

# Glutatyon S-transferaz (GST) izoenzimlerinin çeşitli kanser vakalarında araştırılması\*

Mehmet Aköz<sup>1</sup>, Hüsamettin Vatansev<sup>2</sup>, Mehmet Gürbilek<sup>1</sup>, İdris Akkuş<sup>1</sup>, Celalettin Vatansev<sup>3</sup>, Bünyamin Kaptanoğlu<sup>4</sup>

Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi <sup>1</sup>Biyokimya ve <sup>3</sup>Genel Cerrahi Anabilim Dalları, Konya

<sup>2</sup>Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Konya

<sup>4</sup>Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Denizli

**Amaç:** Bu çalışmada glutatyon S-transferaz (GST) izoenzimlerinden GST- $\alpha$ , GST- $\pi$ , GST- $\mu$ 'nin kanser hastaları ve sağlıklı kontrollerde araştırılması amaçlanmıştır. **Yöntem:** 29-90 (57 $\pm$ 13) yaşları arasında 66 (22 kadın, 44 erkek) kanserli hasta ile yaşları 23-59 (36 $\pm$ 11) arasında 32 (16 kadın,16 erkek) sağlıklı kişide GST- $\alpha$ , GST- $\pi$  ve kanserli hastalarda GST- $\mu$  düzeyleri araştırıldı. **Bulgular:** Kanser vakalarında sırasıyla GST- $\alpha$  ve GST- $\pi$  değerleri gastrointestinal sistem (GIS) kanserlerinde 5.60 $\pm$ 3.74 ng/ml ve 37.24 $\pm$ 10.74 ng/ml, karaciğer kanserinde 6.20 $\pm$ 2.56 ng/ml ve 35.33 $\pm$ 9.57 ng/ml, mide kanserinde 5.73 $\pm$ 4.91 ng/ml ve 39.77 $\pm$ 13.18 ng/ml, diğer kanserlerde 4.62 $\pm$ 3.46 ng/ml ve 22.99 $\pm$ 13.46 ng/ml, kontrol grubunda ise 4.77 $\pm$ 3.24 ng/ml ve 23.47 $\pm$ 9.97 ng/ml olarak bulundu. GST- $\mu$  düzeyleri ise kanserli hasta grubunda % 59.52 oranında negatif olarak belirlendi. Tüm hasta grupları ile kontrol grubuna ait GST- $\alpha$  değerleri arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmazken, GST- $\pi$  düzeyleri arasında önemli fark olduğu görüldü. **Sonuç:** GST- $\pi$  nin özellikle gastrointestinal sistem, mide ve karaciğer kanserlerinin teşhisinde önemli bir belirleyici olabileceği, GST- $\mu$  yokluğunun ise kanser açısından risk faktörü oluşturabileceği kanaatine varıldı.

Anahtar kelimeler: Glutatyon S-transferaz (GST), GST- $\alpha$ , GST- $\pi$ , GST- $\mu$ , kanser

## Investigation of glutathion S-transferase (GST) isoenzymes in various cancer cases

**Objective:** In this study, investigation of serum GST- $\alpha$ , GST- $\pi$  and GST- $\mu$  of cancer patients and healthy controls were aimed. **Methods:** This study was carried out on 66 (22 female, 44 male) cancer patients aged 29 to 90 (57 $\pm$ 13) years and 32 (16 female,16 male) healthy subjects aged 23 to 59 (36 $\pm$ 11) years. **Results:** GST- $\alpha$  and GST- $\pi$  levels of the patients with gastrointestinal tractus, liver, stomach and other type of cancers and of the control group were found to be 5.60 $\pm$ 3.74 ng/ml and 37.24 $\pm$ 10.74 ng/ml, 6.20 $\pm$ 2.56 ng/ml and 35.33 $\pm$ 9.57 ng/ml, 5.73 $\pm$ 4.91 ng/ml and 39.77 $\pm$ 13.18 ng/ml, 4.62 $\pm$ 3.46 ng/ml and 22.99 $\pm$ 13.46 ng/ml, 4.77 $\pm$ 3.24 ng/ml and 23.47 $\pm$ 9.97 ng/ml, respectively. The GST- $\mu$  was negative on 59.52 % of the cancer patients. There was no significant difference between GST- $\alpha$  level of the control group and cancer patients whereas the increase of GST- $\pi$  level of the patients with gastrointestinal tractus, liver and stomach cancer groups was statistically significant. **Conclusion:** GST- $\pi$  is a marker for gastrointestinal tractus, stomach and the liver cancers, and it is thought that the absence of GST- $\mu$  may create a risk for cancer.

Key words: Glutathion S-transferase (GST), GST- $\alpha$ , GST- $\pi$ , GST- $\mu$ , cancer

Genel Tıp Derg 2000;10 (1):1-6.

\*8<sup>th</sup> Asian-Pasific Congress of Clinical Biochemistry (11-16 October 1998, Kuala Lumpur, Malaysia)'de poster olarak sunulmuştur.

Yazışma adresi: Yrd.Doç.Dr.Mehmet Aköz, Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, 42080-Konya

Genel Tıp Derg 2000;10 (1)

Kanser vakalarında glutatyon S-transferazlar -Aköz ve ark

Glutasyon S-transferazlar (GST), E.C.2.5.1.18 kodlu, çok fonksiyonlu alt birimlerden oluşmuş (dimerik) ve büyük ölçüde sitozolik bir enzim ailesidir (1-4). Bu ailedeki enzimlerin hem detoksifikasyon yapıcı hem de hücre içi bağlayıcı ve taşıyıcı görevlerinin olduğu bilinmektedir. Bu enzimler ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda önemli rol alırlar. Detoksifikasyonda glutasyonun (GSH) pek çok elektrofilik bileşikle konjugasyonunu kataliz ederler (1,2). Konjugasyon sonunda oluşan bileşik bu şekilde organizmadan atılır veya ksenobiyotiklerin klasik atılma yolu olan merkaptürük asitlere çevrilir (4,5).

GST'ler karsinojen veya mutajen olabilen maddelerin detoksifikasyonunda rol alırlar (1,2). Bu işlevlerin anlaşılmasıyla GST'lerin mutajen, karsinojen ve diğer zararlı kimyasal maddelerin hücre içi detoksifikasyonunda rollerinin olduğu, ayrıca metabolize edilemeyen hidrofobik-lipofilik pek çok bileşiği ve ksenobiyotikleri bağladıkları, bu proteinlerin hücre içinde bağlayıcı ve taşıyıcı olarak da hizmet ettikleri belirlenmiştir (2,4,6). GST'ler,  $\alpha$  (alfa) bazik,  $\pi$  (pi) asidik,  $\mu$  (mü) nötral olarak üç majör gruba ayrılır (7-10). GST- $\pi$ 'nin hepatomalarda, mide karsinomlarında ve kolonik karsinomalarda mevcut olduğu (11), bu nedenle potansiyel tümör markırı olabileceği (12) bildirilmektedir.

Ayrıca, primer hepatosellüler karsinomlu hastalarda GST seviyelerinin yüksek bulunduğu ve GST ölçümlerinin hepatosellüler karsinom teşhisinde faydalı olabileceği bildirilmektedir (1,2). GST'nin hepatosellüler hasarın hassas bir markırı olduğu (13), GST- $\pi$ 'nin akciğer adenokarsinoması için bir markırı olabileceği (14), GST- $\mu$  eksikliği veya yetersizliğinin sigara içenlerde akciğer, larinks ve mesane kanserlerine yatkınlık için bir markırı olarak kullanılabilmesi (15,16) bildirilmiştir. Akciğer, kolon, mide, karaciğer, meme ve böbrek tümörlerindeki tümör dokusunda ve normal dokularda GST- $\alpha$ , GST- $\pi$  ve GST- $\mu$  izoenzimleri araştırılmış, normal dokularda ve tümörlerde farklı bulgular elde edilmiştir (17).

Bu çalışmada, GST'lerin çeşitli kanser vakalarındaki değerlerini belirlemeye çalışırken vakaların teşhis ve takibinde sonuçların rutin çalışmalara uygulanabilmesi için bu konudaki diğer çalışmalara katkıda bulunmayı amaçladık.

## Yöntem

Bu çalışma, Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi ve SSK Hastanesinde yatan, klinik ve laboratuvar bulguları ile kanser teşhisi konulmuş 29-90 (57±37) yaşları arasında 66 (22 kadın, 44 erkek) hasta ile 23-59 (36±11) yaşlarındaki 32 (16 kadın, 16 erkek) sağlıklı kişi üzerinde gerçekleştirildi. Çalışma hakkında katılımcılara bilgi verildi ve rızaları alındı.

Hastalardan ve kontrol vakalarından toplam 10 ml venöz kan örneği alındı. Bu kanların 2 ml si heparinize tüplere aktararak GST- $\mu$  çalışılması için ayrıldı. Geriye kalan numunelere ait serumlarda GST- $\alpha$  ve GST- $\pi$  çalışıldı. GST- $\alpha$  ve GST- $\mu$  analizleri ELISA yöntemiyle çalışan ticari kit (Biotrin International Ltd. Dublin, Ireland) (18,19) kullanılarak, GST- $\pi$  analizleri ise RIA yöntemiyle çalışan ticari kit (Immudiagnostic GmbH, Bensheim, Germany) (20) kullanılarak gerçekleştirildi. GST- $\mu$ 'nün belirlenemediği (10 ng/ml'nin altında bulunan) değerler negatif olarak, okunabilen (10 ng/ml ve daha yukarı) değerler ise pozitif olarak değerlendirildi (19). Kanserli hastalarda GST- $\mu$ 'nün bulunma oranı ve bu oranın cinsiyet ve sigara içme durumuna göre dağılımı incelendi. Bulgular, istatistiksel yönden "Kantitatif Ortalamaların İncelenmesi" metodu ile aritmetik ortalama, standart sapma, "t" testi formülleri kullanılarak ve "t" tablosundan faydalanılarak değerlendirildi.

## Bulgular

Çalışılan kontrol grubu ve değişik kanser gruplarına ait serum GST- $\alpha$  ve GST- $\pi$  bulguları ve istatistiksel değerlendirilmeleri Tablo 1'de, kanserli hastalarda GST- $\mu$ 'nün pozitiflik oranları ise Tablo 2'de görülmektedir.

GST- $\alpha$  düzeyleri, karaciğer, mide ve gastrointestinal sistem (GİS) kanser gruplarında kontrollere göre yüksek, diğer kanser grubunda ise düşük bulunmuş, ancak aradaki farkların istatistiksel olarak anlamsız olduğu görülmüştür. GST- $\pi$  değerleri karaciğer, mide ve gastrointestinal sistem (GİS) kanserlerinde kontrollere göre anlamlı şekilde yüksekti ( $P<0.001$ ). Diğer kanser grubunun değerleri ise kontrol grubu ile benzer bulundu ( $P>0.05$ ).

GST- $\mu$ 'nün kanserli vakaların % 59.52'inde negatif olduğu görüldü. Negatiflik oranları kadınlarda %

66.66, erkeklerde % 55.55, sigara içenlerde % 55, içmeyenlerde % 63.63 idi.

*Tablo 1. GST- $\alpha$  ve GST- $\pi$  düzeyleri (ortalama $\pm$ standart sapma)*

Gruplar	n	GST- $\alpha$ (ng/ml)	t	P*	GST- $\pi$ (ng/ml)	t	P*
Kontrol	32	4.77 $\pm$ 3.24			23.47 $\pm$ 9.97		
Karaciğer Ca	14	6.20 $\pm$ 2.56	1.462	>0.2	35.33 $\pm$ 9.57	3.756	<0.001
Mide Ca	16	5.73 $\pm$ 4.91	0.811	>0.4	39.77 $\pm$ 13.18	4.787	<0.001
GİS Ca**	46	5.60 $\pm$ 3.74	1.018	>0.4	37.24 $\pm$ 10.74	5.733	<0.001
Diğer Ca***	20	4.62 $\pm$ 3.46	1.226	>0.2	22.99 $\pm$ 13.46	0.138	>0.05

\*Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında

\*\*Mide, karaciğer, kolon, pankreas kanserleri

\*\*\*Prostat, mesane, meme kanserleri

*Tablo 2. GST- $\mu$ 'nün kanserli hastalarda pozitiflik oranlarının, sigara içen ve içmeyenlere ve cinsiyete göre dağılımı.*

	GST- $\mu$		İçen		İçmeyen		Erkek		Kadın	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Negatif (< 10 ng/ml)	25	59.52	11	55.00	14	63.63	15	55.55	10	66.66
Pozitif ( $\geq$ 10 ng/ml)	17	40.48	9	45.00	8	36.37	12	44.45	5	33.34
Toplam	42	100.00	20	100.00	22	100.00	27	100.00	15	100.00

## Tartışma ve sonuç

GST alt birimlerinin değişik ksenobiotikler (fenobarbital, transtilbenoksit, 3-metilkolantiren) ile uyarılabildiği (3), insan GST'lerinin en az 4 otozomal gen lokusu tarafından kodlandığı, farklı gen sınıflarının farklı kromozomlar üzerinde yerleştiği ve birçok organizmanın çok sayıda GST izoenzimini kodlayabildiği genetik kapasiteye sahip olduğu bilinmektedir (21). Büyük ölçüde sitozolik olan (1,2) ve değişik ksenobiotikler tarafından uyarılabilen (21), hücre ve doku hasarı sürecinde plazmada aktivitesi artabileceği düşünülen GST aktivitesi ve izoenzimleri üzerinde birçok çalışma yapılmıştır. Araştırmacılar İscan ve ark (22) meme kanserli bayanlarda tümör dokusunda ve tümör çevresindeki normal dokudaki enzim aktivitesinde kişiler arasında yaygın farklılıklar bulunduğunu ve ortalama enzim aktivitesinin tümör dokusunda normal dokudan anlamlı olarak daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Lieshout ve ark (23) değişik kanser tiplerinde GST- $\alpha$  ve GST- $\pi$  düzeylerini immunohistokimyasal metotlarla araştırmışlar, GST- $\alpha$  ve GST- $\pi$  düzeylerini sırasıyla normal skuamoz epitelde % 0 ve

% 75, adenokarsinomda % 25 ve % 100, skuamoz hücreli karsinomda % 27 ve % 91 bulmuşlardır.

Değişik çalışma gruplarının GST- $\alpha$ , GST- $\pi$  ve GST- $\mu$  ile ilgili bulguları da Tablo 3'de görülmektedir.

Howie ve ark (17) değişik organların (akciğer, kolon, mide, göğüs, böbrek ve karaciğer) kanserlerinin tümörlü dokuları ile komşu normal dokularında GST- $\alpha$ , GST- $\pi$ , ve GST- $\mu$  izoenzimlerini araştırmışlar ve incelenen tümörlerin çoğunluğunda GST- $\pi$ 'nin predominant olduğunu, bu enzimin konsantrasyonunun normal dokuya (akciğer, kolon, mide) göre tümör dokusunda anlamlı bir şekilde artmış olduğunu, normal mide, böbrek ve karaciğer dokusunda predominant olan GST- $\alpha$  konsantrasyonunun ise bu organların tümör dokusunda dramatik olarak azaldığını bildirmişlerdir.

Hayes ve ark (13,24) halotan hepatoksisitesi, otoimmün kronik aktif hepatit ve aşırı parasetamol dozajı, Beckett ve ark (25,26) doğum asfiksisinin karaciğere etkisi ve parasetamol zehirlenmesi sonucu oluşan karaciğer hasarı üzerine yaptıkları çalışmalar sonucunda GST- $\alpha$ 'nın karaciğer fonksiyonunu göstermek açısından rutin olarak kullanılan diğer

Glutasyon S-transferazlar (GST), E.C.2.5.1.18 kodlu, çok fonksiyonlu alt birimlerden oluşmuş (dimerik) ve büyük ölçüde sitozolik bir enzim ailesidir (1-4). Bu ailedeki enzimlerin hem detoksifikasyon yapıcı hem de hücre içi bağlayıcı ve taşıyıcı görevlerinin olduğu bilinmektedir. Bu enzimler ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda önemli rol alırlar. Detoksifikasyonda glutasyonun (GSH) pek çok elektrofilik bileşikle konjugasyonunu kataliz ederler (1,2). Konjugasyon sonunda oluşan bileşik bu şekilde organizmadan atılır veya ksenobiyotiklerin klasik atılma yolu olan merkaptürik asitlere çevrilir (4,5).

GST'ler karsinojen veya mutajen olabilen maddelerin detoksifikasyonunda rol alırlar (1,2). Bu işlevlerin anlaşılmasıyla GST'lerin mutajen, karsinojen ve diğer zararlı kimyasal maddelerin hücre içi detoksifikasyonunda rollerinin olduğu, ayrıca metabolize edilemeyen hidrofobik-lipofilik pek çok bileşiği ve ksenobiyotikleri bağladıkları, bu proteinlerin hücre içinde bağlayıcı ve taşıyıcı olarak da hizmet ettikleri belirlenmiştir (2,4,6). GST'ler,  $\alpha$  (alfa) bazik,  $\pi$  (pi) asidik,  $\mu$  (mü) nötral olarak üç majör gruba ayrılır (7-10). GST- $\pi$ 'nin hepatomalarda, mide karsinomlarında ve kolonik karsinomalarda mevcut olduğu (11), bu nedenle potansiyel tümör markırı olabileceği (12) bildirilmektedir.

Ayrıca, primer hepatosellüler karsinomlu hastalarda GST seviyelerinin yüksek bulunduğu ve GST ölçümlerinin hepatosellüler karsinom teşhisinde faydalı olabileceği bildirilmektedir (1,2). GST'nin hepatosellüler hasarın hassas bir markırı olduğu (13), GST- $\pi$ 'nin akciğer adenokarsinoması için bir markır olabileceği (14), GST- $\mu$  eksikliği veya yetersizliğinin sigara içenlerde akciğer, larinks ve mesane kanserlerine yakınlık için bir markır olarak kullanılabilmesi (15,16) bildirilmiştir. Akciğer, kolon, mide, karaciğer, meme ve böbrek tümörlerindeki tümör dokusunda ve normal dokularda GST- $\alpha$ , GST- $\pi$  ve GST- $\mu$  izoenzimleri araştırılmış, normal dokularda ve tümörlerde farklı bulgular elde edilmiştir (17).

Bu çalışmada, GST'lerin çeşitli kanser vakalarındaki değerlerini belirlemeye çalışırken vakaların teşhis ve takibinde sonuçların rutin çalışmalara uygulanabilmesi için bu konudaki diğer çalışmalara katkıda bulunmayı amaçladık.

## Yöntem

Bu çalışma, Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi ve SSK Hastanesinde yatan, klinik ve laboratuvar bulguları ile kanser teşhisi konulmuş 29-90 (57±37) yaşları arasında 66 (22 kadın, 44 erkek) hasta ile 23-59 (36±11) yaşlarındaki 32 (16 kadın, 16 erkek) sağlıklı kişi üzerinde gerçekleştirildi. Çalışma hakkında katılımcılara bilgi verildi ve rızaları alındı.

Hastalardan ve kontrol vakalarından toplam 10 ml venöz kan örneği alındı. Bu kanların 2 ml si heparinize tüplere aktararak GST- $\mu$  çalışılması için ayrıldı. Geriye kalan numunelere ait serumlarda GST- $\alpha$  ve GST- $\pi$  çalışıldı. GST- $\alpha$  ve GST- $\mu$  analizleri ELISA yöntemiyle çalışan ticari kit (Biotrin International Ltd. Dublin, Ireland) (18,19) kullanılarak, GST- $\pi$  analizleri ise RIA yöntemiyle çalışan ticari kit (Immundiagnostic GmbH, Bensheim, Germany) (20) kullanılarak gerçekleştirildi. GST- $\mu$ 'nün belirlenemediği (10 ng/ml'nin altında bulunan) değerler negatif olarak, okunabilen (10 ng/ml ve daha yukarı) değerler ise pozitif olarak değerlendirildi (19). Kanserli hastalarda GST- $\mu$ 'nün bulunma oranı ve bu oranın cinsiyet ve sigara içme durumuna göre dağılımı incelendi. Bulgular, istatistiksel yönden "Kantitatif Ortalamaların İncelenmesi" metodu ile aritmetik ortalama, standart sapma, "t" testi formülleri kullanılarak ve "t" tablosundan faydalanılarak değerlendirildi.

## Bulgular

Çalışılan kontrol grubu ve değişik kanser gruplarına ait serum GST- $\alpha$  ve GST- $\pi$  bulguları ve istatistiksel değerlendirilmeleri Tablo 1'de, kanserli hastalarda GST- $\mu$ 'nün pozitiflik oranları ise Tablo 2'de görülmektedir.

GST- $\alpha$  düzeyleri, karaciğer, mide ve gastrointestinal sistem (GIS) kanser gruplarında kontrollere göre yüksek, diğer kanser grubunda ise düşük bulunmuş, ancak aradaki farkların istatistiksel olarak anlamsız olduğu görülmüştür. GST- $\pi$  değerleri karaciğer, mide ve gastrointestinal sistem (GIS) kanserlerinde kontrollere göre anlamlı şekilde yüksekti ( $P<0.001$ ). Diğer kanser grubunun değerleri ise kontrol grubu ile benzer bulundu ( $P>0.05$ ).

GST- $\mu$ 'nün kanserli vakaların % 59.52'inde negatif olduğu görüldü. Negatiflik oranları kadınlarda %

hastalarda % 33.3 bulmuşlardır. Bu araştırmacıların çalıştıkları kanser vakaları sigara içenler arasından seçilmiştir. Lafuente ve ark (15), GST- $\mu$ 'nün sigara dumanındaki benzo (a) piren gibi kanserojen maddeleri konjuge ederek detoksifiye ettiği, dolayısıyla enzimin yokluğunun sigara içenlerde kansere yakalanma riskini artırdığı, uzun süre ve günde 30 adet sigara içen kanserli kişilerde GST- $\mu$ 'nün negatiflik oranının yüksek bulunduğunu, mesane ve larinks kanserli hastalarda GST- $\mu$  yokluğunun önemli olduğunu ve sigara içme hikayesi varsa riskin iki kat arttığını bildirmişlerdir. Lemos ve ark (32) değişik çalışmalarda sunulan farklı bulguların toplulukların maruz kaldığı çevresel karsinojenlerin tipindeki coğrafi farklılıkları yansıtabileceğini bildirmişlerdir.

Tüm bu bilgiler ışığında GST izoenzimlerinden GST- $\pi$  nin karaciğer, mide ve GIS kanserleri için önemli bir markır olduğu, GST- $\mu$  yokluğunun ise kansere yakalanma riskini artırabileceği, bu yokluğun bilhassa sigara içen kişiler için daha da önemli bir risk faktörü oluşturabileceği, kişiler GST- $\mu$  yönünden pozitif olsalar da sigara içiyorlarsa kansere yakalanma risklerinin artabileceği, sigara içmiyor, fakat GST- $\mu$  yönünden negatif iseler yine kansere yakalanma risklerinin artabileceği, değişik çalışma grublarının bulguları arasındaki farklılıkların ise kişilere göre değişen genetik faktörlerden ve çevresel etyolojik faktörlerin farklılığından kaynaklanabileceği düşünüldü.

## Kaynaklar

1. Tolman KG, Rej R. Liver function. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz textbook of clinical chemistry, 3th ed. Philadelphia: WB Saunders; 1999.
2. Balistreri WF, Rej R. Liver function. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz textbook of clinical chemistry, 2th ed. Philadelphia: WB Saunders; 1994.
3. Mannervik B. The isozymes of glutathione transferase. Adv Enzymol 1985; 57:357-417.
4. Marcus CJ, Habig WH, Jakoby WB. Glutathione transferase from human erythrocytes. Arch Biochem Biophys 1978;188:287-93.
5. Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. Glutathione S-transferases. J Biol Chem 1974; 249:7130-9.
6. Di Ilio C, Aceto A, Bucciarelli T, Angelucci S, Felaco M, Grilli A, et al. Glutathione transferase isoenzymes from human radioimmunoassay for their measurement. Clin Chim Acta 1988;177:65-76.
7. Heckbert SR, Weiss NS, Hornung SK, Eaton DL, Motulsky AG. Glutathione S-transferase and epoxide hidrolase activity

in human leukocytes in relation to risk of lung cancer and other smoking-related cancers. J Nat Cancer Institute 1992;84:414-22.

8. Howie AF, Hayes JD, Beckett GJ. Purification of acidic glutathione S-transferases from human lung, placenta and erythrocyte and the development of a specific radioimmunoassay for their measurement. Clin Chim Acta 1988;177:65-76.
9. Lewis AD, Forrester LM, Hayes JD, Wareing CJ, Carmichael J, Harris AL, et al. Glutathione S-transferase isoenzymes in human tumors and tumor derived cell lines. Brit J Cancer Letters 1989; 60:327-31.
10. Ommen BV, Bogaards JJP, Peters WHM, Blaauboer B, Bladeren PJV. Quantification of human hepatic glutathione S-transferases. Biochem J 1990;269:609-13.
11. McQuaid S, O'Brien A, Butler MR, Humphries P. Transcriptional activation of the glutathione S-transferase gene in human ureteric and bladder carcinomas. Cancer Letters 1988; 39:209-16.
12. Nitsu Y, Takahashi Y, Saito T, Hirata Y, Arisato N, Maruyama H, Kohgo Y, et al. Serum glutathione-S-transferase- $\pi$  as a tumor marker for gastrointestinal malignancies. Cancer 1989; 63:317-23.
13. Hayes PC, Hussey AJ, Keating J, Bouchier IAD, Williams R, Beckett GJ, et al. Glutathione S-transferase levels in autoimmune chronic active hepatitis: A more sensitive index of hepatocellular damage than aspartate transaminase. Clin Chim Acta 1988;172:211-6.
14. Howie AF, Douglas JG, Fergusson RJ, Beckett GJ. Measurements of glutathione S-transferases Pi isoenzyme in plasma, a possible marker for adenocarcinoma of lung. Clin Chem 1990;36:453-6.
15. Lafuente A, Pujol F, Carretero P, Villa JP, Cuchi A. Human glutathione S-transferase  $\mu$  (GST- $\mu$ ) deficiency as a marker for the susceptibility to bladder and larynx cancer among smokers. Cancer Letters 1993;68:49-54.
16. Seidegard J, Pero RW, Markowitz MM, Roush G, Miller DG, Beattie EJ. Isoenzyme (s) of glutathione transferase (class M $\mu$ ) as a marker for the susceptibility to lung cancer: A follow up study. Carcinogenesis 1990;11:33-6.
17. Howie AF, Forrester LM, Glancey MJ, Schlager A, Powis G, Beckett GJ, et al. Glutathione S-transferase and glutathione peroxidase expression in normal and tumour human tissues. Carcinogenesis 1990;11:451-8.
18. Hepkit (GST- $\alpha$ ) Biotrin International Ltd., Unit 1C, Stillorgan Industrial Park, Stillorgan, Co. Dublin, Ireland.
19. Mukit (GST- $\mu$ ) Biotrin International Ltd., Unit 1C, Stillorgan Industrial Park, Stillorgan, Co. Dublin, Ireland.
20. Glutathione S-transferase Pi GST Pi RIA. For the determination of GST Pi from plasma, serum and tumor tissue. Immundiagnostik GmbH, Wilhelmstr. 7, 64625 Bensheim, Germany.
21. Yann-Pyng ST, Hsieh T, Tu CD. The glutathione S-transferase D genes. J Biol Chem 1993;268:9737-46.
22. Iscan M, Coban T, Bulbul D, Eke BC, Aygomez S, Berberoglu U. Xenobiotic metabolizing and antioxidant enzymes in normal and neoplastic human breast tissue. Eur J Drug Metab Pharmacokinet 1988;23:497-500.

23. Lieshout EM, Haelst UJ, Wobbes T, Peters WH. Immunohistochemical localization of glutathione s-transferase alpha and pi in human esophageal squamous epithelium, Barrett's epithelium and carcinoma. *Jpn J Cancer Res* 1999;90:530-5.
24. Hayes JD, Gilligan D, Chapman BJ, Beckett GJ. Purification of human hepatic GST and the development of a radioimmunoassay for their measurement in plasma. *Clin Chim Acta* 1983;134:107-21.
25. Beckett GJ, Foster GR, Hussey AJ, Oliveire DBG, Donovan JW, Prescott LF, et al. Plasma glutathione S-transferase and F Protein are more sensitive than alanine aminotransferase as markers of paracetamol (acetaminophen)-induced liver damage. *Clin Chem* 1989;35:2186-9.
26. Beckett GJ, Hussey AJ, Laing I, Howie AF, Hayes JD, Strange RC, et al. Measurement of glutathione S-transferase B1 in plasma after birth asphyxia: An early indication of hepatocellular damage. *Clin Chem* 1989;35:995-9.
27. Di Ilio C, Boccio GD, Aceto A, Casaccia R, Mucilli F, Federici G. Elevation of glutathione transferase activity in human lung tumour. *Carcinogenesis* 1988;9:335-40.
28. Eimoto H, Tsutsumi M, Nakajima A, Yamamoto K, Takashima Y, Maruyama H, et al. Expression of the glutathione S-transferase placental form in human lung carcinomas. *Carcinogenesis* 1988;9:2325-7.
29. Sato K, Satoh K, Tsuchida S, Hatayama I, Tamai K, Shen H. Glutathione S-transferases and (pre) neoplasia. *Adv Cancer Res* 1989;5:390-8.
30. Kobayashi Y. A study on diagnosis of oral squamous cell carcinoma (oral SCC) by glutathione S-transferase-pi (GST-pi). *Kokubyo Gakkai Zasshi* 1999;66:46-56.
31. Hu X, Herzog C, Zimniak P, Singh SV. Differential protection against benzo (a) pyrene-7,8-dihydrodiol-9,10-epoxide-induced DNA damage in HepG2 cells stably transfected with allelic variants of pi class human glutathione S-transferase. *Cancer Res* 1999;59:2358-62.
32. Lemos MC, Cabrita FJ, Silva HA, Vivan M, Placido F, Regateiro FJ. Genetic polymorphism of CYP2D6, GSTM1 and NAT2 and susceptibility to haematological neoplasias. *Carcinogenesis* 1999;20:1225-9.