

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**KANSER TANISI ALAN HASTALARDA SERUM PARAOKSONAZ VE
ARİLESTERAZ SEVİYELERİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. NEFSAL MAR HAFIZOĞLU**

**TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Dr. EMİN TAMER ELKIRAN**

ELAZIĞ – 2005

İÇİNDEKİLER

Sayfa

1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	2
3. GİRİŞ	3
3.1. Serbest Radikaller	4
3.1.1. Oksidatif Stres	5
3.1.2. Serbest Oksijen Radikallerinin Etki Mekanizmaları	6
3.1.2.1. Lipid Peroksidasyonu	7
3.1.2.2. Serbest Oksijen Radikallerinin Nükleik Asitler ve DNA Üzerine Etkileri	8
3.1.2.3. DNA'nın Onarım Mekanizması	9
3.2. Serbest Oksijen Radikallerinin Kanser Gelişimindeki Rolü	9
3.3. Antioksidan Savunma Sistemleri	11
3.3.1. Antioksidanların Etki Mekanizmaları	14
3.4. Paraoksonaz	14
3.4.1. Paraoksonaz Gen Ailesi	15
3.4.2. İnsan Serum Paraoksonazının Özellikleri	15
3.4.3. Paraoksonazın Sentez ve Sekresyonu	16
3.4.4. Paraoksonaz Aktivitesine Beslenme ve Çevresel Faktörlerin Etkisi	17
3.4.5. Genetik Polimorfizm	17
3.5. Çeşitli Hastalıklarda Paraoksonaz Aktivitesi	19
3.6. Kanser ve Paraoksonaz	20
4. GEREÇ VE YÖNTEM	21
4.1. Çalışma Grupları	21
4.2. Serum PON1 Aktivitesi Tayini	22
4.3. Serum ARE Aktivitesi Tayini	23
4.4. İstatistiksel Analiz	24
5. BULGULAR	25
5.1. Serum Lipidleri	25
5.2. Serum PON1 Seviyesi	28
5.3. Serum ARE Seviyesi	30
5.4. Serum PON1/ARE Seviyesi	30
5.5. PON1 Fenotiplemeşi	32

5.6. Serum PON1/HDL Kolesterol Oranı	32
5.7. Korelasyon Bulguları	36
6. TARTIŞMA	38
7. KAYNAKLAR.....	43
8. ÖZGEÇMİŞ.....	54

TABLolar LİSTESİ

	Sayfa
Tablo I :Organizmada serbest radikal reaksiyonunu artıran faktörler.....	6
Tablo II :Serbest oksijen radikallerinin etkileri.....	7
Tablo III :Antioksidan maddelerin sınıflandırılması.....	13
Tablo IV :Serum PON1 aktivitesi ölçümü.....	23
Tablo V :Serum ARE aktivitesi ölçümü.....	24
Tablo VI :Kontrol ve akciğer kanseri grubunun demografik bulguları, serum lipid parametreleri, PON1 ve ARE seviyeleri.....	25
Tablo VII :Küçük hücreli akciğer kanseri ve küçük hücreli olmayan akciğer kanseri grubu serum lipid parametreleri ve PON1, ARE seviyeleri.....	34
Tablo VIII :Akciğer kanseri grubunda 60 yaş altında ve üstünde olanlarda serum PON1, ARE ve PON1/ARE seviyeleri.....	34
Tablo IX :Akciğer kanseri grubunda metastaz varlığına göre serum lipid parametreleri ve PON1, ARE seviyeleri.....	34
Tablo X :Akciğer kanseri ve kontrol grubunda sigara kullanım öyküsüne göre lipid parametreleri ve PON1, ARE seviyeleri.....	35
Tablo XI :Akciğer kanseri ve kontrol grubunda sigaradan bağımsız olarak sigara içenlerde serum PON1, ARE, PON1/ARE, HDL kolesterol ve PON1/HDL kolesterol seviyeleri.....	35
Tablo XII :Kontrol ve akciğer kanseri gruplarında PON1 fenotiplerinin dağılımları ve fenotiplere göre PON1 seviyeleri.....	35

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 1 :Serbest oksijen radikallerinin üretimi.....	4
Şekil 2 :Biyolojik, kimyasal ve fiziksel ajanlara bağlı gelişen kronik inflamasyonla ilişkili kanser ve kanser dışı hastalıklar.....	11
Şekil 3 :Akciğer kanseri grubunda kontrol grubuna göre serum PON1 seviyesi anlamlı olarak düşüktü.....	29
Şekil 4 :Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri grubuna göre küçük hücreli akciğer kanseri grubunda serum PON1 seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan azalma vardı.....	29
Şekil 5 :Serum ARE seviyesi akciğer kanseri grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşüktü.....	31
Şekil 6 :Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri grubuna göre küçük hücreli akciğer kanseri grubunda ARE seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan artma vardı.....	31
Şekil 7 :Serum PON1/ARE seviyesi akciğer kanseri grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşüktü.....	33
Şekil 8 :Serum PON1/ARE seviyesi küçük hücreli akciğer kanseri grubunda küçük hücreli olmayan akciğer kanseri grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan azalma vardı.....	33
Şekil 9 :Kontrol grubunda PON1 ile HDL kolesterol arasındaki pozitif korelasyon.....	36
Şekil 10 :Akciğer kanseri grubunda PON1 ile HDL kolesterol arasındaki pozitif korelasyon.....	37

KISALTMALAR LİSTESİ

AK	: Akciğer kanseri
Apo	: Apolipoprotein
ARE	: Arilesteraz
ATP	: Adenin trifosfat
Ca⁺²	: Kalsiyum
CaCl₂	: Kalsiyum klorür
Co⁺²	: Kobalt
Cu	: Bakır
DNA	: Deoksiribonükleik asit
HCl	: Hidrojen klorür
HDL	: Yüksek dansiteli lipoprotein
H₂O	: Su
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
IL-1	: İnterlökin 1
K	: Potasyum
kDa	: Kilodalton
KHAK	: Küçük hücreli akciğer kanseri
KHOAK	: Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri
LDL	: Düşük dansiteli lipoprotein
MA	: Moleküler ağırlık
MDA	: Malondialdehid
Mg⁺²	: Magnezyum
Mg/dl	: Miligram desilitre
Mn⁺²	: Manganez
Na	: Sodyum
NaCl	: Sodyum klorür
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NK	: Naturel killer
OH⁻	: Hidroksil
O₂	: Oksijen
PON1	: Paraoksonaz

SOD	: Süperoksit dismutaz
SOR	: Serbest oksijen radikalleri
SSS	: Santral sinir sistemi
TG	: Trigliserid
TNF	: Tümör nekroz faktör
TPA	: 12-0-tetradecanoil-forbol-13 asetat
U/mL	: Ünite/mililitre
U/L	: Ünite/litre
UV	: Ultraviyole
VLDL	: Çok düşük dansiteli lipoprotein
Zn	: Çinko

1. ÖZET

Kanser tanısı alan hastalarda serum paraoksonaz ve arilesteraz seviyeleri

Amaç: Çalışmada yeni tanı akciğer kanserli olgularda serum paraoksonaz (PON1) ve arilesteraz (ARE) aktiviteleri ve PON1 fenotip dağılımının sağlıklı kontrol grubuyla karşılaştırılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Yeni tanı almış akciğer kanseri (AK) grubu ve aynı yaş-cinsiyetteki sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubunu içeren çalışma prospektif olarak yapıldı. Her iki gruptaki 39 bireyin serum PON1 ve ARE aktiviteleri ile lipid parametreleri ölçüldü. Serum PON1/ARE aktivite oranlarına göre PON1 fenotiplendirmesi yapıldı. Verilerin istatistiki değerlendirmelerinde Mann Whitney-U testi, Student t testi ve Pearson korelasyon analizi kullanıldı.

Bulgular: AK grubunda serum PON1 ($p<0,001$) ve ARE ($p=0,018$) aktiviteleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşüktü. Her iki grupta da PON1 enzim aktivitesi üç farklı fenotip olarak belirlendi. PON1'in düşük aktiviteli AA fenotipini taşıyan bireyler AK grubunda daha fazla iken kontrol grubunda yüksek aktiviteli BB fenotipli bireyler daha fazla idi. AK grubunda düşük aktiviteli fenotip AA, intermediate aktiviteli fenotip AB ve yüksek aktiviteli fenotip BB bireylerin serum PON1 seviyeleri kontrol grubundaki aynı fenotipi taşıyan bireyelerinkine göre daha düşüktü. AK grubunda PON1/yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) oranı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşüktü ($p=0,009$). Pearson korelasyon analizine göre serum HDL seviyesi ile serum PON1 seviyesi arasında AK grubunda ($r=0,496$, $p=0,001$) ve kontrol grubunda ($r=0,415$, $p=0,009$) pozitif korelasyon vardı. Lipid parametrelerinin değerlendirilmesinde total kolesterol AK grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak ($p=0,014$) düşükken diğer lipid parametreleri istatistiki anlamlı olmayarak düşüktü.

Sonuç: AK tanısı almış hastalarda serum PON1 seviyesi ve PON1/HDL oranının azaldığı saptandı.

Anahtar kelimeler: Akciğer kanseri, paraoksonaz, fenotip, antioksidan.

2. ABSTRACT

The serum paraoxonase and arylesterase activities in patients with cancer

Objectives: The aim of our study was to determine whether serum paraoxonase (PON1) and arylesterase (ARE) levels and phenotypes distribution is altered new diagnosis in patients with lung cancer (LC) and to compare the values with those of healthy controls.

Material and Methods: The study was obtained prospective which consist of the LC group who has taken new diagnosis and healthy control group who has formed from the same age- and sex-matched. Serum PON1 and ARE activities and lipid parameters were measured in 39 subjects in both groups. The PON1 phenotypes are defined according to the ratio of serum PON1/ARE activity. In statistical evaluation of data were performed Mann Whitney-U test, Student t test and Pearson's correlation analysis. P value <0.05 was accepted as significant.

Results: The PON1 ($p<0,001$) and ARE ($p=0,018$) activities was found to be lower in the patients with LC compared to controls. PON1 enzyme activity was determined as three different phenotypes in both groups. The low activity PON1 phenotype AA in the LC group was more than the control group. The high activity PON1 phenotype BB was high in the control group. Serum PON1 levels in the low activity phenotype AA individuals, intermediate activity phenotype AB individuals and high activity phenotype BB individuals in the LC group were lower than the similar phenotype individuals in the control group. The ratio of PON1/high density lipoprotein (HDL) was statistically significant decreased in the LC group than the control group ($p=0,009$). As the Pearson's correlation analysis, there was a positive correlation between serum HDL level and serum PON1 level both control group ($r=0,415$, $p=0,009$) and LC group ($r=0,496$, $p=0,001$). The evaluation of lipid parameters the level of total cholesterol was significantly lower ($p=0,014$) in the LC group compared to the controls whereas other lipid parameters were not lower statistically.

Conclusion: The patients with LC were determined to be lower serum PON1 level and the ratio of PON1/HDL.

Keywords: Lung cancer, paraoxonase, phenotype, antioxidant.

3. GİRİŞ

Kanser dünyada önemi giderek artan bir sağlık sorunudur. Günümüzde en sık ölüm nedenleri arasında kanser (% 23,4), kalp hastalıklarının ardından (% 32,1) ikinci sırada yer almaktadır [1].

Kanser vücudun herhangi bir yerindeki bir hücre grubunun kontrolsüz olarak çevre normal hücrelerden daha hızlı çoğalması, bu hücrelerin farklılaşmasının bozulması, çevre dokulara infiltrasyonu ve kanser hücrelerinin dolaşıma geçerek vücudun farklı bölgelerine metastazi ile karakterize bir hastalıktır [2].

Kanserlerin çoğu klinik olarak belirgin hale geldiklerinde metastatik yayılım yapmıştır. Sistemik kemoterapi, bölgesel tedavi yöntemleri ile iyileştirilemeyen kanser hastalarının % 60'ının tedavisinde büyük rol oynar. Elektif kombinasyon kemoterapileri ile bir çok malignitede iyileşme, bir çoğunda da anlamlı remisyonlar sağlanmıştır [3].

Kanser hücreleri DNA hasarlanması sonucu gelişir. Bu durum bütün hücreleri ve hücrelerin aktivitelerini etkiler. DNA hasarlanmaya başlayınca vücut yapabilirse tamir etmeye çalışır. Ancak kanser hücrelerinde DNA hasarlanması tamir edilemez.

Kanserin muhtemel sebepleri arasında hastalığın hem başlangıcında hem de gelişiminde suçlanan major risk faktörleri, DNA ve diğer hücresel moleküllerin serbest oksijen radikalleri (SOR) tarafından hasarlanması sayılabilir. Sağlıklı bir organizmada normal metabolizma sırasında da bu radikaller oluşmaktayken; inflamasyon, sigara içimi, bazı ilaçların kullanımı (bleomisin, asetaminofen gibi), nitrojen oksit içeren ekzojen kaynaklara ve radyasyona maruz kalma durumlarında SOR'nin üretimi artmaktadır. Sonuçta lipid ve proteinlerde oksitlenmelere, kanser riskinde artmaya neden olan signal transdüksiyon yolunda değişikliklere ve kanserle sonuçlanan mutasyonlara neden olurlar [4, 5]. Oksidatif stresin kanserde klinik progresyonunu artırdığı gösterilmiştir [6]. Endojen ve ekzojen antioksidanlar, kansere neden olan SOR'nin nötralize ederek veya etkisini engelleyerek kanser gelişimini önleyebilmektedirler [7].

Antioksidanlar normal hücreleri uzun ve kısa dönemde SOR'ne bağlı hasarlanmadan korumaktadır [7]. Paraoksonaz (PON1), yüksek dansiteli lipoproteine (HDL) bağlı 43 kDa ağırlığında karaciğerde ve serumda bulunan lipofilik bir antioksidandır [8]. PON1'in bu antioksidan rolü düşük dansiteli lipoprotein (LDL) oksidasyondan koruyucu etkisinden dolayıdır [9]. PON1'in yaygın iki fonksiyonel

polimorfizmi tespit edilmiştir ve bu polimorfizm serum PON1 aktivitesini etkilemektedir [10, 11].

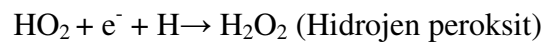
Tümör gelişimine yol açan doku hasarında SOR'nin artması yanında antioksidan aktivitenin azalması da önemli rol oynamaktadır. Bu çalışmada, kanserli hastalarda etyolojide antioksidan kapasitedeki bu düşüşün etkili olabileceği düşünülerek akciğer kanseri (AK) tanısı almış hastalar ile sağlıklı bireylerin serum örneklerinde PON1 ve arilesteraz aktivitesi ile PON1 fenotiplerinin ve bunlarla ilişkili lipid parametrelerinin ölçümleri yapılarak iki grub arasında istatistiki olarak anlamlı fark olup olmadığının araştırılması amaçlandı.

3.1. Serbest Radikaller

Serbest radikaller bir veya birden çok çiftleşmemiş elektron taşıyan kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin atom veya moleküller olarak tanımlanır. Serbest radikaller aslında SOR veya reaktif oksijen türleri olarakta bilinmektedir [12]. Çiftleşmemiş elektronların varlığından dolayı serbest radikaller kararsızdır ve oldukça reaktif moleküllerdir [13].

Serbest oksijen radikalleri hücrelerde endojen ve ekzojen kaynaklı etmenlere bağlı olarak tüm hücreler tarafından normal veya patolojik olarak aerobik metabolizma ile sürekli üretilmektedir. Aerobik metabolizması olan memelilerde SOR genellikle oksijenden üretilmekle birlikte organizmada oksijen türevi SOR dışında karbon ve kükürt merkezli radikallerde oluşmaktadır [14, 15]. Kimyasal maddelere maruz kalma, karbon tetraklorür, parasetamol gibi ilaç toksisiteleri, iyonize ve ultraviyole radyasyon, hava kirliliği yapan fitokimyasal maddeler, sigara dumanı gibi çevresel faktörler, nitrofurantoin, bleomisin, doksorubisin ve adriamisin gibi antineoplastik ajanlar SOR oluşumuna neden olan ekzojen kaynaklı etmenlerdir [15].

Oksidatif metabolizma sürecinde oksijenin çoğu hidrojene bağlanarak su oluşturmaktadır. Ancak oksijenin yaklaşık % 4-5'lik kısmı ise su oluşumuna katılmaz ve SOR oluşturur. Moleküler oksijenin redüksiyon yolu Şekil 1'de gösterilmektedir [13].



Şekil 1. Serbest oksijen radikallerinin üretimi.

Başlangıçta moleküler oksijenin bir elektron ile redüksiyonu süperoksit anyonunu oluşturmaktadır. Bu da hidrojen peroksite dönüşüme doğru gider. Bu reaksiyon spontan olabildiği gibi süperoksit dismutaz (SOD) ile de katalizlenebilir. Hidrojen peroksit indirgenmiş metal iyonları ile reaksiyona girerek hidroksil radikallerini oluşturur. Çok güçlü oksidan olan bu radikaller hücrelerde hasara neden olmaktadır [16].

Psikolojik stres ve yetersiz beslenme (düşük antioksidan ve fazla yağ alımı) gibi çevresel faktörler de SOR üretimini artırmaktadır. İmmün sistem, tümör büyümesine karşı major savunma mekanizmasıdır. Sitotoksik naturel killer (NK) hücreleri; tümör başlangıç ve metastazlara karşı immün savunmada ana komponenttir. Aşırı oksidatif stres, DNA hasarına ve protoonkogen mutasyonuna neden olmaktadır. Psikolojik stres, SOR üretiminde artışa ve NK hücre sitotoksitesinde azalmaya neden olarak immünitede belirgin değişiklikler meydana getirir. Ayrıca insanlarda stresli olaylardan sonra birkaç hafta süresince SOR'nin arttığı gösterilmiştir. Oksidatif stres, mutasyona uğramış hücre kolonilerinin yayılmasını uyarabilir ve transkripsiyon faktörlerinin fosforilasyonunu aktive edebilir [17].

Serbest oksijen radikalleri diabetes mellitus ve nörodejeneratif hastalıklar (Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı) gibi farklı patolojilere neden olmaktadır. Ayrıca mutasyon ve onkojenik transformasyon hızını artırıp DNA hasarlanması yaparak tümör gelişimine de neden olabilir [18]. Bu durumlarda SOR düzensiz bir şekilde üretilir. SOR proliferasyon, hücre remodeling, apoptozis ve yaşlanma gibi hücre fonksiyonlarına da etki ederek kanser ve metastaz gelişimine neden olabilir [19].

3.1.1. Oksidatif Stres

Oksidatif stres, SOR'nin üretimi ile antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin SOR üretimi lehine artması ile meydana gelen bir bozukluktur [20].

Serbest oksijen radikalleri normal hücre metabolizması süresince devamlı olarak üretilmekte ve antioksidan savunma sistemi tarafından nötralize edilmektedir. Ancak SOR aşırı miktarda üretildiğinde veya antioksidan savunmada belirgin bir azalma olduğunda antioksidan savunma sistemi baskılanır ve oksidatif stres ortaya çıkar. Oksidatif stres karsinogenezin başlatılmasında kritik rol oynayan DNA hasarına, kromozomal sapmalara, tümör süpresör genlerde mutasyonlara, kontrol edilmeyen hücre bölünmelerine ve genomik istikrarsızlıklara neden olmaktadır. Bu durum tümör büyümelerine yol açmaktadır [21].

Oksidatif stres aynı zamanda hücre büyümesi ve çoğalması ile ilişkili olan genlerin transkripsiyonunu düzenleyen döngüde rol alan sitoplazmik kalsiyumun artışına neden olmaktadır [22].

Organizmadaki bu oksidan-antioksidan denge birçok faktörlere bağlıdır. Bunlar endojen ve ekzojen faktörler olmak üzere iki bölümde incelenebilir. Ancak bu faktörler genellikle birlikte etkilidir. Bu dengeyi artıran faktörler Tablo-1’de verilmiştir[23].

Tablo I: Organizmada serbest radikal reaksiyonunu artıran faktörler

A. EKZOJEN FAKTÖRLER
I. Diyetsetel
1.Doymamış yağ asitleriyle beslenme
2.Alkol
3.Fazla kalorili beslenme (obesite)
4.Hayvansal proteinlerden zengin beslenme
5.Aşırı demir ve bakır alımı
6.Az sebze ve meyve alınması
7.Yemek pişirme yöntemindeki hatalar
8.Yiyeceklerin uygun olmayan koşullarda hazırlanması ve saklanması
II. Çevresel
1.Sigara dumanı
2.Hava kirliliği
3.Radyasyon
4.Diğer kirleticiler (Asbest, pestisitler, vs.)
III. İlaçlar
1.Antikanser ilaçlar (Adriamisin vs.)
2.Glutatyon tüketen ilaçlar (Asetaminofen, kokain vs.)
B. ENDOJEN FAKTÖRLER
1.Sedanter yaşam
2.Stres
3.Yaşlılık
4.Doku hasarı ve kronik hastalıklar (Ateroskleroz, kanser, kronik inflamasyon, iskemi-reperfüzyon hasarı gibi)
5.Diyetsetel antioksidanların sağlanmasını etkileyen koşullar (iştahsızlık, kolestaz, malabsorbsiyon gibi)

3.1.2. Serbest Oksijen Radikallerinin Etki Mekanizmaları

Serbest oksijen radikallerinin mitokondrial oksidasyon, hemoglobin tarafından oksijen transportu ve sitokrom P450 aktivitesi gibi birçok fizyolojik reaksiyonlarda rolleri olduğu gibi organizmaya zararlı etkileri de olmaktadır [24]. SOR hücre ve dokularda birçok zararlı etkilere yol açmaktadır [23]. SOR, lipid peroksidasyonu yolu ile karbonhidratları, proteinleri, sülfür içeren enzimleri ve DNA’yı etkileyerek hücre membranının hasarlanmasına neden olmaktadır [25]. SOR’nin etkileri, kompleks olup

onların lokal konsantrasyonuna, mikroçevreye ve bireyin genetik yapısına göre değişik etkiler gösterebilir (Tablo II). SOR, oldukça mutajenik olup kanser gelişiminde de önemli rol oynamaktadır [26].

Tablo II: Serbest oksijen radikallerinin etkileri [24]

-
-
1. Membran ve serum lipidlerinde peroksidasyon
 2. Protein oksidasyonu
 3. DNA oksidasyonu
 4. Enzimlerin inaktivasyonu
 5. Hücre yüzeyindeki reseptörlerde değişiklik
 6. Na-K-ATPaz, Ca-ATPaz gibi hücre iyon transport proteinlerinin tahrip olması
 7. Karbonhidrat oksidasyonu
 8. Ekstrasellüler etkiler: Kollagen süperoksit radikali etkisiyle harap olmakta, hiyalüronik asitte depolarize olarak bağ dokusu harabiyeti meydana getirmektedirler.
-
-

3.1.2.1. Lipid Peroksidasyonu

Serbest oksijen radikallerinin en hasar verici etkisi, poliansatüre yağ asitleri ve fosfolipidden oluşan hücre membranları üzerine olmaktadır. Lipid peroksidasyonu membranda bulunan poliansatüre yağ asitlerinin, SOR'leri tarafından peroksitler, alkoller, aldehitler, hidroksi yağ asitleri, etan, pentan gibi çeşitli ürünlere yıkılması reaksiyonudur [27].

Normal olarak biyolojik membranlarda bulunan poliansatüre yağ asitleri yapılarının belkemiğini oluşturur. Yapısındaki çoklu doymamış noktalardan dolayı özellikle peroksidasyon sürecinde parçalanabilirler. Membranlarındaki ana poliansatüre yağ asitleri, araşidonik asit ve linoleik asittir. Linoleik asit, araşidonik asitten daha fazla bulunduğundan dolayı doğal olarak lipid peroksidasyon ürünlerinin çoğu linoleik asitten üretilir [28]. Lipid peroksidasyon reaksiyonları biyolojik membranların yapı ve fonksiyonlarında belirgin hasara neden olmaktadır. Lipid peroksidasyonu hücre membranlarının bütünlüğünü tehlikeye sokar, hücre membranının akışkanlığını artırır, membrana bağlı reseptör ve enzimleri inaktive eder [17]. SOR lipid peroksidasyonunu indükleyerek fonksiyonel ve yapısal hücre hasarına neden olur [29].

Lipid peroksidasyonu, lipid moleküllerindeki iki ansatüre bağ arasında yerleşmiş metilen grubundan bir hidrojen atomunun çıkması ile başlatılan kompleks bir fenomendir. Sonuçta yeni bir karbon merkezli lipid serbest radikali oluşur. Oksijen varlığında bu yeni lipid serbest radikalinden lipid peroksitleri veya hidroperoksitleri oluşmaktadır. Bu son ürünler nispeten daha stabil bir son ürün olan ve lipid peroksidasyonunun belirteci olarak kullanılabilen malondialdehide (MDA) dönüşür

[30]. Membran komponentlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmalarına neden olan MDA; deformabilite, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzeyindeki determinantların agregasyonu gibi, iç membranın bazı özelliklerini değiştirmektedir. Ayrıca, diffüze olabildiğinden, DNA'nın nitrojen bazlarıyla reaksiyona girmektedir. MDA, bu özelliklerinden dolayı mutajenik, genotoksik ve karsinojenik bir bileşiktir [31-33].

Meme kanserli hastalarda serum MDA düzeyinin belirgin şekilde yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bunlara ilaveten MDA oluşumuna sebep olan DNA ürün düzeylerinin meme kanseri olan hastaların meme dokularında, meme kanseri olmayan kontrol gruplarının meme dokularına göre belirgin derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir [17].

Lipid peroksidasyonu, SOR ve lipid peroksitlerinin yaşlanma, ateroskleroz, kanser, radyasyon hasarı, iskemi-reperfüzyon hasarı, inflamasyon, romatoid artrit ve diğer otoimmün hastalıklar, diabetes mellitus, akciğer hastalıkları (amfizem, oksijen toksisitesi, bronkopulmoner displazi), SSS hastalıkları (hiperbarik oksijen, alüminyum toksisitesi, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı), böbrek bozuklukları (otoimmün nefroz, aminogilozit nefrotoksitesisi, ağır metal nefrotoksitesisi), kardiyak miyopati, kas hastalıkları (kas distrofisi, multipl skleroz), göz hastalıkları (katarakt, maküler dejenerasyon), karaciğer bozuklukları, kan hastalıkları (favizm, orak hücre anemisi, malarya, protoporfirin fotooksidasyonu), gastrointestinal bozuklukları (ülseratif kolit, steroid olmayan inflamatuvar droglara bağlı hasar) ve beslenme yetersizlikleri (Kwashiorkor, vitamin E eksikliği) gibi birçok hastalığın etyopatogenezinden sorumlu tutulmaktadır [23].

3.1.2.2. Serbest Oksijen Radikallerinin Nükleik Asitler ve DNA Üzerine Etkileri

Serbest oksijen radikallerinin önemli etkilerinden birisi de DNA hasarına yol açmalarıdır [34]. Serbest radikaller DNA'nın nükleik asitleri ile reaksiyona girerek DNA dizinlerinde çatlaklar meydana getirmekte ve bu hücrelerin kanser hücrelerine dönüşmesine yol açmaktadır [35]. Endojen DNA hasarı, DNA bazları veya deoksiriboz kalıntılarını kapsamakta ve sonuçta DNA zincirlerinde kırılmalar ve bazlarda hasar oluşmaktadır. Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan ara ürünlerde DNA ile reaksiyona girebilmektedir. Meydana gelen endojen DNA lezyonları genotoksiktir [36].

Okside DNA bazlarının oluşmasında SOR'nin belirli tipi sorumlu olmaktadır. Yüksek tepkime gücüne sahip olan hidroksil radikali, DNA bazlarını etkilemektedir. Hidroksil radikali yüksek tepkime gücüne sahip olsa da moleküllere kolayca diffüze

olamaz. Okside DNA'nın oluşması için hidroksil radikalının nükleik asit molekülüne yakın yerde oluşması gerekmektedir. Diğer önemli oksidan nitrik oksit ve süperoksitin bağlanması ile oluşan peroksinitrittir. Oldukça güçlü olan bu oksidan hücrelerin içine doğru yayılma kapasitesine sahiptir. Peroksinitritin DNA'yı okside edebilme yeteneği inflamasyon ve mutasyon arasındaki ilişkiyle açıklanmaktadır [37].

Okside DNA bazları timin glikol, 8-okso-deoksiguanozin (8-oxo-dG), 5-hidroksimetilurasil, 6-hidroksi-5,6-dihidrositozin, 5-hidroksiurasil ve urasil glikolü içermektedir. 8-oxo-dG spontan mutasyonların induksiyonunda önemli rol almaktadır. DNA polimeraz zincirindeki kayıplar ve guanin→tirozin transversiyonu mutajen ve tümör süpresör genlerdeki yaygın mutasyonlardır [38]. Benzer şekilde okside DNA bazlarının insan genlerinin bir kısmında mutajenik potansiyele sahip olduğu gösterilmiştir [37].

3.1.2.3. DNA'nın Onarım Mekanizması

Serbest oksijen radikallerin oluşturduğu DNA hasarı spesifik ve nonspesifik tamir mekanizmaları ile hızlı bir şekilde onarılmaktadır [39]. Okside DNA baz lezyonları ve abazik bölgeleri, farklı enzimatik aktiviteyi gerektiren bir yolla çoğunlukla DNA bazları kesilerek tamir edilmektedir. Bazlardaki hasar ilk önce DNA glikozilaz ile ortadan kaldırılır. Abazik taraftaki hasar ise abazik-endonükleaz tarafından 3'OH ve 5'deoksiriboz fosfat uçlarının kesilmesi ile giderilir. Deoksiriboz fosfataz aktivitesi nükleotit açıklıkları oluşturarak deoksiriboz fosfat kalıntılarını ayırır. Bu açıklık DNA polimeraz B tarafından doldurulur. Geriye kalan yarıklar ise DNA ligaz tarafından kapatılır. Serbest radikallerinin oluşturduğu DNA hasarının onarılmasında abazik-endonükleaz kritik rol oynamaktadır. SOR aşırı miktarda üretildiğinde artan DNA hasarı onarım kapasitesini aşabilir ve mutajen potansiyele neden olur [40].

3.2. Serbest Oksijen Radikallerinin Kanser Gelişimindeki Rolü

Serbest oksijen radikalleri yüksek mutajenik aktiviteye sahiptir ve karsinogenezde önemli rol oynamaktadır [41, 42]. Başlatıcı ve/veya tümör promotörü olarak etki gösteren SOR, DNA hasarı, prokarsinogenleri aktive etme ve hücrel antioksidan savunma sisteminde değişiklikler yapabilmektedir [43, 44]. Çok basamaklı karsinogenezin basit olarak başlama (*initiation*), gelişme (*promotion*) ve ilerleme (*progression*) olmak üzere üç evresi bulunur. SOR'nin kanser gelişiminin her üç basamağında da önemli rol oynadığı gösterilmiştir [37, 45].

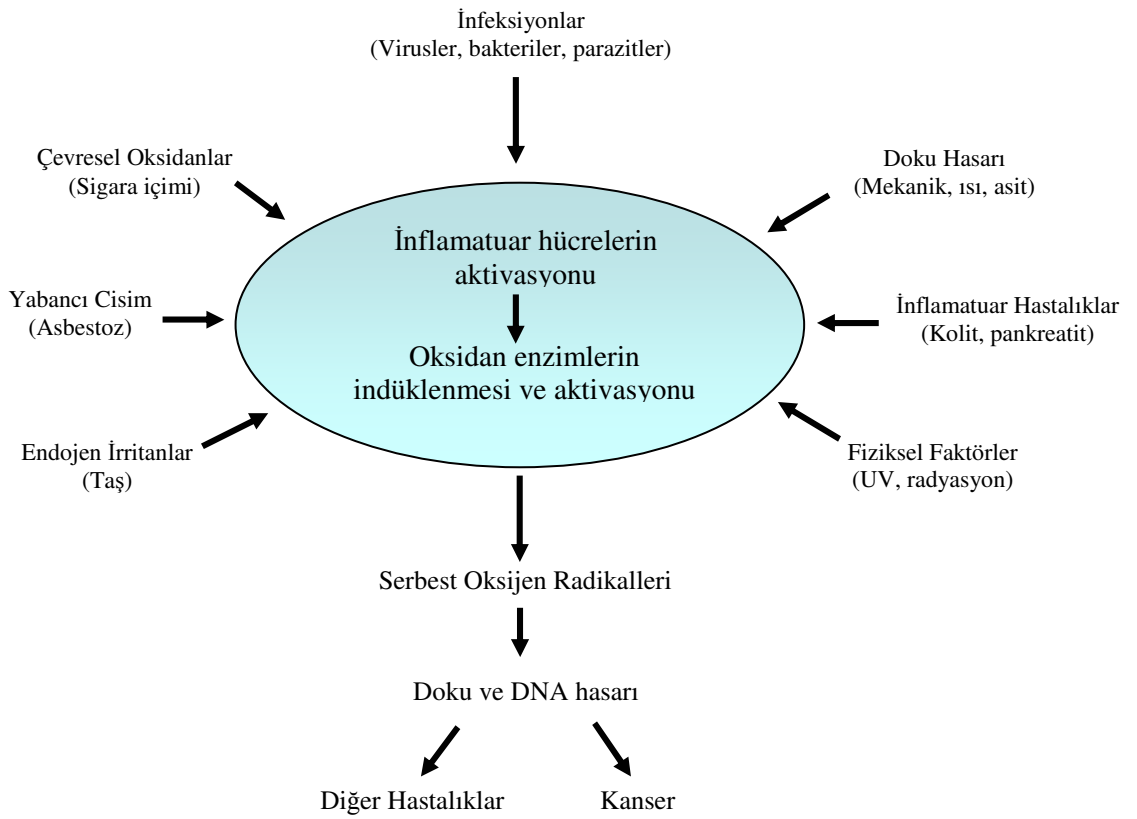
Başlama evresi, hücre genotipinde kalıcı değişikliklerin olduğu karsinogenezin ilk basamağıdır. Başlama evresini tamamlayan hücreler, gelişmeye devam ederek malign değişime uğrayabilirler [25]. Başlama evresi için kısa süreli tek bir karsinojen yeterlidir. Bu evre geri dönüşümsüzdür [46]. Başlatıcılar genel olarak sonunda bir karsinogene dönüşmek üzere metabolize edilirler ve genellikle DNA'ya bağlanırlar [47]. Bir dizi başlatıcıların radikal ürettiği veya radikal üretimine neden olduğu gösterilmiştir. Serbest radikaller bakteri DNA'sında ve memeli hücrelerinde mutasyona neden olmuştur [48]. Birçok kanser dokusunda DNA bazlarında artmış oksidatif hasar tespit edilmiştir [49]. Sürekli oksidatif stres altında tutulan insan tümör hücre dizinlerinin dönüşüme uğramamış hücre dizinlerine göre önemli derecede SOR ürettiği invitro olarak tespit edilmiştir [50]. SOR aynı zamanda polisiklik aromatik hidrokarbon gibi prokarsinojenleri aktive etmektedir [51]. Benzer şekilde oksidatif strese maruz kalan memeli hücrelerinde mutajenezlerde artma [52] ve p53 tümör süpresör geninde mutasyon [53] tespit edilmiştir. p53 gen mutasyonları insan kanserinde çok sık meydana gelen değişiklikler arasındadır. p53 geni, hücre siklusunun düzenlenmesi, apoptozis, DNA onarımının kolaylaştırılması, anjiogenezin antagonize edilmesinde önemli rol oynamaktadır. p53 gen fonksiyonundaki bir bozukluk kontrol edilmeyen hücre bölünmelerine neden olmaktadır. Bu durumda DNA hasarlanması ileri kuşaklara aktarılarak kromozomal yeni düzenlenmelere neden olur [54]. Tümör hücrelerinde oksidatif stresin devam etmesi genomik kararsızlığın artışına yol açar [55]. Oksidatif stres aynı zamanda mutasyona uğramış hücre kolonilerinin yayılmasını stimüle edebilir ve tümör büyümesine katkıda bulunan transkripsiyon faktörlerinin fosforilasyonunu aktive eder [56].

Gelişme evresi, başlama evresinde hücrelerde başlayan genotip değişikliklerinin devam ettiği evredir. Tümör promotörleri, membranları etkileyerek, stimüle ederek ve genetik değişiklik yaparak hücrel proliferasyona neden olurlar. Gelişme evresi değişme ve yayılma aşaması olarak incelenebilir [25]. Gelişme evresinin birinci aşaması olan değişme aşaması kısmen geri dönüşümlüdür ve inisiasyona uğratılmış hücrelerin durumunun değişmesi sözkonusudur. İkinci aşama ise yayılma aşamasıdır ve geri dönüşümsüzdür [57]. Tümör promotörleri SOR aracılığıyla hücrel proliferasyona ve değişikliklere neden olurlar [58]. Örneğin, 12-0-tetradecanoil-forbol-13 asetat (TPA) tipik bir potent tümör promotörüdür. TPA antioksidan enzim sistemini inhibe ederek hidroperoksit oluşumunu artırır [59]. Bununla birlikte TPA, çeşitli mekanizmalarla SOR formasyonunu stimüle eder. Hidroperoksitlerin

oluşumundaki anahtar rol, araziidonik asit metabolizmasının lipooksijenaz yolu aracılığıyla olmaktadır. Tumor promotoru olan TPA, peroksizomlara prolifer olmaktadır. Bu durumun karsinogeneziste önemli rol oynadığı ileri sürölmektedir [60].

Kanser oluşumundaki son evre olan progresyon evresi, maligniteye dönüşüm ile sonuçlanan inisiasyona uğratılmış hücrelerin klonal olarak büyümesidir [37]. SOR, DNA zincir kırıkları veya kromozomal anomalilere neden olarak progresyonda hızlanmaya neden olabilir [61].

Şekil 2. Biyolojik, kimyasal ve fiziksel ajanlara bağlı gelişen kronik inflamasyonla ilişkili kanser ve kanser dışı hastalıklar [62]



3.3. Antioksidan Savunma Sistemleri

Organizmada SOR oluşurken eşzamanlı olarak serbest radikallerin zararlı etkilerini önlemek için antioksidan savunma mekanizması gelişmektedir. Vücut biyolojik fonksiyonlarını sürdürebilmek için oksidan ve antioksidan iki sistemi dengelemeye çalışır. Ancak SOR uygunsuz zamanda veya aşırı miktarda veya antioksidan savunmanın tam olarak fonksiyon görmediği durumlarda meydana gelirse oksidatif stresin olumsuz etkileri ortaya çıkabilir [43]. Hücreler artan oksidan maddeleri etkisiz hale getirmek için antioksidan savunma mekanizmaları ile

donatılmıştır. Antioksidanlar okside olabilen substratın oksidasyonunu önleyen veya oksidasyon derecesini azaltan moleküllerdir. Antioksidanlar antikarsinojen olarak etki göstererek hücreleri oksidatif hasardan korurlar ve karsinogenezin her üç safhasına da baskılayıcı etki yaparak fonksiyonlarını gösterirler [16, 43]. Antioksidanlar normal hücreleri uzun ve kısa dönemde serbest radikallere bağlı hasarlanmadan koruduğu gibi tümör hücrelerini de kanser tedavisi sonucu oluşan hasarlanmaya karşı da aynı oranda korumaktadır [7].

Antioksidan savunma; hücrenel, membranöz ve ekstrasellüler mekanizmalar şeklinde fonksiyon yapar.

Hücrenel antioksidan savunma sistemi, glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz ve katalitik enzimler gibi antioksidanların endojen üretimine dayanmaktadır. SOD, sitoplazma ve mitokondride süperoksit anyonlarının hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler. Sitoplazmada bakır ve çinko içeren CuSOD, ZnSOD bulunurken mitokondride Mn içeren MnSOD bulunmaktadır. Böylece hücre içindeki süperoksit radikali düzeyinde azalma olur ve hücreler süperoksit radikallerinin zararlı etkilerinden korunmuş olur. Glutatyon peroksidaz, sitoplazma ve mitokondride hidrojen peroksitin ortadan kaldırılmasında önemli rol oynar. Doku peroksizomlarında yüksek konsantrasyonda bulunan hidrojen peroksitin ortadan kaldırılmasını katalizler [16, 63].

Karsinogenez sırasında tümörlerde bazı antioksidan enzimler değişikliğe uğrayabilir. Tümör hücreleri normal hücrelerle karşılaştırıldığında, tümör hücrelerinde MnSOD, CuSOD, ZnSOD ve katalaz aktivitesinde düşüklük gözlenmiştir. Buna karşın glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz aktivitesi değişken bulunmuştur. Glutatyon S-transferaz birçok tümör hücrelerinde ve kimyasal olarak indüklenmiş preneoplastik hepatosit nodüllerinde artmıştır. Birçok kanserde ise glukoz 6 fosfat dehidrogenaz aktivitesinde artış tespit edilmiştir [64]. MnSOD, en kuvvetli antioksidan enzimlerden biridir. Farklı tümör hücre dizileri içeren birçok çalışmada büyümeyi önleyici etki yapan MnSOD overekspresyonu gösterilmiştir. Bununla birlikte MnSOD aktivitesi çoğu kanserde düşük bulunmuştur. Bazı araştırmacılar yüksek MnSOD ekspresyonunun kötü prognoz, progresyonun ileri evreleri, invaziv ve metastatik fenomen ile ilişkili olduğunu ileri sürmektedirler [19].

Membranöz antioksidan savunma sisteminde vitamin E, betakaroten ve koenzim Q gibi antioksidanlar yer alır. Lipofilik olan vitamin E (alfa tokoferol) ara peroksil radikallerini temizlemekte ve lipid peroksidasyonunun zincir reaksiyonunu bloke

etmektedir. Bunlara ilaveten membran yapısını oluşturan uygun orandaki kolesterol ve fosfolipidler oksidatif hasara karşı artan dirençte önemli rol oynamaktadır [13].

Ekstrasellüler savunma sistemi ise metal bağlayıcı proteinlerin karışımını kapsamaktadır. Metal bağlayıcı proteinler transferrin, laktoferrin, albumin, haptoglobülinler, ürik asit, vitamin C ve bilirübindir. Demir, bakır gibi metal iyonlarının varlığı lipid peroksidasyonu ve SOR oluşumunu hızlandırabileceğinden metal bağlayıcı proteinler bu metallerin nonreaktif durumda kalmalarını sağlar [16, 63, 65].

Antioksidan maddeler endojen, ekzojen ve gıda kaynaklı antioksidanlar olarak 3 grupta toplanırlar (Tablo III) [66].

Diyetteki antioksidanlar programlanmış hücre ölümünü (apoptozis) indükleme kabiliyetinden dolayı kanser tedavisinde potansiyel adjuvanlardır [67]. Ayrıca ekzojen antioksidanlar kanser tedavisi ile ilgili olan ağrı gibi yan etkileri azaltmaktadır [68].

Tablo III: Antioksidan maddelerin sınıflandırılması

I-Endojen Antioksidanlar

A-Enzim Olanlar

- 1.Mitokondrial Sitokrom Oksidaz Sistemi
- 2.Süperoksid Dismutaz
- 3.Katalaz
- 4.Glutasyon peroksidaz, Glutasyon-S-Transferaz
- 5.Hidroperoksidaz

B-Enzim Olmayanlar

- 1.Lipid Fazda Bulunanlar
 α -Tokoferol (E vitamini)
 β - Karoten
- 2.Sıvı Fazda (Sitozol veya kan plazmasında) Bulunanlar
Askorbik asit, Ürat, Melatonin, Sistein, Seruloplazmin, Transferrin, Laktoferrin, Metionin, Myoglobin, Hemoglobin, Ferritin, Albumin, Bilirubin, Glutasyon.

II-Ekzojen Antioksidanlar

- Ksantinoksidaz İnhibitörleri: Tungsten, Allopurinol, Oksipurinol, Folik Asit
NADPH Oksidaz İnhibitörleri: Adenozin, Lokal Anestetikler
Rekombinant Süperoksid Dismutaz
Endojen Antioksidan Aktiviteyi Arttıranlar: Ebselen, Asetilsistein
Diğer Nonenzimatik Serbest Radikal Toplayıcıları: Mannitol, Albumin
Demir Redoks Döngüsünün İnhibitörleri: Desferroksamin, Seruloplazmin
Sitokinler: Tümör Nekroz Faktör (TNF) ve IL-1
Demir Şelatörleri

III-Gıda antioksidanları

- Butile Hidroksitoluen
Butile Hidroksianizon
Sodyum Benzoat
Fe-Süperoksid Dismutaz
-
-

3.3.1. Antioksidanların Etki Mekanizmaları

Fizyolojik olarak veya maruz kalınan anormal koşullara bağlı olarak patolojik bir şekilde üretilen SOR'ni her seviyede engelleyebilecek antioksidan sistemler bulunmaktadır. Antioksidanlar etkilerine göre; toplayıcı (*scavenging*) antioksidanlar, bastırıcı (*quencher*) antioksidanlar, onarıcı (*repair*) antioksidanlar, zincir kırıcı (*chain breaking*) antioksidanlar olmak üzere sınıflandırılır [66].

Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya çok daha zayıf yeni bir moleküle çevirme işlemine "toplayıcı etki" denir. Antioksidan enzimle trakeobronşial mukus ve küçük moleküller bu tip etki gösterirler [66, 69].

Serbest oksijen radikalleri ile etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltan veya inaktif şekle dönüştüren işleme "bastırıcı etki" denir. Vitaminler, flavanoidler, trimetazidin ve antisianoidler bu tip etkiye sahiptirler.

Onarıcı etki: Özellikle nükleik asitler gibi SOR ile yıkılmış biyomolekülleri onarırlar. DNA onarım enzimleri ve metiyonin sülfoksit redüktaz bu gruba dahil edilir.

Serbest oksijen radikallerini kendilerine bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkiye "zincir kırıcı etki" denir. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller bu tip etki gösterirler [66].

3.4. Paraoksonaz

1953 yılında esteraz sınıflandırma metoduna dayanılarak organofosfatlar, "A"-esteraz ve "B"-esteraz olarak ikiye ayrılmıştır. "A"-esterazlar, organofosfatları hidrolize ederken, "B"-esterazlar ise inhibe etmektedir. "A"-esterazlar arildialkilfosfatazları (paraoksonaz) ve diizopropilfluorofosfatazları içermektedir. "B"-esterazlar ise karboksilesteraz ve kolinesterazları içermektedir [70, 71].

"A"-esterazlar, grup olarak hidrolize organofosfat, karbamat ve aromatik karboksilik esterlerdir. Enzim aktivitesini ölçmek için en sık kullanılan paraokson substratından dolayı paraoksonaz (arildialkilfosfataz, E.C.3.1.8.1.) olarak isimlendirilmiştir. Paraoksonaz (PON1), hem aktivite hemde stabilite için kalsiyuma ihtiyaç duyar. Bu özellik PON1'ı diğer A-esterazlardan ayırmaktadır. Çünkü diğer esterazlar aktiviteleri için Co^{+2} , Mn^{+} , Mg^{+2} 'a ihtiyaç duyarlar [11]. İnsan serum PON1'ı kalsiyum bağımlı anti-aterojenik özellikleri olan organofosfat ve lakton gibi esterleri hidrolize eden bir enzimdir [72].

Organofosfatlar, asetilkolinesterazları inhibe etme etkisinden dolayı sinir gazları ve insektisit amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. Paraoksonaz önceleri organofosfat bileşiklerini hidrolize etme yeteneği nedeniyle daha çok toksikoloji

alanında üzerinde çalışılmıştır. Ancak son yıllarda antioksidan etkileri nedeniyle güncellik kazanmıştır.

Paraoksonaz insan serumunda ilk olarak 1961 yılında tespit edilmiştir [73]. Daha sonra, özellikle saflaştırılmış sığır serum paraoksanazının lipidlerle ilişkili olduğu ve HDL kompleksi ile aynı moleküler kütesinin olduğu ileri sürülmüştür [74]. Koyunlarda enzim aktivitesinin çoğu apo A1 içeren partiküller de HDL ile birlikte olduğu ve insan serumunun ultrasantrifüjlenmesi ile birlikte PON1'in kanda HDL yapısında taşındığı ortaya konmuştur [75]. Yapılan immunoaffinite kromatografi çalışmalarıyla insan serum PON1'inin apo A1 ve apo J içeren HDL'in tipleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [76].

3.4.1. Paraoksonaz Gen Ailesi

Paraoksonazın fizyolojik rolü tam olarak bilinmemekle birlikte plazma düşük dansiteli lipoproteinlerdeki oksidize lipidlerden, bakteri endotoksinlerinden, toksik organofosfatlar gibi toksik ajanların oluşturabileceği hücrel hasara karşı önemli koruyuculuk görevi yapar [77, 78].

In situ hibridizasyon çalışmalarında paraoksonaz geninin insanlarda 7. kromozomun uzun kolu q21–q22 lokusunda lokalize olduğu gösterilmiştir [10]. Paraoksonaz gen ailesinin PON1, PON2 ve PON3 olmak üzere üç üyesi vardır. İnsan genomu, PON2 ve PON3 olarak adlandırılan iki PON1 benzeri gen içerir. İnsan PON1 ve PON2 her birinin dokuz eksonu bulunur. PON1 geni, PON2 ve PON3 genine bitişik yerleşimlidir. Genlerin yapısal benzerlikleri oldukça fazladır ve bir evrimsel prekürsörden gen duplikasyonu ile oluşmuşlardır. Bazı memeli türleri içinde PON1, PON2, PON3 aminoasit dizilimlerinde ve nükleotit dizilimlerinde özdeşlik göstermektedir [77].

3.4.2. İnsan Serum Paraoksonazının Özellikleri

Saflaştırılmış PON1, yaklaşık 43000 dalton molekül ağırlığı olan glikolize bir proteindir. Her molekül üç şeker bağı içermekte ve her molekülün total ağırlığının %15.8'ini karbonhidrat oluşturmaktadır. İzoelektrik noktası 5.1'dir [79, 80]. Protein kısmı ise üç sistein kalıntısı içeren 354 aminoasitten oluşmuştur. Aminoasit bileşimi yüksek lösin içeriği dışında bir özellik göstermez [80].

Saflaştırılmış aktif PON1 yapısında Cys-41 ve Cys-352 arasında intramoleküler disülfid bağı ile 283 serbest sistein olmak üzere sadece 3 sistein rezidüsü bulunur. 283. konumdaki serbest sistein kalıntısı enzimin aktif merkezine yakın bölgede bulunduğu ve bu bölgenin substrata bağlanma için gerekli olduğu düşünülmektedir [81]. Sistein

rezidüleri, PON1 aktivitesi için gerekli bir bileşendir. Sistein, sulfidril rejanları tarafından baskılanmış PON1 aktivitesini tersine çevirmektedir [81]. E52 ve D53 gibi kalsiyum ligandları veya W280 gibi substrat bağlayan yerler veya nükleofilik yerler olarak etki gösteren esansiyel aminoasit rezidüleri PON1'in etkin yerlerinin bir parçasıdır [82].

Paraoksonaz, serumda spesifik olarak HDL üzerinde lokalize ve aktivitesi kalsiyuma bağımlı bir enzimdir. Kalsiyum, enzimin hem aktivitesi hem de stabilitesi için gerekmektedir. Kalsiyum direkt olarak katalitik reaksiyonda yer alarak veya aktif alanın uygun konformasyonda tutulmasını sağlayarak aktif alanın korunmasında görev alır [76].

Paraoksonazın bir özelliği hidrofobik N terminal sinyal peptidi bölgesinin olmasıdır. N terminal bölgesi aracılığıyla HDL'deki fosfolipidlere bağlanır. PON1'in fosfolipidlere bağlanması ve stabilizasyonunda apo A1 rol oynar [83].

İnsan serum arilesteraz (ARE) ve PON1 aktivitesi bazı aromatik asit esterleri ve organofosfatların büyük bir kısmını hidrolize etme özelliği olan tek bir enzim tarafından katalizlenmektedir [80].

3.4.3. Paraoksonazın Sentez ve Sekresyonu

İnsanlarda PON1'in sentez ve sekresyonunun karaciğerde olduğu düşünülmektedir. Enzim aktivitesi fetüs karaciğeri, dalağı ve erişkin karaciğerinde gösterilmiştir. Sıçanlarda ise özellikle karaciğer, akciğer, kalp, böbrek, ince bağırsak ve plazmada bulunmaktadır [76, 77].

Serum PON1 aktivitesi, yeni doğanlarda ve prematüre bebeklerde yetişkin düzeyinin yaklaşık yarısı kadardır. Erişkin düzeyine doğumdan yaklaşık bir yıl sonra ulaşmakta ve hayat boyu değişmeden aynı düzeylerde kalır [11]. Erkek ve kadınlar arasında serum HDL konsantrasyonlarında bariz bir fark olmasına karşın insan serum PON1 aktivitesi yaş ve cinse bağılı değişkenlik göstermez [11, 84].

Hem serum PON1 konsantrasyonu hem de bireysel genotipler plazma lipid ve lipoprotein konsantrasyonuna bağlıdır. Serum düzeyleri zaman içinde stabil iken, enzimatik aktivite 55 ve 192 polimorfizmlerinden bağımsız olarak bireyler arasında değişiklikler göstermektedir. Bunun nedeni olarak HDL lipid oluşumunda rol oynayan kazanılmış faktörler olabileceği ileri sürülmektedir. PON1 geninin promotor alanındaki değişiklikler ya da henüz belirlenmemiş nedenler olabilir [76].

Serum PON1 aktivitesi, beslenme, akut faz proteinleri, gebelik, hormonlar, sigara kullanımı, simvastatin tedavisi ve apo A1 metabolizmasını etkileyen durumlardan etkilenmektedir [85-87].

3.4.4. Paraoksonaz Aktivitesine Beslenme ve Çevresel Faktörlerin Etkisi

Apo E eksikliği gösteren farelerde kırmızı şarap ve polifenollerin (kuersetin, kateşin) PON1 aktivitesini artırdığı, sigaranın ise doz ve zamana bağımlı olarak PON1 aktivitesini inhibe ettiği gösterilmiştir. Kullanılmış yağdan zengin diyetin tokluk serum PON1/ARE aktivitesini azalttığı, kullanılmamış yağ içeren diyetin ise ters etki yaptığı bildirilmiştir. Lipid düşürücü ilaçlarında PON1 aktivitesini düşürdüğü tespit edilmiştir [88].

Yapılan bir çalışmada fazla miktarda diyetle alınan sebzeler içerdikleri C ve E vitamin miktarına bağlı olarak PON1 aktivitesini azalttığı bildirilmiş olmakla birlikte, yüksek dozlarda vitamin E verilen bireylerde bile PON1 aktivitesinde değişiklik gözlenmemiştir. Muhtemelen PON1 aktivitesi E vitaminine ihtiyaç göstermemektedir [89].

PON1 aktivitesi için diğer çevresel ve nütrisyonel faktörlerde önemlidir. Örneğin yüksek serum kolesterol düzeyi ve insülin rezistansı PON1 aktivitesini azaltmaktadır [90]. Monoansatüre yağ asitlerinin, satüre ya da poliansatüre yağ asitlerine oranla serum PON1 aktivitesini daha fazla artırmaktadır. Aterojenik diyet tavşanlarda, farelerde ve insanlarda PON1 aktivitesini azaltmaktadır [91].

Organofosfatlara veya diğer toksinlere kronik olarak mesleki veya çevresel düşük dozlardaki maruziyetin PON1 aktivitesini etkileyip etkilemediği henüz kesinlik kazanmamıştır. Ancak organofosfatlara akut maruziyet durumlarında da PON1 aktivitesi azalmaktadır [92].

Koroner kalp hastalığı riski düşük olan sağlıklı orta yaşlı erkeklerde ılımlı alkol alımının HDL düzeylerinin artışına bağlı olarak serum PON1 aktivitesini artırmaktadır [87].

3.4.5. Genetik Polimorfizm

İnsan PON1'nın iki genetik polimorfizmi vardır. Bu iki polimorfizm 55. ve 192. pozisyonlardaki aminoasitlerin değişimi ile ortaya çıkar. 192. pozisyondaki glutamin (A veya Q genotipi) ve arginin (B veya R genotipi) yer değiştirmesi ile birinci polimorfizm; pozisyon 55'deki lösin (L genotipi) ve metionin (M genotipi) değişmesiyle 2. polimorfizm oluşur. 192. pozisyonda glutamin varlığında PON1, A Tipi; 192. pozisyonda arginin varlığında ise, B Tipi şeklinde ifade edilir [93]. Serum

PON1 aktivitesi bireysel farklılıklar gösterir ve bu farklılıklar paraoksonaz geninin 192. pozisyonundaki polimorfizm ile ilişkilidir. PON1 A-fenotipi düşük paraoksonaz aktivitesine sahip iken PON1 B-fenotipi yüksek paraoksonaz aktivitesine sahiptir [94]. Bu iki pozisyonundaki polimorfizmlere ek olarak PON1 promotör alanında beş polimorfizm daha rapor edilmiştir. Bu genetik polimorfizmlerden dolayı PON1 aktivitesi bireyler arasında 10-40 kat kadar farklılıklar göstermektedir [95].

Paraoksonaz geni tek otozomal lokus üzerinde allel A (Q) ve allel B (R) olarak ifade edilmektedir. Düşük aktiviteli izoenzim A allel (genotip A/glutamin varyantı) 192. pozisyonda glutamin içeren paraoksonaz enzimini şifrelerken, yüksek aktiviteli izoenzim B allel ise (genotip B/arginin varyantı) pozisyon 192'de arginin bulunan bir proteini şifrelemektedir. Her iki izoform Hardy-Weinberg dengesindedir, böylece üç fenotip ve trimodal dağılım oluşmaktadır. En yaygın olanı homozigot-AA (QQ), ikincisi heterozigot-AB (QR) ve en az olanı homozigot-BB (RR)'dir. R allelin kodladığı proteinin paraokson hidroliz aktivitesi Q allele göre sekiz kat daha yüksektir. Bu genetik polimorfizm serum protein konsantrasyonunu da etkilemektedir. Homozigot BB bireyler homozigot AA'a göre daha yüksek enzim konsantrasyonuna sahiptir. Polimorfizm ARE aktivitesini etkilemez. Bu nedenle ARE aktivitesi PON1 aktivitesindeki değişikliklerden bağımsız olarak asıl protein konsantrasyonunun göstergesi olarak kabul edilebilir [88].

Pozisyon 55'deki aminoasitler arasındaki yer değiştirme sonucu oluşan polimorfizmin PON1 aktivitesi üzerine etkisinin olmadığı inanılmaktadır. Bununla birlikte, bu polimorfizm insülin bağımlı olmayan diabetes mellitusta PON1 konsantrasyonunun aktivitesini etkilediği bildirilmiştir [11].

Populasyonlar arasında da PON1 aktivitesi açısından belirgin farklılıklar bulunmaktadır. Avrupa toplumunda serum PON1 aktivitesi trifazik olarak dağılım sıklığı göstermektedir. Bundan dolayı PON1 ve ateroskleroz gibi birtakım hastalıklar arasındaki ilişki göz önüne alındığında PON1 aktivitesindeki polimorfizmin substrat bağımlı olduğu düşünülmektedir. Avrupa toplumunda serum paraokson hidrolizinin aktivitesindeki polimorfizmin temeline dayanan genetik çalışmalar bu özelliğin basit bir mendelian kalıtımla iletildiğini göstermektedir [96]. Afrika nüfusunda, Asya ve Kanada topluluklarında PON1 aktivitesinin dağılımı unimodal olup Avrupa nüfusuna göre daha yüksek bir ortanca değere sahiptir. Bunun nedeni büyük bir olasılıkla Afrika ve Asya orijinlilerde 192 polimorfizm allel prevalansının yüksek olmasıyla birlikte beslenme ve çevresel faktörlerinde önemli olduğu düşünülmektedir [89].

PON2 geninde de polimorfizmler tanımlanmıştır. İlk defa Asya kökenli kişilerde yapılan bir çalışmada PON2 geninin 310. pozisyonunda sistein yerine serin yer değiştirmesinin (C/S) koroner arter hastalığı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. PON2 S polimorfizmi sadece PON1 B alleli taşıyıcılarında koroner arter hastalığı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir [97].

3.5. Çeşitli Hastalıklarda Paraoksonaz Aktivitesi

Yüksek dansiteli lipoprotein yapısında fosfolipidlere bağlı olarak bulunan PON1 enziminin LDL'i oksidasyondan koruyarak ateroskleroza önlediği kesin olarak ortaya konmuştur. Son yıllardaki çalışmalara göre farklı PON1 genotiplerinin ateroskleroza önlemedeki rolleri hala tartışmalı olmakla birlikte QQ-düşük aktivite genotipine sahip bireylerin ateroskleroz riskinin daha yüksek olduğu giderek daha çok kabul görmektedir [88].

Serum PON1 enzimini taşıyan HDL kolesterolün yokluğuna bağlı olarak lipid metabolizma bozukluğu olan Fish-eye ve Tangier hastalığı olanlarda serum PON1 aktivitesi çok düşük veya dolaşımda hiç saptanamayacak düzeyde tespit edilmiştir [98, 99].

Üremik ve böbrek transplantasyonu yapılmış hastalarda artmış lipoprotein oksidasyonuna bağlı olarak ateroskleroz riski artmaktadır. Üremik ve böbrek transplantasyonu yapılmış hastalarda PON1 enzim aktivitesi sağlıklı bireylere göre daha düşük bulunmuştur [100].

Antikardiolipin antikoları pozitif olan bir grup hastada PON1 aktivitesinin belirgin olarak azaldığı, LDL'e karşı otoantikoların arttığı ve arteriyel tromboz gelişmiş hastalarda enzimin RR genotipin prevalansının artma eğiliminde olduğu gösterilmiştir. Bu bulgular PON1 değişikliğinin, antifosfolipid sendromunda rol oynadığını göstermektedir [101].

İnsülin bağımlı olmayan diabetes mellituslu hastalarda serum PON1 aktivitesi sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında belirgin şekilde düşük olduğu tespit edilmiştir. Azalmış PON1 aktivitesi diabetik vasküler komplikasyonların gelişimine zemin hazırlamaktadır [102].

Kalp krizi sonrası enzim aktivitesinin azaldığı saptanmıştır. Bu bulgular, PON1 polimorfizminin koroner kalp hastalığı için bir risk faktörü olabileceğini göstermektedir [103].

Familyal hiperkolesterolemili ve insülin bağımlı diabetes mellituslu hasta gruplarında serum PON1 aktivitesi, genetik değişiklikten bağımsız olarak sağlıklı kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur [90].

Serum PON1 aktivitesinin azaldığı diabet, hiperkolesterolemi ve kardiovasküler hastalığı olan hastalar artmış bir oksidatif stres altındadır [90, 104].

3.6. Kanser ve Paraoksonaz

İnsan vücudunda sayılı endojen antioksidanlardan birisi de PON1'dır. İnsan vücudunda paraoksonazlar dahil birçok endojen SOR temizleyen sistemler vardır. Serum PON1, HDL'ye bağlanarak paraokson gibi organofosfor bileşiklerinin ve lipid peroksidasyonun karsinojenik lipid soluble radikallerinin detoksifikasyonuna katkısı olmaktadır [11, 105, 106].

Kalsiyum esteraz bağımlı PON1, LDL oksidasyonu üzerinden HDL ile antioksidan özelliğe sahip olduğu bilinmektedir. Birçok hastalıkta serum PON1 seviyesi değişmektedir [11, 105, 106]. Bununla birlikte serum PON1 seviyesi ile kanser arasındaki ilişki hala bilinmemektedir. Ancak Akcay ve arkadaşları yaptıkları iki farklı çalışmada pankreas ve mide kanserli hastalarda PON1 ile plazma lipoproteinleri arasındaki ilişkiyi incelemişler. İlk çalışmada 20 pankreas kanseri tanısını alan hastalar ile aynı yaş-cinsiyette 20 sağlıklı kontrol grubunun çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL), LDL, HDL, PON1 seviyeleri ölçülmüş. Pankreas kanserli hastalarda HDL ve PON1 seviyelerinin kontrol grubundan düşük olduğu, LDL ve VLDL seviyelerinin kontrol grubundan farklı olmadığı gösterilmiştir. Diğer çalışmada mide kanseri tanısını alan hastalar ile kontrol grubu karşılaştırıldığında aynı sonuçlar elde edilmiştir. İki çalışmanın sonucuna göre pankreas ve mide kanserli hastalar ile sağlıklı kontrol grubu karşılaştırıldığında kanserli hastalarda HDL ve PON1 seviyelerinin daha düşük olduğu görülmüştür [107, 108].

4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. Çalışma Grupları

Çalışmaya Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu onayı alındıktan sonra başlandı. Çalışma, AK ve kontrol grubu olacak şekilde prospektif olarak yapıldı. Çalışmaya alınan hem AK hem de sağlıklı gönüllülerden oluşan kontrol grubundaki bireylere çalışmaya katılma formu imzalatıldı.

Çalışmaya Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Tıbbi Onkoloji Bölümü'ne başvuran AK tanısı almış olan hastalar ile kontrol grubu olarak aynı yaş ve cinsiyetteki sağlıklı bireyler alındı.

Çalışmaya alınma kriterleri:

A-Akciğer kanseri grubu:

- 1-Histopatolojik olarak AK tanısının olması,
- 2-Tanı anında 18 yaşından büyük olması,
- 3-Cerrahi, kemoterapi, radyoterapi uygulanmamış olması,
- 4-Serum analizlerini etkileyebilecek diyet uygulaması ve ilaç kullanımının olmaması.

B-Kontrol grubu:

- 1-Hasta grubuyla aynı yaş ve cinsiyette sağlıklı birey olması
- 2-Serum analizlerini etkileyebilecek diyet uygulaması ve ilaç kullanımının olmaması.

Çalışmaya alınan bireylerin adı-soyadı, yaşı, cinsiyeti, sigara içme öyküsü (paket/yıl), patoloji veya sitolojik tanısı ve tanı aldığı tarih çalışma formuna kaydedildi.

Çalışmada AK tanısı alan hastalarda serum PON1 ve ARE aktiviteleri ve PON1 fenotip dağılımının aynı yaş-cinsiyetteki kontrol grubuyla PON1 ve ARE seviyelerinin karşılaştırılması amaçlandı.

Her iki gruptan da en az 12 saatlik açlık sonrası sabah 8⁰⁰ ile 10⁰⁰ arasında total kolesterol, HDL, LDL, VLDL, trigliserit ve PON1 ile ARE seviyeleri çalışılmak üzere antekübital venden venöz kan örnekleri alınmıştır. Serum analizleri için alınan kan örnekleri, herhangi bir materyal içermeyen düz bir biyokimya tüpüne konulmuştur. Biyokimya tüpüne alınan kanlar yarım saat bekletilmiş ve 3500 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek serumları ayrılmıştır. Serumlar iki kısma bölünmüştür. Birinci kısım serumlardan bekletilmeden; serum analizleri Randox kitleri kullanılarak

Olympus AU 600 (Olympus Optical Co., Japon) otoanalizörlerinde enzimatik endpoint yöntemiyle çalışılmıştır. Diğer serumlar haftalık olarak ölçülecek şekilde PON1 ve ARE çalışılmak üzere -20°C’de derin dondurucuda saklanmıştır.

Serum PON1 aktivitesi substrat olarak kullanılan paraoksonun (O,O-diethyl-O-p-nitrophenyl phosphate Sigma Co, London, UK) enzimatik olarak hidrolizi sonucu oluşan 4-nitrofenolün, ARE aktivitesi ise substrat olarak fenil asetat (Sigma)’ın enzimatik olarak hidrolizi sonucu oluşan fenolün verdiği renkli ürünün absorbansının Techcomp 8500 II UV/VIS spektrofotometresinde (Techcomp Ltd., China) ölçümü ile belirlenmiştir [109]. Serum PON1 aktivitesi için 1 ml serumdaki enzimin 1 nmol paraoksonu 1 dakikada 4-nitrofenole dönüştüren enzim aktivitesi ünite olarak tanımlanmıştır (Ünite=1 nmol 4-nitrofenol/L serum/dakika). ARE aktivitesi için ise 1 mikromol fenil asetatı 1 dakikada fenole dönüştüren enzim aktivitesi ünite olarak tanımlanmıştır (Ünite=1 mikromol fenol/ml serum/dakika).

Fenotiplerin belirlenmesinde serum PON1/ARE aktivitesi oranı kriter olarak alınmıştır [72]. Çalışılan gruplarda PON1 aktivitelerinin ARE aktivitelerine bölünmesiyle elde edilen aktivite oranları kümülatif olarak gruplara ayrıldığında üç PON1 aktivite fenotipinin varlığı tespit edilmiştir. AK grubunda aktivite oranının 0,000-1,554 aralığı düşük aktiviteli PON1 fenotipini taşıyan Fenotip AA, 1,554-3,108 aralığı intermediate aktiviteli PON1 fenotipini taşıyan Fenotip AB ve 3,108’in üzerindeki aktivite oranı ise yüksek aktiviteli Fenotip BB bireyler olarak ayrılmıştır. Aynı şekilde kontrol grubunda da 0,00-1,14 aralığı düşük aktiviteli Fenotip AA, 1,14-2,28 aralığı intermediate aktiviteli Fenotip AB, 2,28-3,5 aralığı ise yüksek aktiviteli Fenotip BB bireyler olarak ayrılmıştır.

4.2. Serum PON1 Aktivitesi Tayini

Paraokson stok çözeltisi

0.1 M Paraokson stok çözeltisi, metanolde hazırlanır. Hazırlanan bu stok çözeltisi derin dondurucuda saklanır.

Reaksiyonda kullanılacak 2 mM paraokson çözeltisi

Reaksiyonda kullanılacak 2 mM paraokson çözeltisi, 0.1 M stok çözeltisinden yararlanılarak 0.1 M Tris-HCL (pH:8.00), çözeltisinde taze olarak hazırlanır .

2 mM Kalsiyum Klorür Çözeltisi

pH’sı 8.00 olan 0.1 M Tris-HCL çözeltisinden yararlanılarak 2 mM kalsiyum klorür çözeltisi hazırlanır.

1 M Sodyum Klorür Çözeltisi

pH'sı 8.00 olan 0.1 M Tris- HCL çözeltisinden yararlanılarak 1 M NaCl çözeltisi hazırlanır.

Deneyin Yapılışı

Kör, örnek ve standart tüpleri iyice karıştırılır, 25°C sıcaklıktaki su banyosunda 10 dakika enzimatik reaksiyona sokulur. Daha sonra spektrofotometrede 412 nm'de ölçümleri yapılır.

Tablo IV: Serum PON1 aktivitesi ölçümü

	Kör	Örnek	Standart
Reaksiyon çözeltisi	1400 µL	1400 µL	1400 µL
Serum	-----	40µL	-----
Standart çözeltisi	-----	-----	40µL
Distile su	40µL	-----	-----

4.3. Serum ARE Aktivitesi Tayini

Fenil Asetat Stok Çözeltisi

0.5 M Fenil asetat stok çözeltisi (MA:136.14, d:1.08 g/l) etanolde hazırlanır. Çözelti derin dondurucuda saklanır.

2 mM Fenil Asetat Çözeltisi

Stok 0.5 M fenil asetattan yararlanılarak ölçüm yapılmadan hemen önce 0.1 mM Tris-HCl (pH:8) tampon çözeltisi ile hazırlanır.

2 mM Kalsiyum Klorür Çözeltisi

0.1 mM Tris-HCl tamponundan yararlanılarak 2 mM CaCl₂ çözeltisi hazırlanır.

Deneyin Yapılışı

Serumlar 1/40 oranında distile su ile dilüe edilir.

Kör, örnek ve standart tüpleri iyice karıştırılır, 25°C sıcaklıktaki su banyosunda 10 dakika enzimatik reaksiyona sokulur. Daha sonra spektrofotometrede 270 nm'de ölçümleri yapılır.

Tablo V: Serum ARE aktivitesi ölçümü

	Kör	Örnek	Standart
Reaksiyon çözeltilisi	1500 µL	1500 µL	1500 µL
Serum	-----	10µL	-----
Standart çözeltilisi	-----	-----	10µL
Distile su	10µL	-----	-----

4.4. İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen veriler ortalama±standart sapma olarak gösterildi. İstatistiklerin hazırlanmasında SPSS 11.00 bilgisayar paket istatistik programı (SPSS Inc., Software Chicago, IL, USA) kullanıldı. Bağımsız gruplarda, gruplar arası fark Student t ve Mann-Whitney U testleri ile değerlendirildi. Gruplar arası bağıntı analizi Pearson korelasyon-regresyon analiz yöntemi kullanılarak değerlendirildi. $p < 0,05$ değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

5. BULGULAR

Çalışmaya alınan AK ve kontrol grubuna ait bireylerin yaş, cinsiyet, sigara kullanma durumu, serum total kolesterol, serum LDL kolesterol, HDL kolesterol, VLDL kolesterol, trigliserid, PON1, ARE ve PON1/ARE seviyeleri ortalama ve standart sapmaları hesaplanarak gruplar arasında bu değerler karşılaştırıldı (Tablo VI).

Tablo VI: Kontrol ve akciğer kanseri grubunun demografik bulguları, serum lipid parametreleri, PON1 ve ARE seviyeleri

	Kontrol grubu (n=39)	Akciğer kanseri grubu (n=39)	p
Yaş (yıl)	64,05±8,6	64,4±8,9	0,861
Cinsiyet (kadın/erkek)	1/38	1/38	1
Sigara içimi varlığı (%)	64,1	89,7	0,014
Total kolesterol (mg/dl)	193,2±48,5	165,1±50	0,014
LDL kolesterol (mg/dl)	128,8±35,3	116±42,4	0,152
HDL kolesterol (mg/dl)	41,7±10,9	34,9±20,8	0,074
VLDL kolesterol (mg/dl)	32±16,3	29,3±11,5	0,393
Trigliserid (mg/dl)	160,8±81,7	141,3±53,9	0,219
PON1 (U/mL)	395,8±116,6	252,7±104,4	0,001
ARE (U/L)	167,7±45	137,4±57,6	0,018
PON1/ARE	2,4±0,6	2,0±0,9	0,008

PON1: Paraoksonaz, ARE: Arilesteraz

5.1. Serum Lipidleri

Total Kolesterol: Serum total kolesterol seviyesi kontrol grubunda 193,2±48,5 mg/dl, AK grubunda 165,1±50 mg/dl idi. AK grubunun total kolesterol seviyesi kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu ($p=0,014$) (Tablo VI).

Kanser alt tipi: Serum total kolesterol seviyesi, küçük hücreli akciğer kanseri (KHAK) grubunda 158,9±30,7 mg/dl, küçük hücreli olmayan akciğer kanseri (KHOAK) grubunda 166,9±54,8 mg/dl idi. KHAK grubunun total kolesterol seviyesi KHOAK grubuna göre istatistiki olarak anlamsız düşük bulundu ($p>0,05$) (Tablo VII).

Metastaz varlığı: Serum total kolesterol seviyesi, metastazı olan AK grubunda metastaz olmayan gruba göre anlamsız olarak düşük bulundu ($p>0,05$) (Tablo IX).

Sigara kullanımı: Serum total kolesterol seviyesi, kontrol grubunda sigara kullananlarda kullanmayanlara göre anlamsız olarak düşük bulundu ($p>0,05$). Sigara kullanan AK grubunun serum total kolesterol seviyeleri kullanmayan gruba göre anlamsız olarak yüksek bulundu ($p>0,05$) (Tablo X).

LDL kolesterol: Serum LDL kolesterol seviyesi kontrol grubunda $128,8\pm35,3$ mg/dl, AK grubunda $116\pm42,4$ mg/dl idi. AK grubunun LDL kolesterol seviyesi kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamsız düşük bulundu ($p>0,05$) (Tablo VI).

Kanser alt tipi: Serum LDL kolesterol seviyesi, KHAK grubunda $115,4\pm26,3$ mg/dl, KHOAK grubunda $116,2\pm46,5$ idi. KHAK grubunun LDL kolesterol seviyesi KHOAK grubuna göre istatistiki olarak anlamsız düşük bulundu ($p>0,05$) (Tablo VII).

Metastaz varlığı: Serum LDL kolesterol seviyesi, metastazı olan AK grubunda metastaz olmayan gruba göre istatistiki olarak anlamsız yüksek bulundu ($p>0,05$) (Tablo IX).

Sigara kullanımı: Serum LDL kolesterol seviyesi, kontrol grubunda sigara kullananlarda kullanmayan gruba göre istatistiki olarak anlamsız düşük bulundu ($p>0,05$) (Tablo X). Serum LDL kolesterol seviyesi AK grubunda sigara kullananlarda kullanmayan gruba göre istatistiki olarak anlamsız yüksek bulundu ($p>0,05$) (Tablo X).

HDL kolesterol: Serum HDL kolesterol seviyesi kontrol grubunda $41,7\pm10,9$ mg/dl, AK grubunda $34,9\pm20,8$ mg/dl idi. AK grubunun HDL kolesterol seviyesi kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamsız düşük bulundu ($p>0,05$) (Tablo VI).

Kanser alt tipi: Serum HDL kolesterol seviyesi KHAK grubunda $30,3\pm4,3$ mg/dl, KHOAK grubunda $32,3\pm9,8$ mg/dl idi. KHAK grubunun HDL kolesterol seviyesi KHOAK grubuna göre istatistiki olarak anlamsız düşük bulundu ($p>0,05$) (Tablo VII).

Metastaz varlığı: Metastazı olan AK grubunda metastaz olmayan gruba göre serum HDL kolesterol seviyesi anlamsız olarak düşük bulundu ($p>0,05$) (Tablo IX).

Sigara kullanımı: Serum HDL seviyesi kontrol grubunda sigara kullananlarda kullanmayan gruba göre anlamsız olarak yüksek bulundu ($p>0,05$) (Tablo X). AK grubunda sigara kullananlarda serum HDL kolesterol seviyesi kullanmayan gruba göre istatistiki olarak anlamsız yüksek bulundu ($p>0,05$) (Tablo X).

Serum HDL kolesterol seviyesi, sigaradan bağımsız olarak sigara içmeyenler grup dışı bırakıldığında sigara içen AK grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu ($p<0,001$) (Tablo XI).

VLDL Kolesterol: Serum VLDL kolesterol seviyesi kontrol grubunda $32\pm 16,3$ mg/dl, AK grubunda $29,3\pm 11,5$ mg/dl idi. Serum VLDL kolesterol seviyesi AK grubunda kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamsız düşük bulundu ($p>0,05$) (Tablo VI).

Kanser alt tipi: Serum VLDL kolesterol seviyesi KHAK grubunda $33,9\pm 15$ mg/dl, KHOAK grubunda $27,9\pm 10$ mg/dl idi. KHAK grubunun VLDL kolesterol seviyesi KHOAK grubuna göre istatistiki olarak anlamsız yüksek bulundu ($p>0,05$) (Tablo VII).

Metastaz varlığı: Metastazı olan AK grubunda metastaz olmayan gruba göre serum VLDL kolesterol seviyesi istatistiki olarak anlamsız düşük bulundu ($p>0,05$) (Tablo IX).

Sigara kullanımı: Sigara kullanan kontrol grubunda kullanmayan gruba göre serum VLDL kolesterol seviyesi istatistiki olarak anlamsız düşük bulundu ($p>0,05$) (Tablo X). Sigara kullanan AK grubunun serum VLDL kolesterol seviyesi kullanmayan gruba göre istatistiki olarak anlamsız yüksek bulundu ($p>0,05$) (Tablo X).

Trigliserid: Serum trigliserid seviyesi kontrol grubunda $160,8\pm 81,7$ mg/dl, AK grubunda $141,3\pm 53,9$ mg/dl idi. Serum trigliserid seviyesi AK grubunda kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamsız düşük bulundu ($p>0,05$) (Tablo VI).

Kanser alt tipi: Serum trigliserid seviyesi KHAK grubunda $153,7 \pm 68,8$ mg/dl, KHOAK grubunda $136 \pm 48,8$ mg/dl idi. Serum trigliserid seviyesi KHAK grubunda KHOAK grubuna göre istatistiki olarak anlamsız yüksek bulundu ($p > 0,05$) (Tablo VII).

Metastaz varlığı: Serum trigliserid seviyesi metastazı olan AK grubunda metastaz olmayan gruba göre anlamsız olarak düşük bulundu ($p > 0,05$) (Tablo IX).

Sigara kullanımı: Serum trigliserid seviyesi sigara kullanan kontrol grubunda kullanmayan gruba göre istatistiki olarak anlamsız düşük bulundu ($p > 0,05$) (Tablo X). Sigara kullanan AK grubunun serum trigliserid seviyeleri kullanmayan gruba göre istatistiki olarak anlamsız yüksek bulundu ($p > 0,05$) (Tablo X).

5.2. Serum PON1 Seviyesi

Serum PON1 seviyesi kontrol grubunda $395,8 \pm 116,6$ U/mL, AK grubunda $252,7 \pm 104,4$ U/mL idi. AK grubunun PON1 seviyesi kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu ($p < 0,001$) (Tablo VI, Şekil 3).

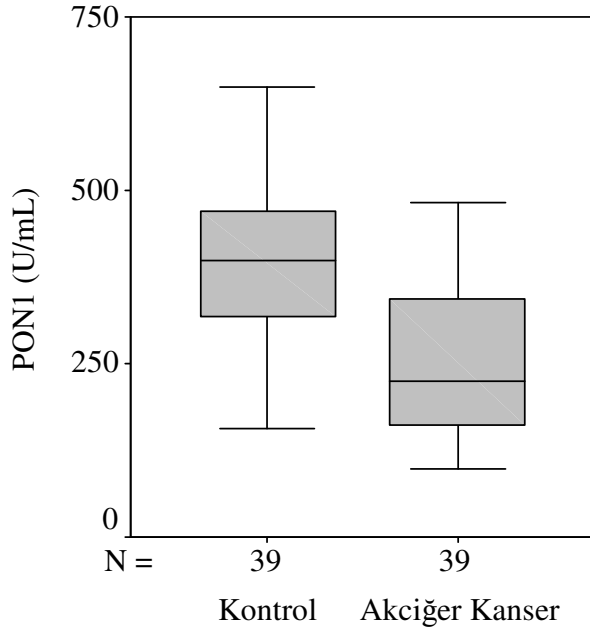
Kanser alt tipi: Serum PON1 seviyesi KHAK grubunda $233,9 \pm 70,5$ U/mL, KHOAK grubunda $258,3 \pm 112,9$ U/mL idi. KHAK grubunun serum PON1 seviyesi KHOAK grubuna göre istatistiki olarak anlamsız düşük bulundu ($p > 0,05$) (Tablo VII, Şekil 4).

Yaş: AK tanısı alan 60 yaş üstü grubun serum PON1 seviyesi $240,9 \pm 100,8$ U/mL, 60 yaş altı grupta ise $240,7 \pm 110,4$ U/mL idi. 60 yaş altı grubun PON1 seviyesi 60 yaş üstü gruba göre istatistiki olarak anlamsız düşük bulundu ($p > 0,05$) (Tablo VIII).

Metastaz varlığı: Metastazı olan AK grubunda metastaz olmayan gruba göre serum PON1 seviyesi istatistiki olarak anlamsız yüksek bulundu ($p > 0,05$) (Tablo IX).

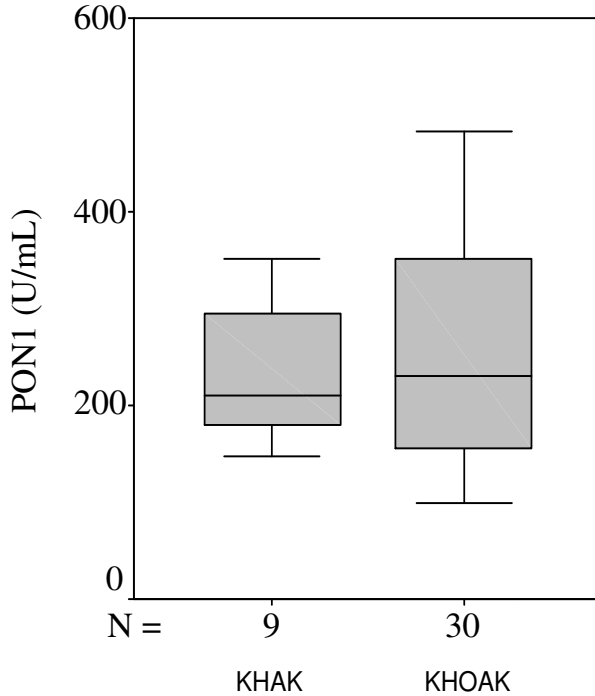
Sigara kullanımı: Serum PON1 seviyesi sigara kullanan kontrol grubunda kullanmayan gruba göre anlamsız olarak yüksek bulundu ($p > 0,05$) (Tablo X). Sigara kullanan AK grubunda serum PON1 seviyeleri kullanmayan gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p = 0,048$) (Tablo X).

Sigaradan bağımsız olarak sigara içmeyenler grup dışı bırakıldığında sigara içen AK grubunda kontrol grubuna göre PON1 seviyesi anlamlı olarak düşük bulundu ($p<0,001$) (Tablo XI).



Şekil 3. Akciğer kanseri grubunda kontrol grubuna göre serum PON1 seviyesi anlamlı olarak düşüktü ($p<0,001$).

PON1: Paraoksonaz.



Şekil 4. Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri grubuna göre küçük hücreli akciğer kanseri grubunda serum PON1 seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan azalma vardı ($p>0,05$).

PON1: Paraoksonaz, KHAK: Küçük hücreli akciğer kanseri, KHOAK: Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri

5.3. Serum ARE Seviyesi

Serum ARE seviyesi kontrol grubunda $167,7\pm45$ U/L, AK grubunda $137,4\pm57,6$ U/L idi. Serum ARE seviyesi AK grubunda kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamlı düşük bulundu ($p=0,018$) (Tablo VI, Şekil 5).

Kanser alt tipi: Serum ARE seviyesi KHAK grubunda $163\pm69,5$ U/L, KHOAK grubunda $129,7\pm52,4$ U/L idi. KHOAK grubunun serum ARE seviyesi KHAK grubuna göre istatistiki olarak anlamsız düşük bulundu ($p>0,05$) (Tablo VII, Şekil 6).

Yaş: AK tanısı alan 60 yaş üstü grubun serum ARE seviyesi $135,9\pm56,6$ U/L, 60 yaş altı grupta ise $139,6\pm60,9$ U/L idi. 60 yaş üstü grubun serum ARE seviyesi 60 yaş altı gruba göre istatistiki olarak anlamsız düşük bulundu ($p>0,05$) (Tablo VIII).

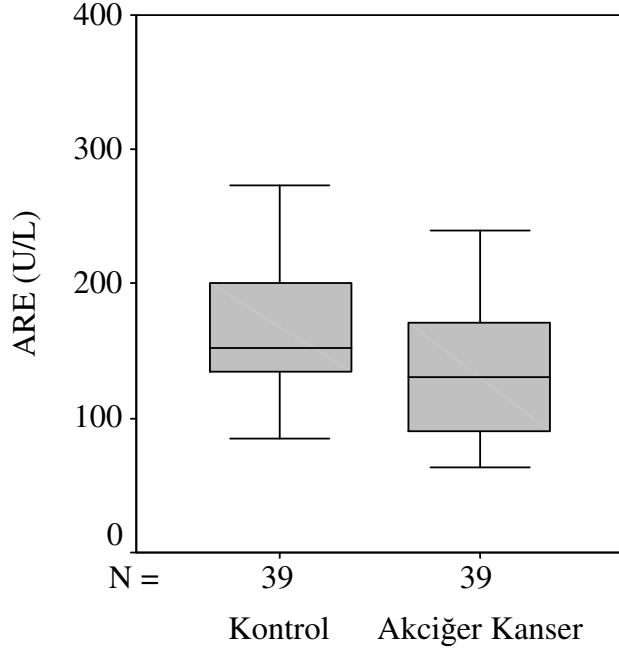
Metastaz varlığı: Serum ARE seviyesi, metastazı olan AK grubunda metastaz olmayan gruba göre istatistiki olarak anlamsız yüksek bulundu ($p>0,05$) (Tablo IX).

Sigara kullanımı: Serum ARE seviyesi, kontrol grubunda sigara kullananlarda kullanmayan gruba göre anlamsız olarak yüksek bulundu ($p>0,05$) (Tablo X). Serum ARE seviyeleri, sigara kullanan AK grubunda kullanmayan gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0,017$) (Tablo X). Sigaradan bağımsız olarak sigara içmeyenler grup dışı bırakıldığında sigara içen AK grubunda kontrol grubuna göre serum ARE seviyesi anlamlı olarak düşük bulundu ($p=0,025$) (Tablo XI).

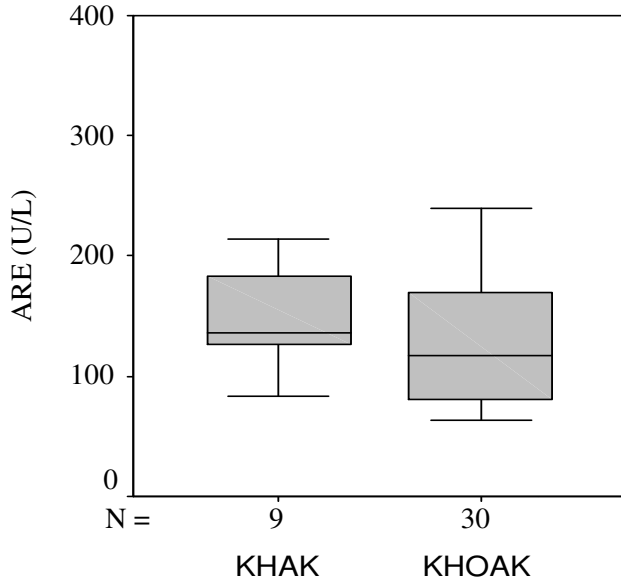
5.4. Serum PON1/ARE Seviyesi

Serum PON1/ARE seviyesi kontrol grubunda $2,4\pm0,6$, AK grubunda $2,0\pm0,9$ idi. AK grubunun PON1/ARE seviyesi kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu ($p=0,008$) (Tablo VI, Şekil 7).

Kanser alt tipi: KHAK grubunda serum PON1/ARE seviyesi $1,6\pm0,9$, KHOAK grubunda $2,1\pm0,9$ idi. KHOAK grubunun serum PON1/ARE seviyesi KHAK grubuna göre anlamsız olarak yüksek bulundu ($p>0,05$) (Tablo VII, Şekil 7).



Şekil 5: Serum ARE seviyesi akciğer kanseri grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşüktü ($p=0,018$). ARE: Arilesteraz.



Şekil 6: Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri grubuna göre küçük hücreli akciğer kanseri grubunda ARE seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan artma vardı ($p>0,05$). ARE: Arilesteraz, KHAK: Küçük Hücreli Akciğer Kanseri, KHOAK: Küçük Hücreli Olmayan Akciğer Kanseri.

Yaş: AK tanısı alan 60 yaş üstü grubun serum PON1/ARE seviyesi $1,9 \pm 1,0$, 60 yaş altı grupta ise $2,1 \pm 0,7$ idi. 60 yaş üstü grubun serum PON1/ARE seviyesi 60 yaş altı gruba göre anlamsız olarak düşük bulundu ($p > 0,05$) (Tablo VIII).

Metastaz varlığı: Metastazı olan AK grubunda metastaz olmayan gruba göre serum PON1/ARE seviyesi anlamsız olarak düşük bulundu ($p > 0,05$) (Tablo IX).

Sigara kullanımı: Sigara kullanan kontrol grubunda serum PON1/ARE seviyesi sigara kullanmayan gruba göre anlamsız olarak düşük bulundu ($p > 0,05$) (Tablo X). Sigara kullanan AK grubunun serum PON1/ARE seviyesi sigara kullanmayan gruba göre anlamsız olarak yüksek bulundu ($p > 0,05$) (Tablo X). Sigaradan bağımsız olarak sigara içmeyenler grup dışı bırakıldığında sigara içen AK grubunda kontrol grubuna göre serum PON1/ARE seviyesi anlamsız olarak düşük bulundu ($p > 0,05$) (Tablo XI).

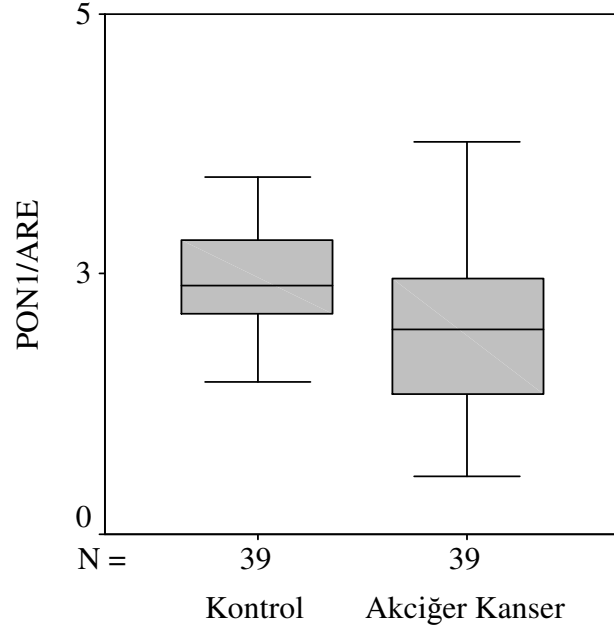
5.5. PON1 Fenotiplemesi

Serum PON1/ARE aktivite oranlarına göre PON1 3 fenotipik dağılım göstermekteydi. Kontrol ve AK gruplarındaki bireylerin PON1 fenotiplerine ait dağılımları Tablo XII'de görülmektedir.

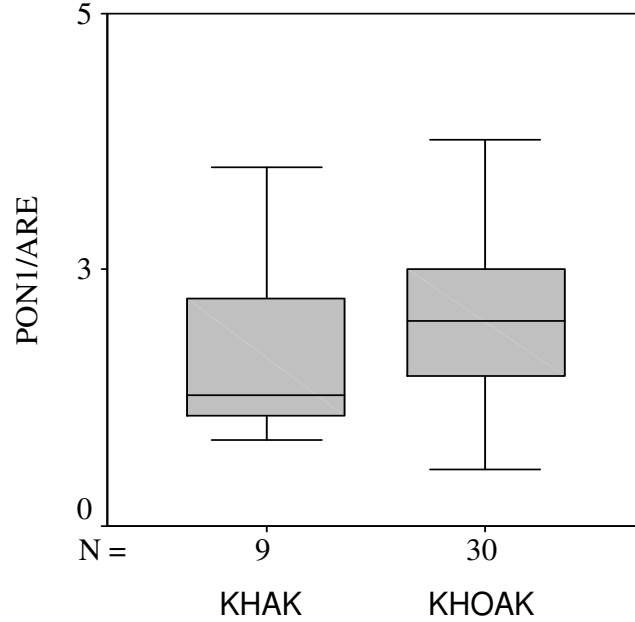
Kontrol ve AK gruplarında yapılan fenotipleme sonucuna göre düşük ve yüksek aktiviteli fenotipli bireylerin PON1 ortalamaları Tablo XII'de gösterilmiştir.

5.6. Serum PON1/HDL Kolesterol Oranı

Serum PON1 seviyesindeki azalmanın azalmış HDL seviyesi ile ilgili olup olmadığını değerlendirmek amacıyla PON1/HDL oranı çalışıldı. Kontrol grubu PON1/HDL oranı $9,8 \pm 2,9$ iken, AK grubunda $8,1 \pm 2,9$ idi. AK grubunda PON1/HDL oranı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşüktü ($p = 0,009$).



Şekil 7. Serum PON1/ARE seviyesi akciğer kanseri grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşüktü ($p=0,008$). PON1: Paraoksonaz, ARE: Arilesteraz.



Şekil 8. Serum PON1/ARE seviyesi küçük hücreli akciğer kanseri grubunda küçük hücreli olmayan akciğer kanseri grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan azalma vardı ($p>0,05$). PON1: Paraoksonaz, ARE: Arilesteraz, KHAK: Küçük hücreli akciğer kanseri, KHOAK: Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri.

Tablo VII: Küçük hücreli akciğer kanseri ve küçük hücreli olmayan akciğer kanseri grubu serum lipid parametreleri ve PON1, ARE seviyeleri

	KHAK (n=9)	KHOAK (n=30)	p
Yaş (yıl)	63,6±6,6	64,6±9,6	0,75
Cinsiyet (kadın/erkek)	0/9	1/29	1
Sigara içimi varlığı (%)	100	86,7	0,55
Sigara içimi(Paket/yıl)	83,9±29,7	64,5±42,5	0,18
Total kolesterol (mg/dl)	158,9±30,7	166,9±54,8	0,96
LDL kolesterol (mg/dl)	115,4±26,3	116,2±46,5	0,46
HDL kolesterol (mg/dl)	30,3±4,3	32,3±9,8	0,56
VLDL kolesterol (mg/dl)	33,9±15	27,9±10,1	0,28
Trigliserid (mg/dl)	153,7±68,8	136±48,8	0,31
PON1 (U/mL)	233,9±70,5	258,3±112,9	0,54
ARE (U/L)	163±69,5	129,7±52,4	0,22
PON1/ARE	1,6±0,9	2,13±0,9	0,17

PON1: Paraoksonaz, ARE: Arilesteraz

Tablo VIII: Akciğer kanseri grubunda 60 yaş altında ve üstünde olanlarda serum PON1, ARE ve PON1/ARE seviyeleri

	60 yaş altı (n=16)	60 yaş üstü (n=23)	P
PON1 (U/mL)	240,7±110,4	240,9±100,8	0,43
ARE(U/L)	139,6±60,9	135,9±56,6	0,98
PON1/ARE	2,1±0,7	1,9±1,0	0,35

PON1: Paraoksonaz, ARE: Arilesteraz

Tablo IX: Akciğer kanseri grubunda metastaz varlığına göre serum lipid parametreleri ve PON1, ARE seviyeleri

	Metastaz yok (n=19)	Metastaz var (n=20)	p
Total kolesterol (mg/dl)	169,7±57,6	160,7±42,7	0,66
LDL kolesterol (mg/dl)	115,3±45,8	116,6±40,1	0,94
HDL kolesterol (mg/dl)	38,8±28,5	31,1±8,1	0,62
VLDL kolesterol (mg/dl)	31,2±11,4	25,6±11,7	0,30
Trigliserid (mg/dl)	149,9±55,7	133,2±52,4	0,41
PON1 (U/mL)	245,6±115,7	259,5±94,9	0,70
ARE (U/L)	120±47	153,9±62,9	0,09
PON1/ARE	2,2±1,0	1,8±0,8	0,27

PON1: Paraoksonaz, ARE: Arilesteraz

Tablo X: Akciğer kanseri ve kontrol grubunda sigara kullanım öyküsüne göre lipid parametreleri ve PON1, ARE seviyeleri

Sigara kullanımı	Kontrol (n=39)			Akciğer kanseri (n=39)		
	Yok(n=14)	Var(n=25)	p	Yok(n=4)	Var(n=35)	p
Total K (mg/dl)	197,1±50,2	190,9±48,4	0,78	149,7±34,1	166,8±51,6	0,51
LDL K (mg/dl)	131,5±35,6	127,3±35,8	0,76	104±33,7	117,4±43,5	0,67
HDL K(mg/dl)	40,1±10,9	42,6±11,1	0,49	25,2±8,8	32,6±8,6	0,11
VLDL K (mg/dl)	33,5±20,1	31,3±14,1	0,89	24,8±11,3	29,8±11,6	0,31
TG (mg/dl)	168,3±100,5	156,6±71,1	0,82	124,5±57,6	143,2±54,1	0,38
PON1 (U/mL)	365,1±103,5	412,9±122	0,20	155,7±14,1	263,8±104	0,04
ARE(U/L)	154,2±35,2	175,3±48,7	0,22	83,15±20,5	143,6,±57,3	0,01
PON1/ARE	2,4±0,7	2,4±0,6	0,98	1,9±0,4	2,03±0,9	0,76

K: Kolesterol, TG:Trigliserid, PON1: Paraoksonaz, ARE: Arilesteraz

Tablo XI: Akciğer kanseri ve kontrol grubunda sigaradan bağımsız olarak sigara içenlerde serum PON1, ARE, PON1/ARE, HDL kolesterol ve PON1/HDL kolesterol seviyeleri

	Kontrol grubu	Akciğer kanseri grubu	p
	(n=25)	(n=35)	
PON1 (U/mL)	412,9±121,9	263,8±104,5	0,001
ARE (U/L)	175,3±48,7	143,6±57,3	0,025
PON1/ARE	2,4±0,6	2,0±0,9	0,059
HDL kolesterol (mg/dl)	42,6±11,1	32,6±8,6	0,001
PON1/HDL kolesterol	10±3,2	8,3±3,3	0,047

PON1: Paraoksonaz, ARE: Arilesteraz

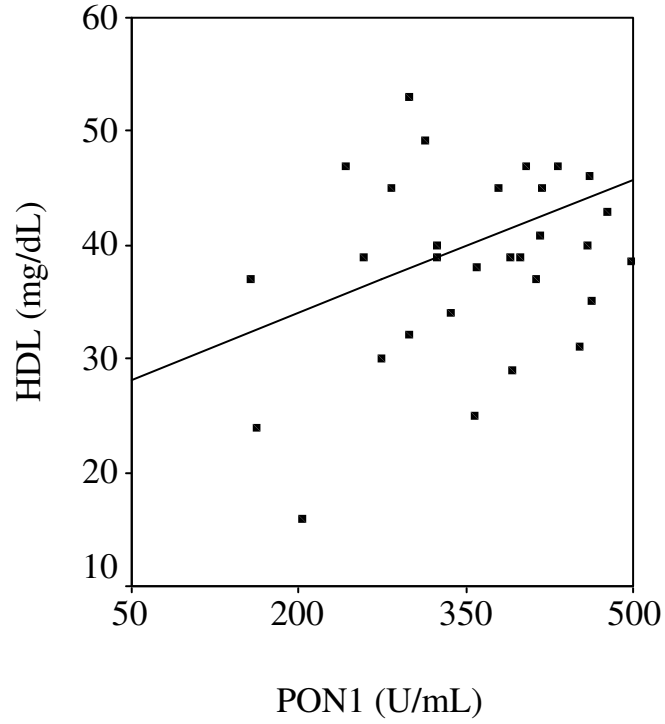
Tablo XII: Kontrol ve akciğer kanseri gruplarında PON1 fenotiplerinin dağılımları ve fenotiplere göre PON1 seviyeleri

	Kontrol (n=39)			Akciğer kanseri (n=39)		
	N	%	PON1(U/mL)	n	%	PON1(u/mL)
Fenotip AA	1	3	257,8	14	36	178,9
Fenotip AB	14	35	315,3	20	51	294,3
Fenotip BB	24	62	448	5	13	292,2

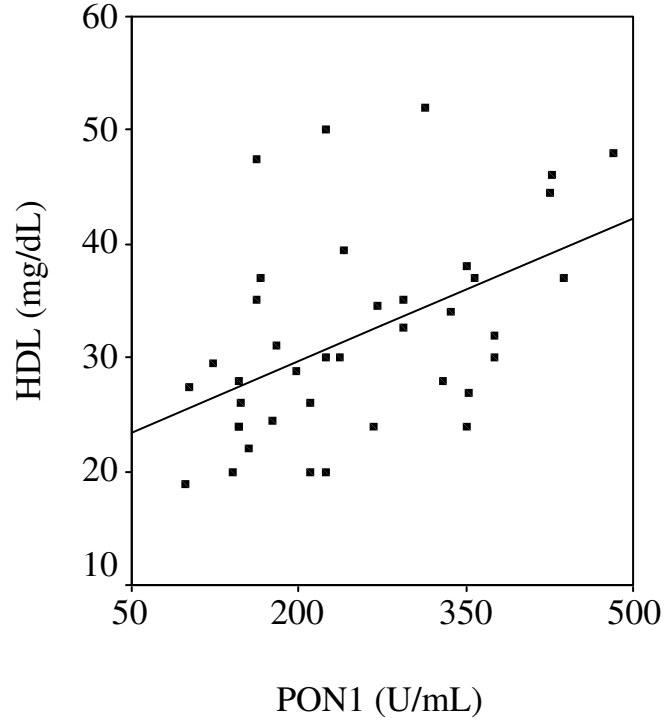
PON1: Paraoksonaz

5.7. Korelasyon Bulguları

Pearson korelasyon analizine göre kontrol grubu ve AK grubunda serum PON1 ile HDL kolesterol arasında pozitif korelasyon vardı. Kontrol grubunda serum HDL seviyesi ile serum PON1 seviyesi arasında ($r=0,415$, $p=0,009$) ve AK grubunda serum HDL seviyesi ile serum PON1 seviyesi arasında ($r=0,496$, $p=0,001$) tespit edildi (Şekil 9, Şekil 10).



Şekil 9: Kontrol grubunda PON1 ile HDL kolesterol arasındaki pozitif korelasyon



Şekil 10: Akciğer kanseri grubunda PON1 ile HDL kolesterol arasındaki pozitif korelasyon

6. TARTIŞMA

Serbest oksijen radikalleri bir veya birden çok çiftleşmemiş elektron taşıyan kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin atom veya moleküllerdir. [12]. Süperoksit anyonu, hidroksil radikalleri ve hidrojen peroksit gibi SOR üretimi sonucunda DNA ve protein hasarlanması ve lipid peroksidasyonuna bağlı doku hasarlanması oluşmaktadır. SOR'nin üretimi ile antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin SOR üretimi lehine artması ile meydana gelen oksidatif stres, katarakt, ateroskleroz, neoplastik hastalıklar, diyabet, diyabetik retinopati, gastrointestinal sistemin kronik inflamatuvar hastalıkları, cilt yaşlanması, Alzheimer hastalığı ve diğer nörolojik bozuklukları kapsayan bir takım rahatsızlıkların patofizyolojisi ile ilişkilidir [13, 20, 110].

Deneysel ve epidemiyolojik çalışmalar göstermiştir ki, karsinogenezde SOR rol oynamaktadır. SOR özellikle metal iyonlarının varlığında hücrede lipid, protein ve DNA gibi makromoleküllerle reaksiyona girerek oksidatif hasarlanmaya neden olmaktadır. DNA etkilenmesi ile hücrede mutasyon ve ölüm gerçekleşmektedir. DNA hasarının artması karsinogenezise neden olmaktadır. Hidroksil radikali, deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girerek değişikliklere yol açmaktadır. Aktive olan nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit, membranlardan kolayca geçip hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hücre ölümüne yol açabilir. Bu nedenle DNA, SOR'den çok kolay etkilenen önemli bir hedefdir [111, 112].

Serbest radikaller biyolojik sistemlerde sürekli olarak üretilmektedir. Bunların etkileri Vitamin C, glutatyon, Vitamin E, glutatyon peroksidaz, katalaz, süperoksit dismutaz gibi enzimatik ve nonenzimatik antioksidan savunma sistemleri ile ortadan kaldırılmaktadır. Antioksidan savunma sisteminde ve onarım kapasitesinde azalma sonucu SOR üretimi artmakta ve buna bağlı olarak doku hasarı meydana gelmektedir [111].

Akciğer kanserli hastaların kanserli dokularında ve normal akciğer dokularında antioksidan katalaz, süperoksit dismutaz enzimleri karşılaştırılmış ve kanserli dokularda normal dokuya göre her iki enzimde de istatistiksel olarak anlamlı bir azalma bildirilmiştir. Bu antioksidan enzimlerin düşük seviyeleri DNA, hücre membranları ve diğer vital hücresel komponentlerde subsellüler yapıda bozukluklarla sonuçlanan SOR artmasına neden olmaktadır [113]. İnsan akciğer kanserinde kanserli dokularda SOD, katalaz ve glutatyon peroksidaz enziminin düşük olduğu ve kanserli dokulardaki bu

antioksidanların düşüklüğüyle DNA lezyonlarının artması arasında bir ilişki tespit edilmiş ve kanser nedeninin serbest radikallerle ilişkili olduğu bildirilmiştir [49]. Akciğer kanserli hastalarla normal sağlıklı bireylerin karşılaştırıldığı diğer bir çalışmada ise kanserli hastalarda eritrosit Cu ve ZnSOD seviyelerinin sağlıklı bireylerden düşük olduğu gösterilmiştir [114].

İnsanlarda sentez ve sekresyonunun karaciğerde olduğu düşünülen PON1 inektisit olan parationun aktif metaboliti paraoksonu hidroliz etme yeteneğine sahip serum esterazıdır. İnsan serum PON1'ı fiziksel olarak HDL ile bağlantılıdır [76, 77]. Saflaştırılmış PON1, yaklaşık 43 kDa molekül ağırlığı olan glikolize bir proteindir [79, 80]. PON1'in fizyolojik rolü tam olarak bilinmemekle birlikte lipid peroksitlerini hidrolize ederek LDL'yi oksidasyondan, toksik organofosfatlar gibi toksik ajanların oluşturabileceği hücrel hasara karşı önemli koruyuculuk görevi yapar [77, 78]. PON1 karaciğer mikrozomlarında antioksidan sistemde önemli rolü olan bir enzimdir [115].

Paraoksonaz, polimorfizm göstermeyen ARE aktivitesine sahiptir. ARE aktivitesi PON1 aktivitesindeki değişikliklerden bağımsız olarak asıl protein konsantrasyonunun göstergesidir [72]. Sodyum klorürün artan konsantrasyonlarında PON1 aktivitesi uyarılırken, ARE aktivitesi baskılanmaktadır [116]. PON1 fenotiplemesi, sodyum klorür ile stimüle olmuş PON1 seviyesinin ARE seviyesine oranlanmasıyla (PON1/ARE) tespit edilmektedir. Buna göre PON1 AA fenotipi düşük aktiviteyle BB fenotipi yüksek aktiviteyle AB ise intermediate aktiviteyle ilişkilidir [94].

Kalsiyum esteraz bağımlı PON1, LDL oksidasyonu üzerinden HDL ile antioksidan özelliğe sahip olduğu bilinmektedir. Birçok hastalıklarda serum PON1 seviyeleri değişmektedir [11, 105, 106]. Serum PON1 seviyesinin azaldığı bu hasta gruplarında oksidatif stres artmaktadır [90, 104]. Bununla birlikte serum PON1 seviyesi ile kanser arasındaki ilişki hala tam olarak bilinmemektedir. Ancak Akcay ve arkadaşlarının yaptıkları pankreas ve mide kanserli hastaları kapsayan iki farklı çalışmada PON1 ile plazma lipoproteinleri arasındaki ilişki incelenmiştir. Bu çalışmaların ilkinde 20 pankreas kanseri tanısını alan hastalar ile aynı yaş ve cinsiyette 20 sağlıklı kontrol grubunda VLDL, LDL, HDL, PON1 seviyeleri ölçülmüş. Pankreas kanserli hastalarda HDL ve PON1 seviyelerinin kontrol grubundan düşük olduğu, LDL ve VLDL seviyelerinin kontrol grubundan farklı olmadığı gösterilmiştir. Diğer çalışmada mide kanseri tanısını alan hastalar ile kontrol grubu karşılaştırıldığında aynı sonuçlar elde edilmiştir. Bu iki çalışmaya göre pankreas ve mide kanserli hastalarda

serum PON1 ve HDL seviyeleri arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir. İki çalışmanın sonucu olarak pankreas ve mide kanserli hastalar ile sağlıklı kontrol grubu karşılaştırıldığında kanserli hastalarda HDL ve PON1 seviyelerinin daha düşük olduğu görülmüştür [107, 108]. Kanserli hastaları içeren bu iki çalışmada da PON1 fenotiplendirmesi ile ilgili çalışma yapılmamıştır.

Yaptığımız çalışmaya göre bulgularımız Akcay ve arkadaşları [107, 108] tarafından yapılan araştırmanın sonuçları ile paralellik göstermektedir. Çalışmamızda akciğer kanserli hastalarda PON1 seviyesi ($p<0,001$) ve ARE seviyesi ($p=0,018$) kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak düşüktü. Akciğer kanserli hastalarda serum total kolesterol, HDL, VLDL, LDL kolesterol ve trigliserit seviyeleri kontrol grubuna göre düşük bulundu. Ancak istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0,05$).

Çalışmamızdaki serum PON1 seviyesindeki azalmanın azalmış HDL seviyesi ile ilgili olup olmadığını değerlendirmek amacıyla PON1/HDL oranı çalışıldı. Kanserli grupta PON1/HDL kolesterol oranı kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşüktü ($p=0,009$). Ayrıca akciğer kanserli hastalarla sağlıklı kontrol grubu karşılaştırıldığında PON1 seviyesi serum HDL seviyesiyle pozitif koreleydi. Pearson korelasyon analizine göre kontrol grubunda serum HDL seviyesi ile serum PON1 seviyesi arasında ($r=0,415$, $p=0,009$) ve kanser grubunda serum HDL seviyesi ile serum PON1 seviyesi arasında ($r=0,496$, $p=0,001$) pozitif korelasyon bulundu.

Karakaya ve arkadaşlarının [117] Türk popülasyonunu içeren çalışmasına göre PON1 fenotiplendirilmesi yapılarak tüm bireylere ait PON1/ARE aktivitelerine göre üç fenotipin varlığı ortaya konulmuştur. Yaptığımız bu çalışmada da kanserli ve kontrol grubunu oluşturan bireylerin PON1/ARE aktivite oranlarına göre PON1 fenotiplemesini yaptık ve enzim aktivitesi üç fenotip olarak belirlendi. AK grubunda PON1'in düşük aktiviteli AA fenotipini taşıyan bireyler kontrol grubuna göre daha fazlaydı. AK grubunda 39 vakadan 14 kişi düşük aktiviteli AA fenotipi olup vakaların % 36'sını, kontrol grubunda ise 1 kişi olup vakaların % 3'ünü oluşturmaktaydı. Ayrıca kontrol grubunda PON1'in yüksek aktiviteli BB fenotipini taşıyan bireyler kanserli gruba göre daha fazla idi. Kontrol grubunda vakaların % 62'si (20 kişi), kanserli grupta vakaların % 13'ü (5 kişi) BB fenotipi yüksek aktiviteli bireylerdi. İntermediate aktiviteli fenotip AB bireyler kanserli grubun % 51'ini (20 kişi), kontrol grubunun ise % 35'ini (14 kişi) oluşturmaktaydı. Bu sonuçlara göre çalışmadaki akciğer kanserli olgular çoğunlukla PON1'in düşük aktiviteli AA fenotipini taşıyan bireylerden oluşmaktaydı. AK grubunda düşük aktiviteli fenotip AA, intermediate aktiviteli fenotip

AB ve yüksek aktiviteli fenotip BB bireylerin serum PON1 seviyeleri kontrol grubundaki aynı fenotipi taşıyan bireylerin serum PON1 seviyelerine göre daha düşüktü.

Aşırı sigara içimi antioksidan savunma sistemini azaltarak SOR üretimine neden olmadan, oksidatif stresi artırmakta ve lipid peroksidasyonuna neden olmaktadır [118]. Sigara dumanında, oksidatif hasarlanmayı başlatma ve devam ettirme yeteneğine sahip birçok oksidan ve SOR içeren çok sayıda bileşik bulunmaktadır. Ayrıca sigara içimi sonrasında aktive olmuş ve artmış fagositlerin oluşturduğu SOR de oksidatif hasarlanmaya neden olmaktadır. Sigara içimi oksidatif hasarlanmayı başlatmakta ve devam ettirmektedir [119]. Sigaradaki toksik maddelerin PON1'in enzimatik aktivitesini inhibe ettiği gösterilmiştir [120].

Yaptığımız çalışmada akciğer kanserinde sigara içen grupta PON1 ($p=0,048$) ve ARE ($p=0,017$) seviyeleri sigara içmeyen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı yüksekti. Kontrol grubunda da PON1 ve ARE seviyelerini sigara içenlerde istatistiksel anlamlı olmamakla birlikte içmeyenlere göre yüksek olduğunu tespit ettik.

Sigara içmeyenler grup dışı bırakılarak sigaradan bağımsız olarak yapılan istatistiki değerlendirmede sigara içenlerde antioksidan enzimlerde azalma tespit edildi. Araştırmamızda sigara içen akciğer kanserli hastalarda PON1, ARE, PON1/ARE, HDL kolesterol ve PON1/HDL kolesterol seviyeleri ortalamasını sırasıyla $263,8\pm 104,5$ U/mL, $143,6\pm 57,3$ U/L $2,0\pm 0,9$, $32,6\pm 8,6$ mg/dl ve $8,3\pm 3,3$ iken sigara içen kontrol grubunda ise aynı parametreler sırasıyla $412,9\pm 122$ U/mL, $175,3\pm 48,7$ U/L, $2,4\pm 0,6$, $42,6\pm 11,1$ mg/dl ve $10\pm 3,2$ idi. Bu bulgulara göre çalışmaya alınan bireyler arasında sigara içenlerde PON1 ($p<0,001$), ARE ($p<0,05$), HDL kolesterol ($p<0,05$) ve PON1/HDL kolesterol ($p<0,05$) seviyeleri kontrol grubuna göre AK grubunda anlamlı olarak daha düşüktü.

Sonuç olarak AK ve birçok malign hastalıkların patogenezinde SOR oluşturduğu oksidatif hasarın büyük bir rolü vardır. SOR kanser oluşumunu uyaran karsinojenlerin en önemlilerindendir. Artan bu oksidatif hasarlanmaya karşın organizma antioksidanlarla kendini korumaya çalışır. Antioksidanlardan olan PON1 enzimi seviyesi akciğer kanserli vakalarda azalmaktadır.

Bu çalışmada AK tanısı almış hastaların kontrol grubuna göre daha fazla oranda PON1'in düşük aktiviteli AA fenotipine sahip oldukları; serum PON1 aktivitesinin ve PON1/HDL oranının azaldığı saptandı. Bu bulgulara göre AK teşhisinde PON1 aktivitesine göre belirlenen fenotiplendirmenin önemli bir parametre olduğu

düşünülmektedir. Bulgularımızı tam olarak desteklemek için konuyla alakalı farklı çalışmaların yapılması yararlı olabilir.

7. KAYNAKLAR

1. Jemal A, Tiwari RC, Murray T, Ghafoor A, Samuels A, Ward E et al. Cancer statistics, 2004. *CA Cancer J Clin* 2004; 54: 8-29.
2. Connolly JL, Schnitt SJ, Wang HH, Longtine JA, Dvorak A, Dvorak HF. Principles of Cancer Pathology. In Kufe DW, Pollock RE, Weichselbaum RR et al. (eds): *Cancer Medicine*, London: Hamilton-BC Decker 2003; 487-502.
3. Rosenberg B, VanCamp L, Trosko JE, Mansour VH. Platinum compounds: a new class of potent antitumour agents. *Nature* 1969; 222: 385-386.
4. Gutteridge JM. Free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence. *Free Radic Res Commun* 1993; 19: 141-158.
5. Borek C. Free-radical processes in multistage carcinogenesis. *Free Radic Res Commun* 1991; 12-13 Pt 2: 745-750.
6. Khanzode SS, Muddeshwar MG, Khanzode SD, Dakhale GN. Antioxidant enzymes and lipid peroxidation in different stages of breast cancer. *Free Radic Res* 2004; 38: 81-85.
7. Borek C, Ong A, Mason H, Donahue L, Biaglow JE. Selenium and vitamin E inhibit radiogenic and chemically induced transformation in vitro via different mechanisms. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986; 83: 1490-1494.
8. Blatter MC, James RW, Messmer S, Barja F, Pometta D. Identification of a distinct human high-density lipoprotein subspecies defined by a lipoprotein-associated protein, K-45. Identity of K-45 with paraoxonase. *Eur J Biochem* 1993; 211: 871-879.
9. Mackness MI, Arrol S, Durrington PN. Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low-density lipoprotein. *FEBS Lett* 1991; 286: 152-154.
10. Humbert R, Adler DA, Disteché CM, Hassett C, Omiecinski CJ, Furlong CE. The molecular basis of the human serum paraoxonase activity polymorphism. *Nat Genet* 1993; 3: 73-76.
11. Mackness B, Durrington PN, Mackness MI. Human serum paraoxonase. *Gen Pharmacol* 1998; 31: 329-336.

12. McCord JM. Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem* 1993; 26: 351-357.
13. Clarkson PM, Thompson HS. Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 637S-646S.
14. Halliwell B. Oxidative stress, nutrition and health. Experimental strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in humans. *Free Radic Res* 1996; 25: 57-74.
15. Nakazawa H, Genka C, Fujishima M. Pathological aspects of active oxygens/free radicals. *Jpn J Physiol* 1996; 46: 15-32.
16. Betteridge DJ. What is oxidative stress? *Metabolism* 2000; 49: 3-8.
17. Kang DH. Oxidative stress, DNA damage, and breast cancer. *AACN Clin Issues* 2002; 13: 540-549.
18. Jackson AL, Loeb LA. The contribution of endogenous sources of DNA damage to the multiple mutations in cancer. *Mutat Res* 2001; 477: 7-21.
19. Behrend L, Henderson G, Zwacka RM. Reactive oxygen species in oncogenic transformation. *Biochem Soc Trans* 2003; 31: 1441-1444.
20. Brenneisen P, Steinbrenner H, Sies H. Selenium, oxidative stress, and health aspects. *Mol Aspects Med* 2005; 26: 256-267.
21. Schuyer M, Berns EM. Is TP53 dysfunction required for BRCA1-associated carcinogenesis? *Mol Cell Endocrinol* 1999; 155: 143-152.
22. Maki A, Berezsky IK, Fargnoli J, Holbrook NJ, Trump BF. Role of $[Ca^{2+}]_i$ in induction of c-fos, c-jun, and c-myc mRNA in rat PTE after oxidative stress. *Faseb J* 1992; 6: 919-924.
23. Uysal M. Serbest radikaller, lipid peroksitleri ve organizmada prooksidan-antioksidan dengeyi etkileyen kosullar. *Klinik Gelişim* 1998; II: 336-341.

24. Kavas G. Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri. *Türkiye Klinikleri Fizyoloji* 1989; 9: 1-8.
25. Sander CS, Chang H, Hamm F, Elsner P, Thiele JJ. Role of oxidative stress and the antioxidant network in cutaneous carcinogenesis. *Int J Dermatol* 2004; 43: 326-335.
26. Hussain SP, Hofseth LJ, Harris CC. Radical causes of cancer. *Nat Rev Cancer* 2003; 3: 276-285.
27. Gutteridge JM, Halliwell B. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. *Trends Biochem Sci* 1990; 15: 129-135.
28. Spiteller G. Peroxidation of linoleic acid and its relation to aging and age dependent diseases. *Mech Ageing Dev* 2001; 122: 617-657.
29. Slater TF. Free-radical mechanisms in tissue injury. *Biochem J* 1984; 222: 1-15.
30. McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med* 1985; 312: 159-163.
31. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 1982; 47: 412-426.
32. Frank L, Massaro D. Oxygen toxicity. *Am J Med* 1980; 69: 117-126.
33. Niki E, Yoshida Y, Saito Y, Noguchi N. Lipid peroxidation: Mechanisms, inhibition, and biological effects. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 338: 668-76.
34. Halliwell B, Aruoma OI. DNA damage by oxygen-derived species. Its mechanism and measurement in mammalian systems. *FEBS Lett* 1991; 281: 9-19.
35. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet* 1994; 344: 721-724.
36. Dreher D, Junod AF. Role of oxygen free radicals in cancer development. *Eur J Cancer* 1996; 32A: 30-38.

37. Marnett LJ. Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis* 2000; 21: 361-370.
38. Hussain SP, Harris CC. Molecular epidemiology of human cancer: contribution of mutation spectra studies of tumor suppressor genes. *Cancer Res* 1998; 58: 4023-4037.
39. Demple B, Harrison L. Repair of oxidative damage to DNA: enzymology and biology. *Annu Rev Biochem* 1994; 63: 915-948.
40. Mitra S, Boldogh I, Izumi T, Hazra TK. Complexities of the DNA base excision repair pathway for repair of oxidative DNA damage. *Environ Mol Mutagen* 2001; 38: 180-190.
41. Hofseth LJ, Saito S, Hussain SP, Espey MG, Miranda KM, Araki Y et al. Nitric oxide-induced cellular stress and p53 activation in chronic inflammation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 143-148.
42. Hofseth LJ, Hussain SP, Wogan GN, Harris CC. Nitric oxide in cancer and chemoprevention. *Free Radic Biol Med* 2003; 34: 955-968.
43. Allen RG, Tresini M. Oxidative stress and gene regulation. *Free Radic Biol Med* 2000; 28: 463-499.
44. Ray G, Husain SA. Oxidants, antioxidants and carcinogenesis. *Indian J Exp Biol* 2002; 40: 1213-1232.
45. Brown NS, Bicknell R. Hypoxia and oxidative stress in breast cancer. Oxidative stress: its effects on the growth, metastatic potential and response to therapy of breast cancer. *Breast Cancer Res* 2001; 3: 323-327.
46. Özkan A, Fışkın K. Serbest oksijen radikalleri, karsinogenez ve antioksidant enzimler. *Türk Hematoloji Onkoloji Dergisi* 2004; 14: 52-60.
47. Arimoto-Kobayashi S, Ando Y, Horai Y, Okamoto K, Hayatsu H, Lowe JE, Green MH. Mutation, DNA strand cleavage and nitric oxide formation caused by N-nitrosoproline with sunlight: a possible mechanism of UVA carcinogenicity. *Carcinogenesis* 2002; 23: 1537-1540.

48. Kim SY, Kim EJ, Park JW. Control of singlet oxygen-induced oxidative damage in *Escherichia coli*. *J Biochem Mol Biol* 2002; 35: 353-357.
49. Jaruga P, Zastawny TH, Skokowski J, Dizdaroglu M, Olinski R. Oxidative DNA base damage and antioxidant enzyme activities in human lung cancer. *FEBS Lett* 1994; 341: 59-64.
50. Szatrowski TP, Nathan CF. Production of large amounts of hydrogen peroxide by human tumor cells. *Cancer Res* 1991; 51: 794-798.
51. Quintanilla M, Brown K, Ramsden M, Balmain A. Carcinogen-specific mutation and amplification of Ha-ras during mouse skin carcinogenesis. *Nature* 1986; 322: 78-80.
52. Hsie AW, Recio L, Katz DS, Lee CQ, Wagner M, Schenley RL. Evidence for reactive oxygen species inducing mutations in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986; 83: 9616-9620.
53. Hussain SP, Aguilar F, Amstad P, Cerutti P. Oxy-radical induced mutagenesis of hotspot codons 248 and 249 of the human p53 gene. *Oncogene* 1994; 9: 2277-2281.
54. Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B, Harris CC. p53 mutations in human cancers. *Science* 1991; 253: 49-53.
55. Toyokuni S, Okamoto K, Yodoi J, Hiai H. Persistent oxidative stress in cancer. *FEBS Lett* 1995; 358: 1-3.
56. Schiff R, Reddy P, Ahotupa M, Coronado-Heinsohn E, Grim M, Hilsenbeck SG et al. Oxidative stress and AP-1 activity in tamoxifen-resistant breast tumors in vivo. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 1926-1934.
57. Ordman AB, Cleaveland JS, Boutwell RK. 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate promotes tumors prior to initiation in two-stage promotion. *Cancer Lett* 1985; 29: 79-84.
58. Kawanishi S, Hiraku Y, Oikawa S. Mechanism of guanine-specific DNA damage by oxidative stress and its role in carcinogenesis and aging. *Mutat Res* 2001; 488: 65-76.
59. Frenkel K, Gleichauf C. Hydrogen peroxide formation by cells treated with a tumor promoter. *Free Radic Res Commun* 1991; 12-13 Pt 2: 783-794.

60. Lillehaug JR, Berge RK. The tumour promoter 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate increases the activities of some peroxisome-associated enzymes in in vitro cell culture. *Br J Cancer* 1986; 53: 121-127.
61. O'Connell JF, Klein-Szanto AJ, DiGiovanni DM, Fries JW, Slaga TJ. Enhanced malignant progression of mouse skin tumors by the free-radical generator benzoyl peroxide. *Cancer Res* 1986; 46: 2863-2865.
62. Ohshima H, Tatemichi M, Sawa T. Chemical basis of inflammation-induced carcinogenesis. *Arch Biochem Biophys* 2003; 417: 3-11.
63. Abuja PM, Albertini R. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clin Chim Acta* 2001; 306: 1-17.
64. Sun Y. Free radicals, antioxidant enzymes, and carcinogenesis. *Free Radic Biol Med* 1990; 8: 583-599.
65. Morel Y, Barouki R. Repression of gene expression by oxidative stress. *Biochem J* 1999; 342 Pt 3: 481-496.
66. Akkuş I. Serbest oksijen radikalleri ve fizyopatolojik etkileri. Konya: Mimoza Basım Yayın ve Dağıtım 1995; 1-20.
67. Zimmermann KC, Bonzon C, Green DR. The machinery of programmed cell death. *Pharmacol Ther* 2001; 92: 57-70.
68. Kennedy M, Bruninga K, Mutlu EA, Losurdo J, Choudhary S, Keshavarzian A. Successful and sustained treatment of chronic radiation proctitis with antioxidant vitamins E and C. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 1080-1084.
69. Seven A, Candan G. Antioksidan savunma sistemleri. *Cerrahpaşa Journal of Medicine* 1996; 27: 41-50.
70. Aldridge WN. Serum esterases. II. An enzyme hydrolysing diethyl p-nitrophenyl phosphate (E600) and its identity with the A-esterase of mammalian sera. *Biochem J* 1953; 53: 117-124.

71. Aldridge WN. Serum esterases. I. Two types of esterase (A and B) hydrolysing p-nitrophenyl acetate, propionate and butyrate, and a method for their determination. *Biochem J* 1953; 53: 110-117.
72. Eckerson HW, Wyte CM, La Du BN. The human serum paraoxonase/arylesterase polymorphism. *Am J Hum Genet* 1983; 35: 1126-1138.
73. Uriel J. Characterization of cholinesterase and other carboxylic esterases after electrophoresis and immunoelectrophoresis on agar. I. Application to the study of esterases of normal human serum. *Ann Inst Pasteur (Paris)* 1961; 101: 104-119.
74. La Du BN, Adkins S, Kuo CL, Lipsig D. Studies on human serum paraoxonase/arylesterase. *Chem Biol Interact* 1993; 87: 25-34.
75. Mackness MI, Hallam SD, Peard T, Warner S, Walker CH. The separation of sheep and human serum "A"-esterase activity into the lipoprotein fraction by ultracentrifugation. *Comp Biochem Physiol B* 1985; 82: 675-677.
76. Mackness MI, Mackness B, Durrington PN, Connelly PW, Hegele RA. Paraoxonase: biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoproteins. *Curr Opin Lipidol* 1996; 7: 69-76.
77. Primo-Parmo SL, Sorenson RC, Teiber J, La Du BN. The human serum paraoxonase/arylesterase gene (PON1) is one member of a multigene family. *Genomics* 1996; 33: 498-507.
78. La Du BN, Aviram M, Billecke S, Navab M, Primo-Parmo S, Sorenson RC, Standiford TJ. On the physiological role(s) of the paraoxonases. *Chem Biol Interact* 1999; 119-120: 379-388.
79. Eckerson HW, Romson J, Wyte C, La Du BN. The human serum paraoxonase polymorphism: identification of phenotypes by their response to salts. *Am J Hum Genet* 1983; 35: 214-227.
80. Gan KN, Smolen A, Eckerson HW, La Du BN. Purification of human serum paraoxonase/arylesterase. Evidence for one esterase catalyzing both activities. *Drug Metab Dispos* 1991; 19: 100-106.
81. Sorenson RC, Primo-Parmo SL, Kuo CL, Adkins S, Lockridge O, La Du BN. Reconsideration of the catalytic center and mechanism of mammalian paraoxonase/arylesterase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92: 7187-7191.

82. Josse D, Xie W, Masson P, Lockridge O. Human serum paraoxonase (PON1): identification of essential amino acid residues by group-selective labelling and site-directed mutagenesis. *Chem Biol Interact* 1999; 119-120: 71-78.
83. Sorenson RC, Bisgaier CL, Aviram M, Hsu C, Billecke S, La Du BN. Human serum Paraoxonase/Arylesterase's retained hydrophobic N-terminal leader sequence associates with HDLs by binding phospholipids : apolipoprotein A-I stabilizes activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 2214-2225.
84. Geldmacher-von Mallinckrodt M, Diepgen TL, Duhme C, Hommel G. A study of the polymorphism and ethnic distribution differences of human serum paraoxonase. *Am J Phys Anthropol* 1983; 62: 235-241.
85. Sutherland WH, Walker RJ, de Jong SA, van Rij AM, Phillips V, Walker HL. Reduced postprandial serum paraoxonase activity after a meal rich in used cooking fat. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 1340-1347.
86. Biasioli S, Schiavon R, Petrosino L, De Fanti E, Cavalcanti G, Battaglia P, Fasolin A. Paraoxonase activity and paraoxonase 1 gene polymorphism in patients with uremia. *Asaio J* 2003; 49: 295-299.
87. van der Gaag MS, van Tol A, Scheek LM, James RW, Urgert R, Schaafsma G, Hendriks HF. Daily moderate alcohol consumption increases serum paraoxonase activity; a diet-controlled, randomised intervention study in middle-aged men. *Atherosclerosis* 1999; 147: 405-410.
88. Azarsız E, Sönmez EY. Paraoksonaz ve klinik önemi. *Türk Biyokimya Dergisi* 2000; 25: 109-119.
89. Mackness MI, Mackness B, Durrington PN. Paraoxonase and coronary heart disease. *Atheroscler*. 2002; 3: 49-55.
90. Mackness MI, Harty D, Bhatnagar D, Winocour PH, Arrol S, Ishola M, Durrington PN. Serum paraoxonase activity in familial hypercholesterolaemia and insulin-dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis* 1991; 86: 193-199.
91. Shih DM, Gu L, Hama S, Xia YR, Navab M, Fogelman AM, Lusis AJ. Genetic-dietary regulation of serum paraoxonase expression and its role in atherogenesis in a mouse model. *J Clin Invest* 1996; 97: 1630-1639.

92. Sozmen EY, Mackness B, Sozmen B, Durrington P, Girgin FK, Aslan L, Mackness M. Effect of organophosphate intoxication on human serum paraoxonase. *Hum Exp Toxicol* 2002; 21: 247-252.
93. Adkins S, Gan KN, Mody M, La Du BN. Molecular basis for the polymorphic forms of human serum paraoxonase/arylesterase: glutamine or arginine at position 191, for the respective A or B allozymes. *Am J Hum Genet* 1993; 52: 598-608.
94. Smolen A, Eckerson HW, Gan KN, Hailat N, La Du BN. Characteristics of the genetically determined allozymic forms of human serum paraoxonase/arylesterase. *Drug Metab Dispos* 1991; 19: 107-112.
95. Durrington PN, Mackness B, Mackness MI. Paraoxonase and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21: 473-480.
96. Playfer JR, Eze LC, Bullen MF, Evans DA. Genetic polymorphism and interethnic variability of plasma paraoxonase activity. *J Med Genet* 1976; 13: 337-342.
97. Sanghera DK, Aston CE, Saha N, Kamboh MI. DNA polymorphisms in two paraoxonase genes (PON1 and PON2) are associated with the risk of coronary heart disease. *Am J Hum Genet* 1998; 62: 36-44.
98. Mackness MI, Walker CH, Carlson LA. Low A-esterase activity in serum of patients with fish-eye disease. *Clin Chem* 1987; 33: 587-588.
99. Mackness MI, Peuchant E, Dumon MF, Walker CH, Clerc M. Absence of "A"-esterase activity in the serum of a patient with Tangier disease. *Clin Biochem* 1989; 22: 475-478.
100. Paragh G, Asztalos L, Seres I, Balogh Z, Locsey L, Karpati I et al. Serum paraoxonase activity changes in uremic and kidney-transplanted patients. *Nephron* 1999; 83: 126-131.
101. Lambert M, Boullier A, Hachulla E, Fruchart JC, Teissier E, Hatron PY, Duriez P. Paraoxonase activity is dramatically decreased in patients positive for anticardiolipin antibodies. *Lupus* 2000; 9: 299-300.

102. Ikeda Y, Suehiro T, Inoue M, Nakauchi Y, Morita T, Arai K et al. Serum paraoxonase activity and its relationship to diabetic complications in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Metabolism* 1998; 47: 598-602.
103. Karakaya A, Ibis S, Kural T, Kose SK, Karakaya AE. Serum paraoxonase activity and phenotype distribution in Turkish subjects with coronary heart disease and its relationship to serum lipids and lipoproteins. *Chem Biol Interact* 1999; 118: 193-200.
104. Ayub A, Mackness MI, Arrol S, Mackness B, Patel J, Durrington PN. Serum paraoxonase after myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 330-335.
105. Kondo I, Yamamoto M. Genetic polymorphism of paraoxonase 1 (PON1) and susceptibility to Parkinson's disease. *Brain Res* 1998; 806: 271-273.
106. Weber WW. Influence of heredity on human sensitivity to environmental chemicals. *Environ Mol Mutagen* 1995; 102-114.
107. Akcay MN, Yilmaz I, Polat MF, Akcay G. Serum paraoxonase levels in gastric cancer. *Hepatogastroenterology* 2003; 273-275.
108. Akcay MN, Polat MF, Yilmaz I, Akcay G. Serum paraoxonase levels in pancreatic cancer. *Hepatogastroenterology* 2003; 225-227.
109. Juretic D, Tadijanovic M, Rekić B, Simeon-Rudolf V, Reiner E, Baricic M. Serum paraoxonase activities in hemodialyzed uremic patients: cohort study. *Croat Med J* 2001; 42: 146-150.
110. Stohs SJ. The role of free radicals in toxicity and disease. *J Basic Clin Physiol Pharmacol* 1995; 6: 205-228.
111. de Groot H. Reactive oxygen species in tissue injury. *Hepatogastroenterology* 1994; 41: 328-332.
112. Portakal O, Ozkaya O, Erden Inal M, Bozan B, Kosan M, Sayek I. Coenzyme Q10 concentrations and antioxidant status in tissues of breast cancer patients. *Clin Biochem* 2000; 33: 279-284.
113. Guner G, Islekeli H, Oto O, Hazan E, Acikel U. Evaluation of some antioxidant enzymes in lung carcinoma tissue. *Cancer Lett* 1996; 103: 233-239.

114. Zhang YX, Zhang YG. Clinical investigation of erythrocyte function in patients with lung cancer. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi* 1993; 16: 278-280, 319.
115. Ferre N, Camps J, Cabre M, Paul A, Joven J. Hepatic paraoxonase activity alterations and free radical production in rats with experimental cirrhosis. *Metabolism* 2001; 50: 997-1000.
116. Regnstrom J, Nilsson J, Tornvall P, Landou C, Hamsten A. Susceptibility to low-density lipoprotein oxidation and coronary atherosclerosis in man. *Lancet* 1992; 339: 1183-1186.
117. Karakaya A, Suzen S, Sardas S, Karakaya AE, Vural N. Analysis of the serum paraoxonase/arylesterase polymorphism in a Turkish population. *Pharmacogenetics* 1991; 1: 58-61.
118. Scheffler E, Wiest E, Woehrle J, Otto I, Schulz I, Huber L et al. Smoking influences the atherogenic potential of low-density lipoprotein. *Clin Investig* 1992; 70: 263-268.
119. Chow CK. Cigarette smoking and oxidative damage in the lung. *Ann N Y Acad Sci* 1993; 686: 289-298.
120. Nishio E, Watanabe Y. Cigarette smoke extract inhibits plasma paraoxonase activity by modification of the enzyme's free thiols. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 236: 289-293.

8. ÖZGEÇMİŞ

1975 yılında Adana'da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Adana'da tamamladım. 1994 yılında Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi'ni kazandım ve 2000 yılında aynı üniversiteden mezun oldum. 2001 yılı Temmuz ayında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları ABD'da ihtisas eğitimime başladım. İngilizce biliyorum. Evli ve 1 çocuk annesiyim.