ekson 6 polimorfizminin akciğer kanserine yakalanma riskine olası etkisini belirlemektir. Ayrıca bireylere uygulanacak kayıt formu bilgileri değerlendirilerek akciğer kanserine yakalanmada etkili diğer risk faktörlerinden sigara kullanımı, ileri yaş ve cinsiyet’in olası etkilerini belirlemektir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırma populasyonu

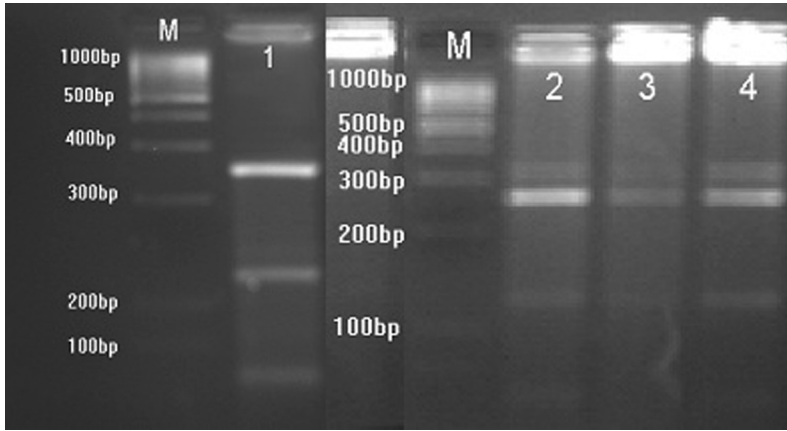
Araştırma populasyonu; Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Onkoloji biriminde 2004-2011 yılları arasında akciğer kanseri tanısı konulmuş 80 kişi deney grubu, aynı yaş ve cinsiyet özellikleri göz önünde tutularak seçilen sağlıklı 80 kişi de kontrol grubu olmak üzere 160 kişiden oluşmuştur. Kontrol ve deney grubunun her ikisi de 69 erkek ve 11 bayandan oluşmaktadır. Kontrol grubunda ortalama

yaş $52,9 \pm 8,3$ iken deney grubunun yaş ortalaması $54,1 \pm 8,5$ 'dir. Akciğer kanserine yakalanmada etkili diğer risk faktörlerinin olası etkilerini belirlemek için bireylerin yaş, meslek, sigara kullanımı ve ailelerinde akciğer kanseri öyküsü gibi bilgileri içeren bilgi formu doldurulmuştur. Bireylerden, 1 ml, %2'lik EDTA içeren 15 ml'lik santrifüj tüplerine 7-8 ml periferik kan alınmıştır. DNA'lar standart tuzla çöktürme yöntemine göre elde edilmiştir.¹⁸

Yöntem

Ekson 6 polimorfizminin belirlenmesi için 410 bp'lik bölgenin amplifikasyonu 5'- GGG AGC AAG CAG AGG AGA AT-3' ve R 5'- CAG GTT GTA GTC AGC GAA GGAG-3' primerleri kullanılarak yapılmıştır. PCR koşulları; 4 dk 95°C'de ilk

denatürasyon; 40 siklus 95°C'de 30 sn denatürasyon, 1 dk 62°C'de annealing ve 1 dk 72°C'de uzama ve son uzama 1 siklus 72°C'de 5 dk olarak uygulanmıştır. PCR işlemi sonunda PCR ürünleri, Acl I restriksiyon enzimiyle, her örneğe 5 ünite olacak şekilde özel bufferi ile hazırlanan karışımdan eşit miktarda dağıtılarak, 37°C'lik etüvde 1 gece kesim işlemi için inkübasyona bırakıldı. Ekson 6'daki polimorfizm için yapılan elektroforez sonucunda gözlenen bantların uzunlukları; 365 bp, 247 bp, 118 bp ve 55bp olarak saptandı. Bu bant uzunluklarına göre yapılan değerlendirmede; 247, 118 ve 55 bp'lik 3 bantın görüldüğü bireyler CC; 365, 247, 118 ve 55 bp'lik bantların görüldüğü bireyler CT; 365 ve 55 bp'lik bantların görüldüğü bireyler TT olarak tanımlandı (şekil 1).



Şekil 1. GSTP1 ekson 6 (ala114val) polimorfizmine ait genotiplerin elektroforez sonrası fotoğrafı.

1 numara CC yabancıl genotip, 2- 4 numara CT heterozigot polimorfik genotip, M ise 100bp'lik markeri göstermektedir.

İstatiksel değerlendirme

Glutasyon S-transferaz P1 geninin ekson 6 (ala-114val) polimorfizmi ile akciğer kanseri riski arasındaki ilişki genotip açısından çoklu lojistik regresyon modeli ile, allel açısından ise ki-kare analizi ile SPSS (Statistical Package for Social Sciences, version 10.0) paket programı kullanılarak değerlendirildi. $P < 0.05$ ve daha küçük değerler istatistiksel anlamlı kabul edildi. Her iki polimorfizmin genotip frekanslarının Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadığı ki-kare testiyle belirlenmiştir.

BULGULAR

GSTP1 geni ekson 6 (ala114val) polimorfizmi genotip verilerini incelediğimizde; Yabancıl CC genotip değeri kontrol grubunda 39 (%48,8) iken akciğer kanserlilerde 32 (%40), CT polimorfik heterozigot genotip 38 (% 47,5) akciğer kanserlilerde 43 (%53,7) ve TT polimorfik homozigot genotip ise kontrol grubunda 3 (%3,7) iken akciğer kanserlilerde 5 (%6,3) olarak bulunmuştur. Glutasyon S-transferaz P1 geninin 6 (ala114val) polimorfizmi ile akciğer kanseri riskine olası etkilerini incelediğimizde: Ekson 6 polimorfizmine ait allel ve genotip oranları ile akciğer kanseri arasında bir ilişki olmadığı saptanmıştır ($p=0.324$). Bu sonuç hem polimorfik TT genotipini homozigot olarak taşıma durumunda ($p=0.173$) hem de heterozigot + homozigot (CT+TT) durumunda ($p=0.401$) değişmemektedir (Tablo 1).

Tablo 1. GSTP1 ekson 6 polimorfizmi allel ve genotiplerinin dağılımı

GSTP1 ekson 6, Allel ve genotipleri	Kontrol grubu n (%)	Akciğer kanseri n (%)	P
CC	39 (48,8)	32 (40,0)	
CT	38 (47,5)	43 (53,7)	
TT	3 (3,7)	5 (6,3)	0,173
CT+TT	41 (51,2)	48 (60,0)	
C Allel frekansı	115	107	0,401

Akciğer kanserine yakalanmada etkili diğer risk faktörlerinden aile öyküsü, yaş, cinsiyet ve sigara kullanımına ait bulguları değerlendirdiğimizde; ailede akciğer kanseri öyküsüne dair oranlar çok küçük olduğundan değerlendirme dışı bırakılmıştır. Yaş faktörünü incelediğimizde ise; Yaş artışına paralel olarak akciğer kanserine yakalanma riski artmaktadır ($p=0.001$). Akciğer kanserlilerin yaş ortalaması $54,8\pm 8,5$ 'tur. Toplam 80 kişilik akciğer kanserli hastamızın 31 tanesi ortalama yaşın altında, 49 tanesi ise ortalama yaşın üzerindedir. Ortalama değerler üzerindeki 1 yıllık artışa karşılık akciğer kanserine yakalanma riski 1.11 oranında artmaktadır. Sigara kullanımının etkisini incelediğimizde; kontrol grubumuzda yer alan 80 bireyden 24 kişi sigara kullanmıyor, 15 kişi günde bir paket, 41 kişi ise bir paketten fazla sigara kullanıyor. Akciğer kanserlilerde ise 12 kişi sigara kullanmıyor, 24 kişi günde bir paket, 44 kişi ise günde bir paketten fazla sigara kullanmaktadır. Sigara kullanımı akciğer kanserine yakalanma riskini artırmaktadır ($p=0.01$). Özellikle günde bir paketin üzerinde içenlerde bu fark daha belirgindir ($p=0,001$). Cinsiyet faktörünün etkisini incelediğimizde; toplam 80 kişilik akciğer kanserli hastamızın 11 tanesi kadın, 69 tanesi erkektir. Akciğer kanserine yakalanma riski erkeklerde kadınlara göre daha yüksektir ($p<0.001$).

TARTIŞMA

GSTP1 geni ekson 6 (ala114val) polimorfizmi genotip frekansları: Yabani CC genotip oranı % 48,8 iken akciğer kanserlilerde %40, CT polimorfik heterozigot genotip oranı kontrol grubunda %47,5 iken akciğer kanserlilerde %53,7 ve TT polimorfik homozigot genotip oranı kontrol grubunda %3,7 iken akciğer kanserlilerde %6,3 olarak bulunmuştur. Çalışmamız sonunda GSTP1 geninin ekson 6 (ala114val) polimorfizmi genotipini taşımanın akciğer

kanserine yakalanma riskini etkilemediği saptanmıştır. GSTP1'in ekson 6 polimorfizminin akciğer kanserine yakalanma riskine etkilerini değerlendiren diğer çalışmaları incelediğimizde: Wang ve arkadaşları¹⁶ 582 Kafkas kökenli akciğer kanserli ve 600 sağlıklı bireyde yaptıkları çalışmada T allel genotiplerine (CT+TT) sahip bireylerde akciğer kanseri riskinin CC genotipine sahip bireylere göre daha yüksek olduğunu saptamışlardır ($p<0.01$). Watson ve arkadaşları¹⁷ opere edilmiş 34 akciğer kanserli bireyle yaptıkları çalışmada; Ekson 6 polimorfizminin enzimin katalitik aktivitesi üzerinde fonksiyonel olmadığını ve bu nedenle Akciğer kanseri riskini etkilemediğini öne sürmektedir. Bazı çalışmalardaki bulgular; GSTP1 genindeki bu polimorfizmlerin tek başına akciğer kanseri riskini etkilemediği, ancak diğer bazı genetik polimorfizmlerle birlikte bulunmaları halinde riski değiştirebileceği yönündedir. Vural ve arkadaşları¹⁹ 89 küçük hücreli akciğer kanserli ve 108 kronik obstruktive akciğer hastasında yaptıkları çalışmada: Küçük hücre akciğer kanserlilerde exon-6 polimorfik genotip oranlarının kronik obstruktif akciğer hastalarından daha düşük olduğunu belirlemişlerdir. Saib ve arkadaşları²⁰ GSTP1 ekson-6 polimorfizminin küçük hücre akciğer kanserlilerde risk faktörü olmadığını saptamışlardır. Booton ve arkadaşları²¹ GSTP1 ekson-6 polimorfizminin Küçük hücre akciğer kanserlilerde risk faktörü olmadığını saptamışlardır. Ali Osman ve arkadaşları¹¹ GSTP1 enziminin ekspresyonu ve katalitik fonksiyonlarına yönelik yapılan çalışmalarda ekson 6'daki polimorfizm sonucu meydana gelen aminoasit değişikliğinin de enzim aktivitesi üzerinde fonksiyonel öneme sahip olduğunu bildirilmiştir. GSTP1 geninin ekson 6 (ala114val) polimorfizmi genotipini taşımanın akciğer kanserine yakalanma riskini etkilemediği şeklindeki bulgumuz Wang ve arkadaşları, Vural ve arkadaşları, Saib ve arkadaşları ve Booton ve arkadaşlarının bulgula-

riyle örtüşürken - Wang ve arkadaşları ile Ali Osman ve arkadaşlarının bulgularıyla çelişmektedir. GSTP1 geninin ekson 6 (ala114val) polimorfizminin akciğer kanserine yakalanma riskine etkisinin farklı populasyonlar için farklı olduğu Watson ve arkadaşlarıncada dikkat çekici bulunmuştur. Bizim bulgumuz da bu yöndedir.

Akciğer kanserine yakalanmada etkili diğer risk faktörlerine dair bulgularımıza baktığımızda; Sigara kullanımı, ileri yaş ve erkek cinsiyette olmanın akciğer kanserine yakalanma riskini artırdığı saptanmıştır. Akciğer kanserinin etiolojisinde en önemli risk etmeninin sigara kullanımı olduğu ve sigara ile kanserogenez mekanizması giriş kısmında ayrıntılı olarak verilmişti. Ayrıca; Akciğer kanserinde en büyük risk etmeninin sigara olması, sigara dumanında bulunan ve kanserojen olan PAH gibi toksik maddelerin ksenobiotik metabolizmasıyla atılımında rol oynayan çeşitli enzimlerin önemini ortaya koymaktadır. GSTP enzimi de bu metabolizmanın faz II reaksiyonlarını katalizleyen önemli enzimlerinden biridir. GSTP enziminin akciğer kanserindeki önemi, akciğerlerde en fazla eksprese edilen GST enzimi olmasının yanı sıra sigara dumanında bulunan ve önemli bir kanserojen madde olan benzo(a)pyren'in, BPDE gibi aktive olmuş ürünlerin metabolize eden en önemli enzim olmasıdır. GSTP1 enzimi polimorfizmdeki tek nükleotid değişimleri ekson 6'nın 114. kodonundaki alanin aminoasiti yerine valin sentezlenmektedir ve bu aminoasit değişiklikleri enzimin substrat bağlayan aktif bölgesinde farklılığa yol açmaktadır. Akciğer kanserine yakalanmada diğer risk faktörlerinden yaş,³⁻⁵ erkek cinsiyet^{1,3-5} ve sigara kullanımının^{1,3-5} akciğer kanserine yakalanma riskini arttırdığı ilgili literatür bulgularıyla da örtüşmektedir.

Bu çalışma ile GSTP1 geninin ekson 6 (ala-114val) polimorfizmi genotipini taşımanın akciğer kanserine yakalanma riskini etkilemediği saptanmıştır. Ekson-6 polimorfizmi ile akciğer kanseri ilişkisine dair mevcut bilgiler bu irksal farklılıkların olduğu yönündedir. Bizim sonuçlarımız; Bu polimorfizmin akciğer kanseri ile ilişkisinin ırklara göre farklılık gösterdiği bilgisinden hareketle Mersin özelinde Türk toplumuna dair bilgileri yansıtmıştır. Akciğer kanserine yakalanmada etkili diğer risk faktörlerinden sigara kullanımı, ileri yaş ve erkek cinsiyette olmanın akciğer kanserine yakalanmada önemli risk faktörleri olduğu bir kez daha teyit

edilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen önemli bir sonucumuzda örneklemimize ait GSTP1 geni ekson 6 (ala114val) polimorfizmi genotip frekanslarının belirlenmesi olmuştur. Şayet ilerleyen süreçte bu polimorfizmin başka hastalıklara yatkınlık oluşturmada risk faktörü ya da koruyucu etkisi saptanırsa - örneklemimize ait hazır bilgi oluşturacaktır.

KAYNAKLAR

1. Magrath I, Litvak J. Cancer in developing countries: opportunity and challenge. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85(11):862-74.
2. Topuz E. Akciğer Kanseri Biyoloji, Tanı, Evreleme ve Tedavi. İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü Yayınları, 2001.
3. Radzikowska E, Roszkowski K, Giaz P. Lung cancer in patients under 50 years old. *Lung Cancer* 2001; 33(2-3):203-11.
4. Skarin AT, Herbst RS, Leong TL, Bailey A, Sugarbaker D. Lung cancer in patients under age 40. *Lung Cancer* 2001;32(3):255-64.
5. Garfinkel L, Stellman SD. Smoking and lung cancer in women: findings in a prospective study. *Cancer Res*1988;48:6951-5.
6. Haugen A, Ryberg D, Mollerup S, Zienolddiny S, Skaug V, Svendsrud DH. Gene-environment interactions in human lung cancer. *Toxicol Lett* 2000;112(2):233-7.
7. Wu AH, Fontham ET, Reynolds P, et al. Family history of cancer and risk of lung cancer among lifetime non-smoking women in the United States. *Am J Epidemiol* 1996;143(6):535-42.
8. Sundberg K, Johansson AS, Stenberg G, et al. Differences in the catalytic efficiencies of allelic variants of glutathione S transferase P1-1 towards carcinogenic diol epoxides of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Carcinogenesis* 1998;19(3):433-6.
9. Rahman I, MacNee W. Lung glutathione and oxidative stress: implications in cigarette smoke-induced airway disease. *Am J Physiol* 1999;277(9):1067-88.
10. Eaton DL, Bammler TK. Concise review of the glutathione S-transferases and their significance to toxicology. *Toxicol Sci* 1999;49(2):156-64.
11. Ali-Osman F, Akande O, Antoun G, Mao JX, Buolamwini J. Molecular cloning, characterization and expression in *Escherichia coli* of full-length cDNAs of three human glutathione S-transferase pi gene variants. *J Biol Chem* 1997;272(15):10004-12.
12. Ishii T, Matsuse T, Teramoto S, et al. Glutathione S-transferase P1 (GSTP1) polymorphism in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax*1999;54(8):693-6.
13. Nazar-Steward V, Vaugan TL, Stapleton P, Van Loo J, Blades NB, Eaton DL. A population-based study of glutathione S-transferase M1,T1 and P1 genotypes and risk for lung cancer. *Lung Cancer* 2003;40(2):247-58.
14. Harries LW, Stubbins MJ, Forman D, Howard CW, Wolf CR. Identification of genetic polymorphisms at the glutathi-

- one S-transferase Pi locus and association with susceptibility to bladder, testicular and prostate cancer. *Carcinogenesis* 1997;18(4):641-4.
15. Ryberg D, Skaug V, Hewer A, et al. Genotypes of glutathione transferase M1 and P1 and their significance for lung DNA adduct levels and cancer risk. *Carcinogenesis* 1997;18(17):1285-9.
 16. Wang Y, Spitz MR, Schhabath MB, Ali-Osman F, Mata H, Wu X. Association between glutathione S-transferase P1 polymorphisms and lung cancer risk in Caucasians : a case-control study. *Lung Cancer* 2003;40(1):25-32.
 17. Watson MA, Steward RK, Smith BJ, Massey TE, Bell DA. Human glutathione S-transferase P1 polymorphisms: Relationship to lung tissue enzyme activity and population frequency distribution. *Carcinogenesis* 1998;19(2):275-80.
 18. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988;16(9):1215-20.
 19. Vural B, Yakar F, Derin D, et al. Evaluation of Glutathione S-Transferase P1 Polymorphisms (Ile105Val and Ala-114Val) in Patients with Small Cell Lung Cancer. *Genet Test Mol Biomarkers* 2012; Feb 17. [Epub ahead of print].
 20. Saip R, Sen F, Vural B, et al. Glutathione S-transferase P1 polymorphisms are associated with time to tumor progression in small cell lung cancer patients *J BUON* 2011;16(2):241-6.
 21. Booton R, Ward T, Heighway J, Ashcroft L, Morris J, Thatcher N. Glutathione-S-transferase P1 isoenzyme polymorphisms, platinum-based chemotherapy, and non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol* 2007; 2(8):734-40.