

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ-DİŞ-ÇENE HASTALIKLARI VE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**KANSERÖZ VE NONKANSERÖZ İNSAN LARİNKS
DOKULARINDA
SÜPEROKSİT DİSMUTAZ VE GLUTATYON PEROKSİDAZ
ENZİM AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

Hazırlayan
Abdullah KALAYCI

115951

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

Danışman
Prof.Dr. Adnan ÖZTÜRK

KONYA 2002

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ-DİŞ-ÇENE HASTALIKLARI VE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

SABE PROJE NO : 99 / 070

**KANSERÖZ VE NONKANSERÖZ İNSAN LARİNKS
DOKULARINDA
SÜPEROKSİT DİSMUTAZ VE GLUTATYON PEROKSİDAZ
ENZİM AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

Hazırlayan
Abdullah KALAYCI

Bu tez aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından 05/09/2002 günü sözlü olarak yapılan tez savunma sınavında oybirliği ile kabul edilmiştir. (S.B.E.Yön.Kur.16-05-2002 gün ve 403/5280 sayılı kararı gereği).

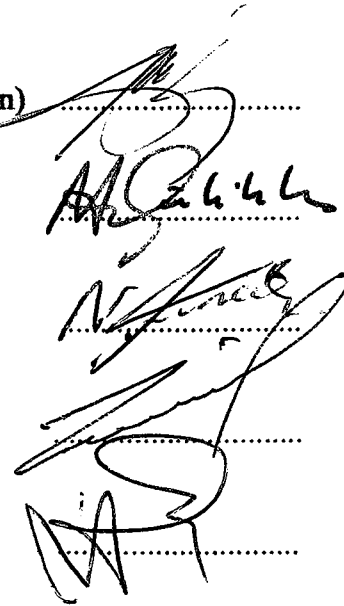
Tez Jürisi : Jüri başkanı Prof.Dr. Adnan ÖZTÜRK (Danışman)

Üye Prof.Dr. Mehmet GÜRBİLEK

Üye Doç.Dr. Nihat TUNCER

Üye Doç.Dr. Cahit ÜÇOK

Üye Doç.Dr. Murat Necip MUTLU



İÇİNDEKİLER

1-GİRİŞ	1
2-LİTERATÜR BİLGİ	2-28
2.1.Serbest Radikaller	2
2.1.1.Serbest oksijen radikalleri ve reaktif oksijen türleri	3
2.1.2 .Süperoksit radikali	3
2.1.3 .Hidrojen peroksit radikali	5
2.1.4 .Hidroksil radikali	6
2.1.5 .Singlet oksijen	6
2.2 .Hücrede Serbest Radikal Oluşumu ve Sebepleri	7
2.2.1.Serbest radikallerin aktifliği	10
2.3 .Serbest Radikallerin Etkileri	10
2.3.1 .Membran lipidlerine etkileri	13
2.3.2 .Nükleik asitler ve DNA üzerine etkileri	14
2.3.3 .Proteinlere etkileri	14
2.3.4 .Karbonhidratlara etkileri	15
2.4 .Serbest Radikallerle Mücadele	15
2.5 .Antioksidanların Sınıflandırılması	17
2.6 .Antioksidan Tepkimeler ve Antioksidanlar	18
2.6.1 .Süperoksit dismutaz	20
2.6.2 .Glutasyon peroksidaz	21
2.6.3 .Katalaz	23
2.6.4 .C vitamini	23
2.6.5 .E vitamini	25
2.6.6 .Diğer antioksidanlar	26
2.7.Larinks Kanseri	27
2.8. Serbest Radikallerin Kanser Oluşumundaki Rollerini	28
3-MATERYAL ve METOD	31-34
3.1 .Materyal	31
3.1.1 .Hasta gruplarının seçimi	31
3.1.2 .Kullanılan cihazlar	31
3.1.3. Kullanılan kimyasal maddeler	32
3.2 . Metod	32
3.2.1. Doku örneklerinin enzim aktivitesi tayini için hazırlanması	32
3.2.2. Süperoksit dismutaz tayini	32
3.2.3. Glutasyon peroksidaz tayini	33
3.2.4. Protein tayini	34
3.3. İstatistiksel Analiz Metodu	34
4-BULGULAR	35-38
4.1.Larinks Kanseri Grubu SOD Sonuçları	35
4.2.Larinks Kontrol Grubu SOD Sonuçları	35
4.3.Larinks Kanseri Grubu GSH-Px Sonuçları	36
4.4.Larinks Kontrol Grubu GSH-Px Sonuçları	36

4.5.Fibröz Hiperplazi SOD Sonuçları	37
4.6.Fibröz Hiperplazi GSH-Px Sonuçları	37
4.7.Gruplara Ait Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri	38
4.8.Gruplar Arası İlişkilerin İstatistiksel Analiz Sonuçları	38
5-TARTIŞMA ve SONUÇ	39-46
6-ÖZET	47
7-SUMMARY	48
8-LİTERATÜR LİSTESİ	49-60
9- ÖZGEÇMİŞ	61
10-TEŞEKKÜR	62



KISALTMALAR

AA	:Askorbik asit
BHT	:Butylated hidroksitoluen
CAT	:Katalaz enzimi
DTPA	:Dietilen triamin asetik asit
EDTA	:Etilen diamin tetraasetik asit
GC	:Gaz kromatografisi
GSH	:Glutasyon molekülü
GSH-Px	:Glutasyon peroxidaz enzimi
GSSG	:Okside glutasyon
H₂O₂	:Hidrojen peroksit
HMP	:Heksoz monofosfat
HPLC	:High performance liquid cromotography
LAA	:Lökosit askorbik asit
LOO[·]	:Peroksi radikali
LOOH[·]	:Lipit hidroperoksit
MDA	:Malondialdehid
MPO	:Miyeloperoksidaz
MS	:Kütle spektrometresi
NAD	:Nikotinamid di nukleotid
O₂[·]	:Süperoksid radikali
OH[·]	:Hidroksil radikali
PAF	:Platelet aktive edici faktör
PNL	:Polimorf nüveli lökosit
PUFA	:Poliansatüre yağ asiti
RB	:Respiratory burst (solunumsal patlama)
RO[·]	:Alkoksi radikali
ROM	:Reaktif oksijen metabolitleri
SOD	:Süperoksid dismutaz enzimi
SOR	:Süper oksijen radikali
TBA	:Tiobarbutirik asit
TBARS	:Tiobarbutirik asitle reaksiyon veren maddeler
Vit C[·]	:Radikal vitamin C
Vit E[·]	:Radikal vitamin E
XO	:Ksantin oksidaz enzimi

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1.Oksidanların kaynakları	8
Tablo 2.2.Tetiklenen metabolik değişiklikler	11
Tablo 2.3.Artnmış oksidanların zararları	12
Tablo 2.4.Antioksidanların sınıflandırılması	17
Tablo 2.5.Majör antioksidanlar ve özellikleri	26
Tablo 4.1.Larinks Kanser Grubu SOD Sonuçları	35
Tablo 4.2.Larinks Kontrol Grubu SOD Sonuçları	35
Tablo 4.3.Larinks Kanser Grubu GSH-Px Sonuçları	36
Tablo 4.4.Larinks Kontrol Grubu GSH-Px Sonuçları	36
Tablo 4.5.Fibröz Hiperplazi SOD Sonuçları	37
Tablo 4.6.Fibröz Hiperplazi GSH-Px Sonuçları	37
Tablo 4.7.Gruplara Ait Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri	38
Tablo 4.8.Gruplar Arası İlişkilerin İstatistiksel Analiz Sonuçları	38

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1.Doğal oksijenden türeyen oksidan moleküller	4
Şekil 2.2.İskemide süperoksit oluşum hipotezi	9
Şekil 2.3.Hücre içi Ca'un artışı ile litik enzimlerin aktivasyonu sonucu oksidan moleküllerin oluşması	12
Şekil 2.4. Hidroksil radikalının DNA'ya etkisi	29



1. GİRİŞ

Serbest radikallerin ve antioksidanların, fizyolojik olaylardaki fonksiyonları ile ilgili deliller her geçen gün artmaktadır. Serbest radikaller en dış yörüngesinde ortaklanmamış elektron bulunduran kimyasal maddelerdir. Serbest radikaller organik veya inorganik moleküller olabilirler. Normal olarak metabolizma sırasında invivo üretilbildikleri gibi, endüstriyel çalışmalar sırasında da oluşabilirler.

En önemli serbest radikaller oksijen radikalleridir. Serbest radikaller lipid peroksidasyonuna sebep olarak membranların, özellikle hücre zarının yapısını bozarlar, mutajenik etkileri ile gen programlarını değiştirerek kansere sebep olurlar. Günümüzde serbest radikallerin yol açtığı hastalıklarla bağlantılı araştırmalar önem kazanmıştır. Serbest radikallerin reaksiyon kapasitesi yüksek olup kanser oluşumu yanında, ateroskleroz, katarakt, Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı, romatizma, enflamasyon ve diyabet gibi hastalıkların oluşumunda da rol aldıkları düşünülmektedir.

Hücrelerde, serbest radikal oluşumunu engellemeye veya zararlı etkilerini azaltmaya yönelik enzimatik ve nonenzimatik antioksidan savunma mekanizmaları vardır. Antioksidan enzimlerden en önemlileri süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz (CAT)'dır. Vitaminlerden ise E ve C vitaminleri kuvvetli antioksidandırlar. Serbest radikallerin çeşitli hastalıkların oluşumunda rol aldığı düşüncesi, önlenmelerinde ve tedavilerinde antioksidanların kullanılabileceği fikrini doğurmuştur.

Bu çalışmada, larinks kanserli hastaların kanseröz ve nonkanseröz larinks dokularındaki SOD ve GSH-Px aktiviteleri araştırıldı. Bu enzimlerin kanserli hücre ve dokulardaki aktivite değişikliklerinin belirlenmesi, kanser metabolizmasının anlaşılmasının yanısıra, hastalığın teşhisi, tedavisi ve prognozun değerlendirilmesinde yardımcı olabilir.

2. LİTERATÜR BİLGİ

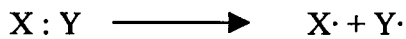
2.1. Serbest Radikaller

Atomun yapısı bir çekirdek ve onun çevresinde “orbital” adı verilen uzaysal bölgede çift olarak bulunan elektronlardan oluşur. Her orbitalde en fazla iki elektron bulunur ve bu elektronlar zıt spinlidir. Kimyasal bir kovalent bağ oluşurken, bağı meydana getiren atomların dış orbitallerindeki elektronlar ortaklaşa kullanılırlar. Moleküllerin çoğu son yörüngesinde çift elektronlu olup, az sayıdaki molekül ise tek yani eksik elektronludur. Bir başka deyişle dış yörüngelerinde ortaklanmamış bir veya daha fazla elektron bulundurlar. Ortaklanmamış elektron genellikle üst kısma yazılan nokta ile gösterilir. Eksik elektronlu olan bu moleküller bulabilecekleri herhangi bir molekül ile iletişime girer ve bu molekülden ya bir elektron alır veya ona bir elektron verirler. Eksik elektronlarından dolayı bu moleküller son derece reaktif olup kısa ömürlüdürler. Başka moleküller ile kolayca elektron alış verişine girip onların yapısını bozan bu moleküllere “Serbest radikaller, oksidan moleküller veya reaktif oksijen partikülleri” denir (Southorn ve Powis 1988, Halliwell 1991, Özdemir 1993, Cheeseman ve Slater 1993).

Bir atomdan diğerine elektron geçmesi ile bağ oluşmuş ise buna iyonik bağ denir. NaCl buna örnektir. Elektron ortaklanması varsa buna da kovalent bağ denir. İki oksijen atomu yan yana gelerek kovalent bağ yaparlar (Dargel 1992).

Özet olarak serbest radikaller üç yolla meydana gelir.

1. Kovalent bağlı normal bir molekülün her bir fragmanda ortak elektronlardan biri kalarak hemolitik bölünmesiyle oluşur.



2. Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı. Bu olay çoğunlukla heterolitik bölünmede görülür. Kovalent bağı oluşturan her iki elektron atomların birinde kalırlar. Böylece serbest radikaller değil iyonlar meydana gelir.



3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesiyle oluşur.



Serbest radikaller pozitif yüklü, negatif yüklü veya elektriksel olarak nötral olabilirler. Organik veya inorganik molekül şeklinde olabilirler. Cu^{+2} , Fe^{+3} , Mo^{+5} , Mn^{+2} , gibi geçiş metallerinin de ortaklanmamış elektronu olduğu halde serbest radikal olarak kabul edilmezler (Deby ve Pincemail 1988, Lunec ve Blake 1990, Halliwell ve Gutteridge 1990, Cheeseman ve Slater 1993).

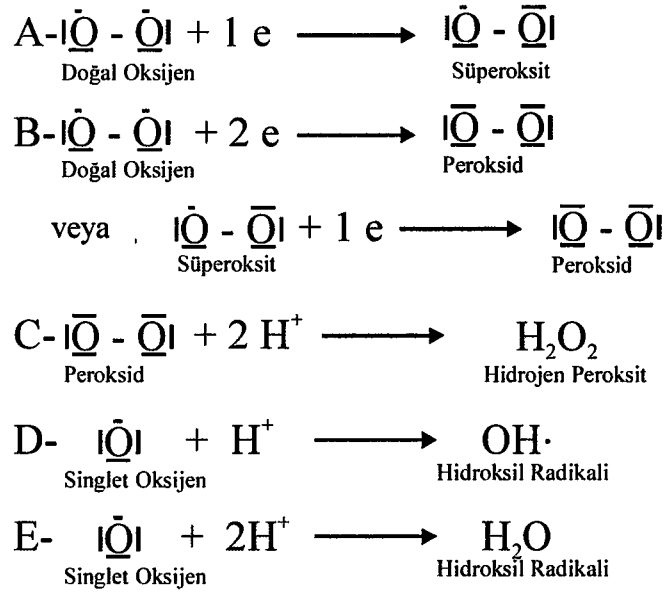
2.1.1. Serbest oksijen radikalleri ve reaktif oksijen türleri

Aktif oksijen bileşiklerinin çoğu serbest radikaldir ve bunlara serbest oksijen radikalleri denir. Moleküler oksijen (O₂) birer elektronu eksik iki oksijen atomundan oluşmuştur. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Serbest oksijen radikali biyokimyasında anahtar rolü oynayan maddeler; oksijenin kendisi, süperoksit, hidrojen peroksit, geçiş metallerinin iyonları ve hidroksil radikalidir. Oksijenin elektronları öyle dağılmışlardır ki bu elektronların iki tanesi eşleşmemiştir. Bundan dolayı oksijen bir “diradikal” olarak da değerlendirilir. Ancak bu molekülün reaktif bir özelliği yoktur. Çünkü her iki atom denge halindedir. Oksijenin bu özelliği diğer serbest radikallerle kolayca reaksiyona girmesini, radikal olmayan maddelerle yavaş reaksiyona girmesini sağlar (Cheeseman ve Slater 1993). Oksijen en son suya indirgenirken beraberinde birçok reaktif radikal ürünleri oluşur (Klebanoff 1980, Bast ve ark 1991).

2.1.2. Süperoksit radikali

Oksijen molekülünün, çevresindeki herhangi bir molekülden bir elektron alarak indirgenmesi sonucu süperoksit radikal anyonu (SOR) meydana gelir (Şekil 2.1-a). Süperoksit radikali hem çevresel etkenler hem de organizmadaki enzimatik ve nonenzimatik reaksiyonlarla en çok ve en kolay oluşan oksijen radikalidir (Yiğit ve Yurdakök 1996). Süperoksit radikalinin bu reaksiyonunu ksantin oksidaz ve respiratuar zincir komponentleri katalize ederler. Yani en büyük kaynağı elektron transport zinciridir (Deby ve Pincemail 1988, Halliwell ve Gutteridge 1990, Halliwell 1991, Cheeseman ve Slater 1993, Halliwell 1994). Bir serbest radikal olmasına karşın kendisi çok zedeleyici değildir. Yapı olarak redükleyici olan süperoksitin asıl önemi hidrojen peroksit (H₂O₂) kaynağı olmasında ve metal iyonlarını redükleyici etkisinden kaynaklanır. (Yiğit ve Yurdakök 1996).

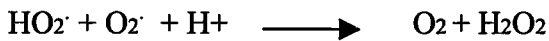




Şekil 2.1. Doğal oksijenden türeyen oksidan moleküller

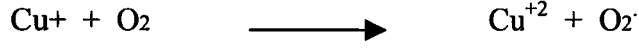
Bu reaksiyonlar sonucunda süperoksit radikalleri ortamdan temizlenir ve sonuçta radikal ortaya çıkmadığından bu reaksiyonlar dismutasyon reaksiyonları olarak bilinir. Dismutasyon reaksiyonları kendiliğinden olabileceği gibi, SOD enzimi tarafından da katalizlenebilir (Yiğit ve Yurdakök 1996). SOD bu reaksiyonun hızını 4000 kat artırır (Freeman ve Crapo 1982, Flohe ve Ötting 1984, Matkovics ve ark 1985). Süperoksit radikali pKa'sı zayıf olduğundan pH'dan önemli ölçüde etkilenir. Asidik ortamda dismutasyon daha hızlıdır. Oysa nötral pH ve yüksek pH 'da dismutasyon zayıf çalışır (Yiğit ve Yurdakök 1996).

Endotel kaynaklı bir radikal olan nitrikoksit (NO \cdot) ile süperoksidin birleşmesi sonucu başta proteinlere zarar veren birçok toksik ürün meydana gelir. Düşük pH değerlerinde oksidan perhidroksil radikali oluşur. Perhidroksil ile reaksiyona girince biri indirgenirken diğeri okside olur. Bu dismutasyon reaksiyonunda oksijen ve hidrojen peroksid oluşur (Klebanoff 1980, Halliwell ve Gutteridge 1990, Cheeseman ve Slater 1993).



İndirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu da süperoksit meydana getirebilir. Bu reaksiyonlar reversibldir.



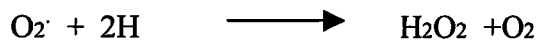
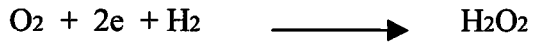


Süperoksit radikalinde kendiliğinden dismutasyon olabilir, ortamdan proton alarak perhidroksi radikalini oluşturabilir, hidrojen peroksitle birleşerek hidroksil radikali ve singlet oksijen oluşturabilir veya diğer tepkimelerle singlet oksijen yapımına sebep olabilir.

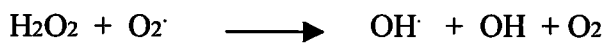
Süperoksit radikalinin oluşumuna neden olduğu radikaller diğer radikalik tepkimeleri başlatır ve süperoksitin kendisinden çok daha reaktif ve toksik etkilidirler. Bu nedenle süperoksit radikalleri oluştuğu anda uzaklaştırılmazlarsa diğer radikallerin oluşumu kaçınılmazdır. Süperoksit radikalleri çevresel etkiler, kimyasal bileşikler ve fiziksel etkenlerle oluşabilir. Bazı şartlarda görünür bölge ışınları da dahil olmak üzere bütün yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar, her oksijenli ortamda SOR oluştururlar. Çevresel etkiler izole edilse bile oksijeni metabolize eden canlılarda süperoksit oluşur. Özellikle hidrokinoonların, katekolaminlerin, tiollerin, indirgenmiş boyaların ve hemoproteinlerin otooksidasyon tepkimelerinde, çeşitli enzimatik tepkimelerde, oksidaz ve hidroksilaz enzimlerinin katalitik etkisi sırasında süperoksit yapımı olur (Yiğit ve Yurdakök 1996).

2.1.3. Hidrojen peroksit radikali

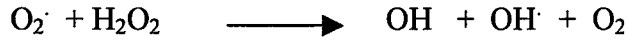
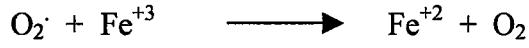
Oksijen iki elektron alarak peroksit molekülünü oluşturur. Bu molekülün oluşması bazen süperoksidin bir elektron alışı ile de olabilmektedir (Şekil 2.1-b). Peroksit molekülü iki hidrojen atomu ile birleşecek olursa hidrojen peroksit oluşur. Bu molekül bir radikal olmayıp hafif reaktif özellikte bir oksidandır (Şekil:2.1-c) (Özdemir 1993). H_2O_2 membranlardan kolayca geçebilen uzun ömürlü bir oksidandır (Lunec ve Blake 1990).



Bir radikal olmadığı halde hidrojen peroksitin serbest radikal biyokimyasında önemi büyüktür, çünkü süperoksit ile reaksiyona girerek en reaktif ve organizmaya en zararlı reaktif oksijen partikülü olan hidroksil radikali ve singlet oksijen oluşturmak üzere kolayca yıkılabilir.



Haber-Weiss reaksiyonu adı verilen bu reaksiyon demir ile katalizlendiğinde çok daha hızlıdır (Klebanoff 1980, Weiss ve Lobuglio 1982, Deby ve Pincemail 1988, Lunec ve Blake 1990, Sies 1991, Cheeseman ve Slater 1993, Yiğit ve Yurdakök 1996).



Bu reaksiyonlardan da anlaşılacağı üzere süperoksit hem hidrojen peroksit kaynağı hem de geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisidir. İndirgenmiş geçiş metalleri okside formlara göre hidrojen peroksit ile daha reaktiftirler (Cheeseman ve Slater 1993).

2.1.4. Hidroksil radikali

Hidroksil radikali (OH \cdot), Fenton reaksiyonu adı verilen reaksiyonla geçiş metallerinin varlığında hidrojen peroksitin indirgenmesiyle meydana gelir (Şekil:2.1-d). Son derece reaktif bir oksidan moleküldür. Oluştığı yerde büyük hasar meydana getirir. Difüzyon kontrollü hızlarda karşılaştığı moleküllerin çoğu ile reaksiyona girer. Yarı ömrünün kısa olması nedeniyle reaksiyona girmeden etrafa fazla yayılamaz. Ancak, üretim bölgesinde önemli zedelenmeye sebep olur. Hidroksil radikalının yüksek reaktivitesi nedeniyle istenmeyen toksik etkileri olmasına rağmen üretilmesi normal biyolojik fonksiyonlar için gereklidir. Fagositoz ve pekçok enzimatik katalizin zorunlu bir parçası olarak hidroksil radikali üretilir (Yiğit ve Yurdakök 1996, Lunec ve Blake 1990).

2.1.5. Singlet oksijen

Ortaklanmamış elektronu olmayan, tek atom halinde reaktif bir moleküldür. Serbest radikal değildir. Serbest radikallerin reaksiyonları sonucu oluşabilir veya serbest radikal reaksiyonlarını başlatabilir. Uyarılmış elektronlarının daha düşük enerji seviyelerine inmesiyle ışık yayar. Singlet oksijen iki hidrojen atomu alırsa su meydana gelir (Şekil:2.1-e). Singlet oksijenin kimyasal bir bileşikle etkileşimi sonucu kemiluminesans meydana gelmesi ve bunun ölçülmesi ile reaktif oksijen türlerinin direkt tayini yapılabilmektedir

(Klebanoff 1980, Babior 1984, Lunec ve Blake 1990, Halliwell ve Gutteridge 1990, Sies 1991, Cheeseman ve Slater 1993).

Serbest oksijen radikalleri dışında, karbon merkezli radikaller ($R\cdot$), peroksil radikalleri ($ROO\cdot$), alkoksil radikalleri ($RO\cdot$), thiyil radikalleri ($RS\cdot$) gib önemli serbest radikaller de vardır (Sies 1991)

2.2. Hücrede Serbest Radikal Oluşumu ve Sebepleri

Başlıca glukozun oksidasyonu sırasında olmak üzere organizmada tüm anabolik ve katabolik reaksiyonlar sırasında sürekli olarak oksidan moleküller oluşurlar, çünkü canlı organizma, gerek dış ve gerek iç etkenlerin (ör: stres, salgı maddeleri) uyarılması ile her an zorlanmaktadır. Bu zorlamalar sırasında ve kirli havanın içindeki moleküllerin etkisi ile normal yaşam süreci içinde zaman zaman oksidan moleküller belirli bir düzeyin üstüne çıkmaktadır. Serbest radikaller hem tabii yoldan hem de endüstriyel işlemler sırasında çoğu oksijen reaksiyonlarında oluşmaktadır. Örneğin, organik maddelerin havada çürümesi, plastiklerin işlenmesi, boyaların kuruması sırasında ve mitokondrilerdeki oksidatif fosforilasyon sürecinde, araşidonik asitten tromboksan, prostoglandinler ve lökotrienlerin oluşumunda, yabancı maddeler ve mevcut substratların metabolizması sırasında, enflamatuar reaksiyonlarda, makrofajların ve granülositlerin solunumsal patlaması yolu ile üretilmektedirler (Klebanoff 1980, Weiss ve Lobuglio 1982, Babior 1984, Halliwell 1994).

Hava kirliliği, sigara, çeşitli karsinojenler, asbestos, fenobarbital, bazı kanser ilaçları, ısı, ağır egzersiz, radyasyon, enflamasyon, diyet yağları gibi bir çok faktör radikal oluşumunu ve bunlara bağlı hasarı başlatabilirler (Tablo 2.1) (Jacobson 1987, Özdemir 1993, Yiğit ve Yurdakök 1996).

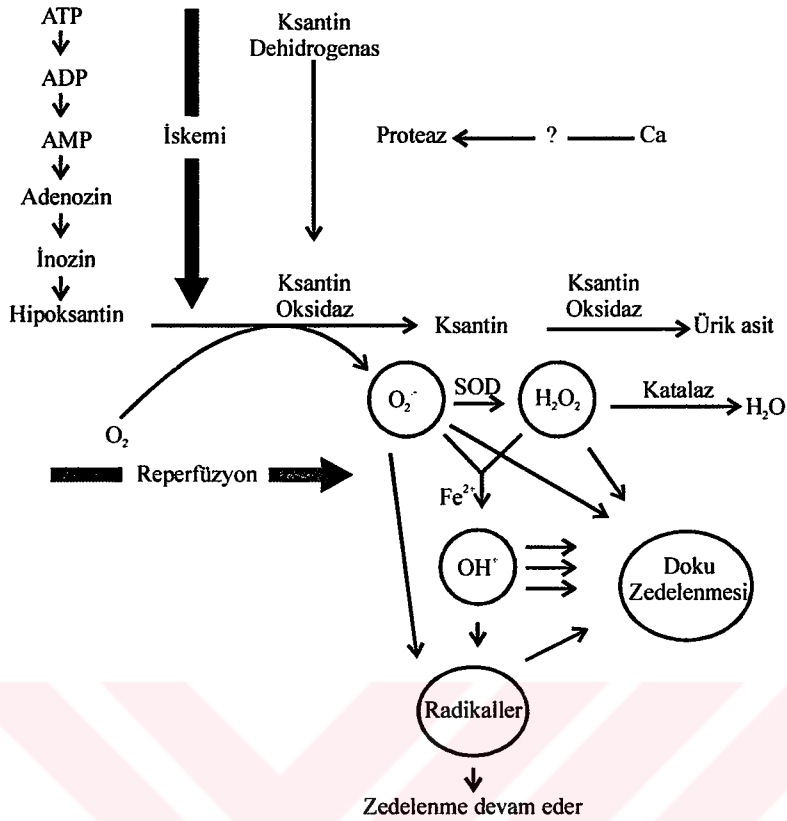
Tablo 2.1. Oksidanların kaynakları

-
- A- Normal biyolojik işlemler
- Oksijenli solunum
 - Katabolik ve anabolik işlemler
 - 1-Küçük moleküllerin otooksidasyonu (tioller, hidrokinonlar, tetrahidroproteinler, antibiyotikler, kateşolaminler ve flavinler)
 - 2- Enzimler ve proteinler (ksantinoksidaz, triptofandioksijenaz, hemoglobin)
 - 3- Mitokondriyal elektron transportu
 - 4- Endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron transport sistemleri (stokrom P₄₅₀, stokrom B₅)
 - 5- Peroksizomlar
 - 6- Plazma membranı (Lipoksijenaz, Prostoglandin sentetaz, Fagositlerde NADPH oksidaz, Lipid peroksidasyonu)
- B- Oksidatif stres yapıcı durumlar
- 1- İskemi, hemoraji, travma, radyoaktivite, entoksikasyon
 - 2- Ksenobiyotik maddelerin etkisi
 - a- İnhale edilenler
 - b- Alışkanlık yapan maddeler
 - c- İlaçlar
 - 3- Stres ile artan kateşolaminlerin oksidasyonu
 - 4- Fagositik enflamatuvar hücrelerden salgılanma
 - 5- Uzun süreli metabolik hastalıklar
 - 6- Diğer nedenler: Sıcak şoku, güneş ışını
- C- Yaşlanma
-

Hücrelerde en büyük serbest radikal kaynağı elektron transport zincirinden elektron sızıntısıdır. İskemi, hemoraji, travma, entoksikasyonlar, radyoaktivite etkisi veya allerjik durumlarda mitokondrideki aerobik oksidatif fosforilasyon dengesi etkilenir ve “elektron taşıma sistemi”ndeki elektron kaçakları daha çok olur. İç mitokondriyal membranda lokalize oksidatif fosforilasyon zincir komponentleri büyük oranda indirgendiği zaman mitokondriyal süperoksit radikali açığa çıkar (Freeman ve Crapo 1982, Erden 1992, Cheeseman ve Slater 1993, Yiğit ve Yurdakök 1996).

Serbest radikaller birçok enzimin katalitik siklusları sırasında da açığa çıkar. Bu enzimlerden biri ksantin oksidazdır. İskemi sonrası oluşan süperoksit radikal fazlalığının primer kaynağı ksantin dehidrogenazdır. Bu enzim, normalde elektronların pürin bazlarından nikotinamid dinükleotid (NAD)’in oksitlenmiş formlarına transferini sağlar. Hipoksi esnasında bu enzim hızla ve irreversibl mekanizma ile ksantin oksidaza dönüşür. Ksantin oksidaz, elektronlarını direkt olarak oksijene transfer ederek çok fazla miktarda SOR oluşturur (Freeman ve Crapo 1982). Bu değişim intraselüler kalsiyum arttığında enzimin proteolitik saldırıya uğraması ile olur ve otuz saniyelik bir iskemi sonrasında dahi

olabilir Hipoksi esnasında selüler ATP yeni oluşan ksantin oksidaz için mükemmel bir elektron kaynağı olan hipoksantine dönüşmektedir (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. İskemide süperoksit oluşumu hipotezi

Moleküler oksijen, süperoksit için gerekli olan son substrattır ve oksijenlenmiş kanla dokunun reperfüzyonu esnasında temin edilir. Non iskemik dokularda ksantin oksidaz ve hipoksantinle perfüzyon hasarı iki katına çıkmaktadır. Ksantin dehidrogenaz, tüm vücuda dağılmıştır ve özellikle barsak, karaciğer ve akciğerlerde yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Son zamanlardaki veriler, benzer mekanizmalarla üretilen SOR'nin kalp, böbrek, karaciğer, deri ve beyin gibi organlarda da postiskemik hasarın önemli bir bölümünden sorumlu olduğunu göstermektedir (Bulkley 1983, Yiğit ve Yurdakök 1996). Ksantin oksidaz enzimi düşük basınçta aktif değildir (<20 mmHg). Reperfüzyonda pO₂ arttığında ksantin oksidaz aktifleşir ve SOR oluşur (Bakan 1985).

SOR, oksijenin hidrojen peroksit'e redüksiyonu sırasında da meydana gelir. Aldehit oksidaz, ksantin oksidaza benzer ve SOR üretir, ayrıca dihidroorotatdehidrogenaz, flavoprotein dehidrogenaz, triptofandeoksijenaz gibi enzimler de süperoksit radikal oluşumuna sebep olurlar (Freeman ve Crapo 1982, Erden 1992, Cheeseman ve Slater 1993).

Reaktif oksijen türlerinin önemli bir kaynağı da araşidonik asit metabolizmasıdır. Fagositik hücrelerin uyarılması fosfolipaz ve protein kinazın aktivasyonuna, plazma membranından araşidonik asitin salınımına yol açar. Araşidonik asitin enzimatik oksidasyonu ile serbest radikal ara ürünleri oluşur (Freeman ve Crapo 1982, Lunec ve Blake 1990).

Alkol ve uyuşturucu gibi alışkanlık yapıcı maddeler, özellikle homeostazisi bozarak aşırı oksidan oluşumuna yol açmaktadırlar. Sitotoksik ilaçlardan nitrofrontain, bleomisin, doksorubicine, adriamisin'in faydalarının yanısıra oksidanları artırdıkları vurgulanmıştır. Başta enfeksiyöz ajanlar olmak üzere birçok nedenle artmış olan lökotrienler, platelet aktive edici faktör (PAF), prostoglandinler gibi mediatör maddeler, granüositleri aktive ederler. Bu hücreler aktive olunca hem doku lezyonunun olduğu yerde birikir, hem de oksidan molekülleri oluştururlar (Özdemir 1993).

2.2.1. Serbest radikallerin aktifliği

Serbest radikaller, aktiflikleri bakımından farklılık gösterirler. Bazıları oldukça stabildir, ancak büyük bir kısmı tamamen aktif ve anstabildirler. Bu sebeple saniyenin fraksiyonlarıyla ölçülebilecek şekilde çok kısa ömürlüdürler. Çok aktif olmaları sebebiyle çoğu düşük konsantrasyonlarda bulunurlar (Pryor 1986).

Serbest radikallerin hücre içi ve dışı etkilerini, çözünebilirliği ve difüzyon mesafesi gibi faktörler belirler. Serbest radikallerin etkinliği başlıca difüzyon mesafesi ile ilgilidir. Serbest radikaller, başta membran fosfolipidleri olmak üzere bütün biyomolekülleri etkileyerek çeşitli derecede doku hasarına yol açarlar (Southorn ve Powis 1988).

Süperoksit radikali ve hidrojen peroksit, hücre içinde üretildikleri yerden hücre dışına çıkarak uzak mesafelere difüze olabildikleri için etkilerini hücre içinde ve dışında geniş alanlarda gösterirler. Hidroksil radikali ise, aktivitesinin fazla olması sebebiyle etki süresinin çok kısa olmasından dolayı kaynağından fazla uzaklaşmadan civarındaki tüm biyolojik moleküllerle reaksiyona girebilir (Halliwell 1989).

2.3. Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikaller, başta membran fosfolipidleri olmak üzere proteinler, nükleik asitler, lipidler, lipoproteinler, bağ dokusu makromolekülleri gibi bütün biyomolekülleri etkileyerek çeşitli derecelerde doku hasarına yol açarlar. Serbest radikaller, diğer bir

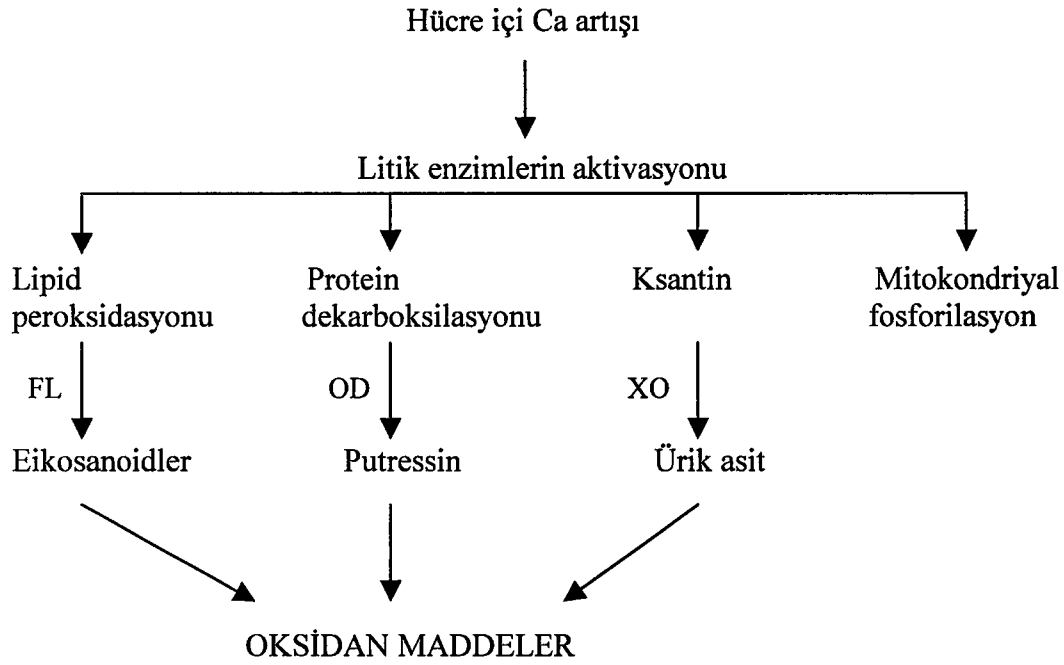
radikal veya başka moleküllerle çeşitli şekillerde etkileşebilirler. İki radikalin bir araya gelip ortaklanmamış elektronların paylaşılması ile stabil bir molekül meydana getirebilecekleri gibi, nonradikal moleküllerle reaksiyona girerek başka serbest radikalleri de oluşturabilirler. Böylece poliansatüre yağ asitlerinin lipid peroksidasyonunda olduğu gibi bir dizi serbest radikal zincir reaksiyonu ortaya çıkarırlar. Sonuç olarak ilk teşekkül eden serbest radikaller sadece lokal etkiler oluşturduğu halde, bundan türeyen sekonder radikaller ve serbest radikal içeren reaksiyonlarda ortaya çıkan yıkım ürünleri, ilk radikalin olduğu bölgeden uzakta etki yaparlar (Southorn ve Powis 1988).

Etkilenen doku hücrelerinde, etyolojik ajan ne olursa olsun birçok metabolik değişiklik meydana gelir (Tablo 2.2).

Tablo 2.2. Tetiklenen metabolik değişiklikler

-
- Membran depolarizasyonu,
 - Adenozin miktarı artışı,
 - Voltaja bağlı Ca kanallarının açılması,
 - Eksitatör transmitterlerin salgılanması,
 - Endojen opiyatların artışı,
 - Endotel mediyatörlerin salgılanması,
 - Litik enzimlerin aktive olması,
 - Lipit peroksidasyonu oluşması,
 - Protein dekarboksilasyonu oluşması,
 - Ksantinin ürik asite dönüşümünün artması,
 - Mitokondrial fosforilasyonun dengesinde bozulma,
 - Reaktif oksijen partiküllerinin artması.
-

Bu metabolik basamaklara bakıldığında hücre içindeki serbest kalsiyum miktarının artmasının metabolik basamakların tetiklenmesinde önemli bir rol oynadığı görülmektedir. Hücre içi kalsiyumun bu yollardan biri veya birkaçının birlikteliği ile artışı, litik enzimleri aktive edici etki göstermektedir. Hücrenin temel yapı taşları olan lipitler ve proteinler yıkılmaya başlamakta ve bu işlem sırasında reaktif oksijen partiküllerinin dokudaki düzeyi artmaktadır. Partiküllerin hem bu artışı başka zararlı metabolik işlemleri tetiklemekte hem de litik enzimlerin başlattığı yıkımı hızlandırıcı etkiye yol açmaktadır. Bu olaylar artmış olan partiküllerin daha da artmasına neden olur ve böylece oksidan moleküllerin artışı ile yıkıcı metabolik olayların hızlanması şeklinde bir kısır döngü meydana gelir (Şekil 2.3) (Özdemir 1993).



(FL: Fosfolipaz, OD: Ornitin Dekarboksilaz, XO: Ksantin oksidaz)

Şekil 2.3. Hücre içi Ca'un artışı ile litik enzimlerin aktivasyonu sonucu oksidan moleküllerin oluşması

Organizmanın yabancı maddeler ve enfeksiyöz ajanlara karşı savunmasında önemli rolleri olan oksidan moleküller, belirli düzeyde kaldıkları sürece faydalıdır. Nötrofil, monosit ve granülositler tarafından salınarak, fagositozda bakterisidal etki gösterirler. Ancak belirli düzeyin üzerinde oluşurlar veya antioksidanlar yetersiz olur ise, yani homeostazis bozulursa söz konusu oksidan moleküller organizmanın yapı elemanları olan protein, lipid, karbonhidrat, genetik materyaldeki nükleik asitler ve faydalı enzimleri bozarak organizmaya zararlı hale gelirler (Tablo 2.3) (Özdemir 1993).

Tablo 2.3. Artmış oksidanların zararları

<ul style="list-style-type: none"> -Hücre organelleri ve membranındaki lipit ve protein yapısını bozarlar -Hücre içi yararlı enzimleri etkisizleştirirler -DNA'yı tahrip ederler -Mitokondrilerdeki aerobik solunumu bozarlar -Litik enzimleri aktive ederler (elastaz, proteaz, fosfolipaz, lipooksijenaz, siklooksijenaz, ksantin oksidaz, indolamin deoksijenaz, triptofan deoksijenaz, galektoz oksidaz) -Hücresel K kaybını artırır -Platelet agregasyonunu artırır -Dokulara fagosit toplanmasını artırır -Hücre dışındaki kollajen doku komponentlerini, savunma enzimlerini (antiproteaz vs.) ve transmitterleri yıkar -Kapiller permeabiliteyi bozar

2.3.1. Membran lipidlerine etkileri

Hücre membranları serbest radikallerden en çok ve en çabuk etkilenen kısımdır. Membranlardaki poliansatüre lipitlerde genelde birden fazla çift bağ bulunur. Bu bağlar oksijen türevi serbest radikallerin atağına karşı duyarlıdır. Lipid-radikal etkileşmesi ile peroksitler oluşur. Bu peroksitler oldukça labil ve reaktif olup, hücre sel zedelenmeye yol açan otokatalitik reaksiyon zincirleri oluştururlar. Yani kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerlerler. Bu yolla oluşan membran hasarı geri dönüşümsüzdür (Oski 1980, Freeman ve Crapo 1982, Fritsma 1983, Halliwell ve Gutteridge 1984, Lunec ve Blake 1990, Winrow ve ark 1993, Cheeseman ve Slater 1993).

Lipid peroksidasyonu, organizmada oluşan oksijen türevi radikallerin etkisiyle membran yapısındaki poliansatüre yağ asiti (PUFA) zincirinden bir hidrojen atomu uzaklaştırılmasıyla başlar. Bunun sonucu yağ asiti bir lipid radikali özelliği kazanır. Bu lipid radikali dayanıksız olup bir dizi değişikliğe uğrar. Moleküler oksijenle etkileşmesi sonucu lipid peroksil radikali meydana gelir. Bu da diğer poliansatüre yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumuna neden olur. Bu arada lipid peroksil radikalleri açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid hidroperoksitlerine dönüşürler. Bu olay kendi kendine katalizlenerek devam eder (Hassun 1983, Deby ve Pincemail 1988).

Çoğu biyolojik olarak aktif olan aldehidler, lipid hidroperoksitlerin yıkımıyla oluşur. Bu bileşikler, hasarı başlangıçtaki etki alanından hücrenin diğer kısımlarına yayabilir. Böylece bir çok doku hasarı ve hastalığa sebep olur (Bagdage ve ark 1974, Deby ve Pincemail 1988, Lunec ve Blake 1990, Winrow ve ark 1993, Cheeseman ve Slater 1993, Halliwell 1994). Hücre içi ve hücre dışı çeşitli yapıları etkileyebilir. Lipid peroksidasyonu sırasında ortaya çıkan aldehidlerden en iyi bilinenleri malondialdehid (MDA) ve 4 hidroksialkeral (özellikle 4 hidroksi nonenal, HNE) 'dir (Halliwell 1994). Üç ya da daha fazla çift bağ ihtiva eden yağ asitlerinin peroksidasyonu malondialdehid meydana getirir. Bu da tiobarbütirik asit (TBA)'le ölçülür. Bu yöntem lipid peroksit düzeylerinin ölçülmesinde sık kullanılır. MDA, yağ asiti oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü değildir. Ama lipid peroksidasyonunun derecesiyle korelasyon gösterir (Freeman ve Crapo 1982, Erden 1992). Peroksidasyonla oluşan MDA membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna neden olur. Bu da deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özelliklerini değiştirir. Bu etkiler MDA'nın mutajenik, genotoksik ve karsinojenik etkilerini izah eder (Freeman ve Crapo 1982). Plazma membranı ve organel

lipid peroksidasyonu daha önce bahsedilen serbest radikal kaynaklarının hepsiyle stimüle olur ve metallerin varlığı ile artırılır. Bu metaller süperoksit ve hidrojen peroksidin daha güçlü oksidanlara dönüşümünü katalizlerler (Freeman ve Crapo 1982, Halliwell ve Gutteridge 1984).

2.3.2. Nükleik asitler ve DNA üzerine etkileri

DNA üzerinde mutasyonlara neden olan serbest radikaller hücrenin ölümüne yol açarlar (Perchellet ve ark 1988). Sitotoksitite, büyük oranda nükleik asit baz modifikasyonlarına bağlı oluşan kromozom değişiklikleri ve DNA'daki diğer bozukluklar sonucu meydana gelir. Aktif fagositlerden kaynaklanan hidrojen peroksit membranlardan kolayca geçerek hücre çekirdeğine ulaşır. Burada DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna, hatta hücre ölümüne yol açar (Lunec ve Blake 1990, Winrow ve ark 1993, Cheeseman ve Slater 1993, Halliwell 1994).

Özellikle hidroksil radikali olmak üzere serbest radikaller nükleik asit bazlarının modifikasyonu ve DNA şeridi kırılmasına neden olurlar. DNA polimerazı inhibe ederler. Karsinogenezis, hücre yaşlanması ve hücre ölümüne kadar giden süreçleri başlatıp ilerletebilirler (Draper ve ark 1983). Tekrarlanan hipoksi ve yeniden perfüzyon epizotlarının sonuçta kısır bir döngü oluşturan bir dizi zararlı olayı başlattığı ileri sürülmektedir. Vasküler daralma sonucu gelişen hipoksi, oksidatif fosforilasyona zarar verir. Yeniden perfüze olduğu epizotlar ise aşırı miktarda serbest radikal birikimine yol açar. Serbest radikallerin mitokondrial DNA ve ayrıca oksidatif fosforilasyona katılan enzimler ve mitokondri zarı üzerinde mutajenik etkisi olduğu bilinmektedir. Bu durum hücrelerin oksijen kullanabilme gücünü azaltırken, serbest radikallerin ileride yol açacağı hasara karşı onları daha duyarlı hale getirir. Bu döngü devam ederken hücre hasara uğramış oksidatif fosforilasyon enzimlerini yenilemek için hasara uğramış mitokondrial DNA' yı kullanamamaktadır (Randall 1992).

2.3.3. Proteinlere etkileri

Serbest radikal etkisine karşı poliansatüre yağ asitlerinden daha az hassas olan proteinlerde zarar verici zincir reaksiyonlarının hızla ilerleme ihtimali daha azdır.

Proteinlerin serbest radikal etkisinden ne derece etkilendiği amino asit kompozisyonuna bağlıdır. Doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallerle reaktivitesi yüksek olduğundan triptofan, trozin, fenil alanin, histidin, metionin, sistein gibi amino asitleri içeren proteinler serbest radikallerden kolayca etkilenirler. Stoplazmik ve membran proteinleri, ozon ve protoporfirin IX gibi okside edici ajanlara maruz kaldıktan sonra dimerlere veya daha büyük agregatlara çapraz bağlanabilirler. Prolin ve lizin, süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali üreten reaksiyonlara maruz kaldıkları zaman nonenzimatik hidroksilasyona uğrayabilir (Freeman ve Crapo 1982, Lunec ve Blake 1990, Erden 1992, Yiğit ve Yurdakök 1996).

2.3.4. Karbonhidratlara etkileri

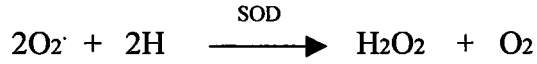
Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu H_2O_2 , peroksitler ve oksaldehitler meydana gelir. Bunlar özellikle diyabetin patogenezinde önemli rol oynar (Lunec ve Blake 1990).

2.4. Serbest Radikallerle Mücadele

Başlıca glukozun oksidasyonu sırasında olmak üzere organizmada oksidanlar, tüm anabolik ve katabolik reaksiyonlar sırası ve sonrasında sürekli bir oluşum ve "Endojen Antioksidanlar" adı verilen moleküller tarafından sürekli etkisizleştirme süreci içindedirler. Çünkü canlı organizma gerek dış gerek iç etkenlerin uyarılması ile her an zorlanmakta ve travmatize edilmektedir. Bu zorlamalar sırasında veya kirli havanın içindeki moleküllerin etkisi ile normal yaşam süreci içinde zaman zaman oksidan moleküller belirli düzeyin üstüne çıkmaktadır. Oksidan molekül artışı, yine vücutta daima belirli bir düzeyde bulunan doğal endojen antioksidan moleküller tarafından etkisiz hale getirilmektedirler. Böylece sağlıklı bir organizmada oksidan düzeyi ve antioksidanların bunları etkisizleştirme gücü bir denge içindedir. Antioksidanların, oksidan moleküller ile mücadelede önemli bir yeri vardır. Doğal antioksidanlar başta olmak üzere tüm antioksidanlar etkilerini dört yolla gerçekleştirmektedirler.

- 1.Scavenging (toplayıcı) etki
- 2.Quencher (bastırıcı) etki
- 3.Repair (onarıcı) etki
- 4.Chain Breaking (zincir kırıcı) etki (Özdemir 1993).

Scavenging etki, oksidanlarla etkileşip onları tutma ve çok daha zayıf yeni bir moleküle çevirerek etkisiz hale getirmeye denir. Doğal antioksidanlardan enzimler, trakea-bronşial mukus ve küçük moleküller bu tip etki ile oksidan moleküllerin miktarlarını azaltmaya çalışırlar (Özdemir 1993). Örneğin, süperoksit ve H₂O₂'yi temizleyen spesifik antioksidan enzimlerden süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) bu yolla etki gösterirler. Bu enzimler hücre stoplazmasında, mitokondrilerde ve ekstra selüler kompartmanda bulunurlar.



SOD, süperoksitin hidrojen peroksite dismutasyonunu katalize eden bir metalo enzimdir (Yavuzer 1993).

Quencher (Bastırıcı) etki, oksidanlarla etkileşime girip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini söndüren ve inaktif hale getiren moleküllerin etkinliğidir. Vitaminler, flavanoidler, trimetazidin ve mannitol böyle etki oluşturan gruptur. Örnek olarak, peroksi (ROO[·]) ve alkoksi (RO[·]) radikaller ile reaksiyona girerek lipit peroksidasyonunu engelleyen vitamin E verilebilir. Vitamin E lipit radikalle reaksiyona girerek onu radikal olmayan bileşik haline dönüştürürken kendisi radikal haline gelir (Özdemir 1993).



Vit E radikali nisbeten stabil, reaktivasyonu az olan bir radikaldir. Vitamin C tarafından gerçekleştirilen bir tamir olayı ile Vit E'ye redükte olur. Siklus vitamin C radikalinin (semiaskorbat radikali) semiaskorbat redüktaz tarafından redüksiyonu ile tamamlanır.



Haber-Weis reaksiyonlarını katalize eden metalleri bağlayan hemoglobin, seruloplazmin, haptoglobin, albumin gibi bileşikler, antioksidan etki tiplerinden bir diğerini oluştururlar. Bunlar oksidanları kendilerine bağlar, zincirlerini kırar (Chain Breaking) ve fonksiyonlarını engelleyici etki gösterirler. İşte makromolekül antioksidanlardan seruloplazmin ve albumin bakırı, plazmadaki transferrin demiri, ferritin hücre içi demiri, hemoglobin ise eritrositlerdeki demiri bağlayarak, oksidan oluşumunun aşırı olmasını engellemek suretiyle antioksidan etki yaparlar (Yavuzer 1993, Özdemir 1993).

2.5. Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidanlar endojen kaynaklı (doğal) ve eksojen kaynaklı (ilaçlar) olmak üzere iki ana grupta toplanabildiği gibi, serbest radikal oluşumunu önleyenler (ferritin transferrin, seruloplazmin, hemopeksin, haptoglobin gibi metal iyonlarını bağlayan moleküller ve peroksitleri ortadan kaldıran maddeler) ve mevcut serbest radikalleri ortadan kaldıranlar (enzimler ve nonenzimatik faaliyet yapan maddeler) şeklinde de sınıflandırılabilirler (Tablo 2.4) (Özdemir 1993, Yiğit ve Yurdakök 1996).

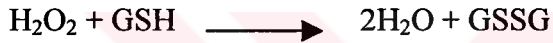
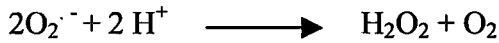
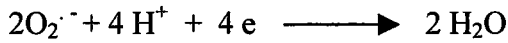
Tablo 2.4. Antioksidanların sınıflandırılması

<u>A.DOĞAL ANTIOKSİDANLAR</u>	
I.Enzimler	7.Glukoz 8.Bilirubin
1.Süperoksit dismutaz (SOD)	<u>B.İLAÇLAR</u>
2.Katalaz	1.Rekombinant h- SOD
3.Glutatyon peroksidaz	2.Ebselen
4.Glutatyon reduktaz	3.Amino steroidler
5.Hidroperoksidaz	4.Demir şelatörleri :
6.Sitokrom-C oksidaz	Phenantrolin, Desferrithionin, Desferroksamin, Dimethylthiourea, Alfa-ketohidroksipiridine
II.Makromoleküller (Metal iyonunu bağlayanlar)	5.Sitokinler :
1.Seruloplazmin	TNF ve İnterlökin I
2.Transferrin	6.Ksantin oksidaz inhibitörleri:
3.Ferritin	Allopurinol, Oksipurinol, Tungsten
4.Hemoglobin	7.Mannitol
5.Myoglobin	8.Barbitüratlar
III.Mikromoleküller (Enzim olmayanlar)	9.Flavonoidler
1.E vitamini ve analogları	10.Trimetazidin
2.C vitamini	11.İndopamid
3.Thiol içerenler	<u>C.GIDA ANTIOKSİDANLARI</u>
-Glutatyon	1.Butylated hydroxitoluene (BHT)
-N. Asetil Sistein	2.Butylated hydroxianisole (BHA)
-Metionin	3.Sodyum benzoat
-Kaptopril	4.Ethoxiquin
4.A vitamini-Beta karoten	5.Propyl galate
5.Ürik asit	6.Fe süperoksit dismutaz
6.Ubiquinon	

Scavenger etki yapan doğal enzimler hücrede, stoplazmada, mitokondride buldukları gibi ekstra selüler kompartmanda da bulunurlar (Freeman ve Crapo 1982, Packer ve Landvik 1990, Cheeseman ve Slater 1993, İsbir 1994).

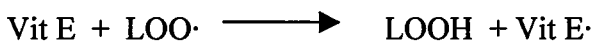
2.6. Antioksidan Tepkimeler ve Antioksidanlar

Organizmada sürekli bir oksidan molekülü yapılır ve bu moleküller doğal endojen enzimlerle ilk basamakta etkisiz hale getirilmektedirler. Dolayısıyla bu basamağa "endojen enzimler basamağı" denir.

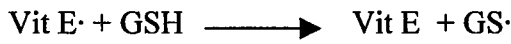
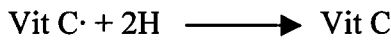


İki süperoksit, dört hidrojen ve dört elektron ile birleşip iki molekül suya veya iki hidrojen ile reaksiyona girip daha zayıf oksidan olan hidrojen peroksite dönüştürülür. Bu reaksiyonda SOD ve stokrom C oksidaz enzimleri katalizördür. Normal koşullarda mitokondrilerde bulunan stokrom sistemi, hücre içi stoplazmik yapıları sürekli olarak oksidanların zararlı etkilerinden korumakta, bunun yetersiz kaldığı durumlarda, SOD ve diğer doğal enzimler devreye girerek yardım etmektedirler (Marklund 1990, Özdemir 1993).

H_2O_2 ise katalaz enzimi katalizörlüğünde su ve oksijen moleküllerine dönüştürülür veya GSHaz enzimi aracılığıyla glutatyon molekülü ile etkileşime girer ve su molekülüne dönüşür. Glutatyon ise redükte hale (GSSG) gelir (Stryer 1988, Lunec ve Blake 1990). Bu sırada doku hasarının olduğu bölgede doğal enzimlerden kaçabilmiş olan oksidan moleküller hücre veya kapiller membranındaki lipidleri etkileyerek lipid peroksidasyonunu başlatırlar. Azda olsa başlamış olan bu reaksiyonun artmaması için engelleyici mekanizmalar devreye girer.



Doğal enzimlerden kaçan oksidan moleküllerle, scavenger etkileri olan küçük moleküller mücadele ederler. Akut dönemde azda olsa başlayan lipid peroksidasyonu ile açığa çıkan LOO·, lipofilik özelliğinden dolayı membranda erimiş halde bulunan vit E ile reaksiyona girer ve daha zayıf oksidan olan LOOH'ya, vit E ise yine zayıf radikal etkinlikli radikal vit E· 'ye dönüşür. Ortamda yeterli düzeyde bulunan GSH, LOOH ile reaksiyona girer ve onu etkisizleştirirken yine ortamda bulunan vit C zayıf oksidan molekül olan radikal vit E· 'yi tekrar aktif vit E 'ye dönüştürür. Kendisi ise zayıf oksidan olan radikal vit C· 'ye dönüşür. Radikal vit C· ise iki hidrojen ile reaksiyona girerek tekrar aktifleşir.



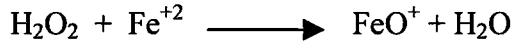
Radikal vit E· ortamda vit C bulamazsa GSH ile reaksiyona girerek aktif vit E 'ye dönüşür. Ancak bu reaksiyonda oldukça önemli olan GSH harcanacağından vit C'nin ortamda yeterince bulunması çok daha yararlı olacaktır, çünkü GSH hem akut dönemde oluşan LOOH için hem de daha sonraki aşamada oluşacak olan hidrojen peroksid ve ·OH'nin etkisiz hale getirilmesi için gereken önemli bir moleküldür. Radikal vit E· miktarı aşırı hale gelir veya vit C yetersiz olursa, radikal vit E· LOOH ile reaksiyona girer ve onu daha kuvvetli radikal olan LOO· 'ya dönüştürür (Lunec ve Blake1990, Packer 1991).



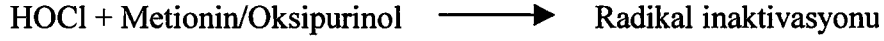
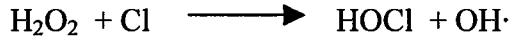
Vit C'nin direkt olarak O· ve OH· radikallere scavenger etki gösterdiği vurgulanmıştır. İskemi ve enflamasyon bölgesinde akut dönemde veya reperfüzyon döneminde doğal enzimler ve GSH miktarı yetersiz ise, O₂· ve H₂O₂, ortamda serbestleşmiş halde bulunan Fe⁺³ veya Cu⁺² katalizörlüğünde birbirleriyle reaksiyona girerek en güçlü radikal olan OH· molekülünü oluştururlar. Bu reaksiyona Haber-Weiss reaksiyonu denir (Freeman ve Crapo 1982, Halliwell ve Gutteridge 1990, Sies 1991).



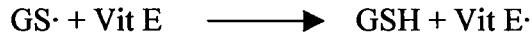
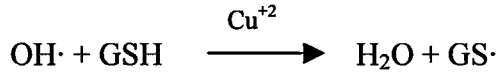
O₂· radikali doğrudan Fe⁺³ ile reaksiyona girer ve oluşan Fe⁺² ile H₂O₂ etkileşerek OH· molekülü oluşur. Bu reaksiyona da Fenton Reaksiyonu denir. Bazen H₂O₂ ile Fe⁺² 'nin etkileşimi OH· radikalinin oluşumu ile sonuçlanmayıp FeO⁺ (ferril demir) molekülüne dönüşüm ile sonuçlanabilmektedir. Buna da "Alternatif Reaksiyon" denir.



H₂O₂ molekülünün etkisiz hale getirilmesinin diğer bir yolu, ortamda klor, metionin ve oksipurinol gibi maddelerin bulunmasına bağlıdır.



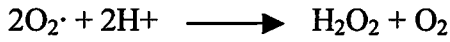
En etkili ve en zararlı radikal olan OH· molekülünün inaktivasyonu yanında özellikle akut dönemde veya reperfüzyon sırasında GSH'dan başka vit E ve vit C'nin birlikte ve yeterli düzeyde bulunmaları, nekrozun yayılmasının engellenmesinde oldukça önemlidir (Özdemir 1993).



Memeli hücrelerinde radikallerin detoksifikasyonunda rol alan süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz (CAT) olmak üzere üç enzim vardır. Bunlar, antioksidan savunma sisteminin önemli bir kısmını oluştururlar. Bu enzimler, antioksidan etkilerini serbest radikal üretimini etkilemeden gösterirler (Niki 1987).

2.6.1. Süperoksit dismutaz

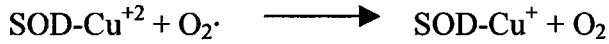
Mc Cort ve Fridovich tarafından ilk olarak 1968 yılında tanımlanan SOD (Ec:1.15.1.1, Ec-SOD) enzimi süperoksitin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler. Hücresel fragmanlardaki enzim hücrede birkaç değişik kompartmanda bulunur ve süperoksit seviyesini kontrol etmede önemli rol oynar (Beckman ve ark 1973, Stryer 1988, Marklund 1990, Halliwell 1994).



Süperoksit bu reaksiyonda hem oksidan hem de redüktan olarak hareket eder. Dokularda süperoksitin kimyasal etkisi serbest radikal zincir reaksiyonları tarafından kuvvetlendirilir. Enzimin fizyolojik fonksiyonu oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit radikallerinin zararlı etkilerinden koruyup lipid peroksidasyonunu engellemektir (Niwa ve ark 1990). Bu reaksiyon spontan olarak oluşabilir. Ancak SOD enzimi sayesinde hızı 4000 kat daha hızlı gerçekleşir. Enzim hücrelerde birkaç değişik kompartmanda bulunur. Bunlardan sitozolik enzim her biri içerisinde bir eq (ekivalan) Cu⁺² ve Zn⁺² taşıyan birbirine benzer iki alt üniteden meydana gelir (Cu-Zn SOD). Halbuki

mitokondriyal enzim sadece Mn ihtiva eder (Mn-SOD). Hücrede en çok bulunan izomer sitozolik Cu-Zn SOD'dur. Cu-Zn SOD 21 nolu kromozomda, Mn SOD ise 6 nolu kromozomda lokalizedir (Freeman ve Crapo 1982, Flohe ve Ötting 1984, Matkovics ve ark 1985). Her iki SOD'nin katalizlediği reaksiyon aynıdır. Ancak Cu-Zn SOD siyanid ile inhibe edilebilirken, Mn SOD siyanid ile inhibe edilemez (Salin ve McCord 1974).

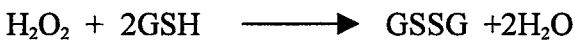
Yüksek oksijen kullanımı olan dokularda SOD aktivitesi fazladır ve doku PO₂ artışı ile artar. SOD'un ekstraselüler aktivitesi çok düşüktür. Normal metabolizma sırasında hücreler tarafından yüksek oranda SOR oluşurken intraselüler SOD düzeyleri düşük tutulur (Beckman ve ark 1973, Lunec ve Blake 1990). Süperoksit anyonu Cu⁺² ve bir arginin rezidüsünün guanido grubuna bağlanır. Bu bağlanma sonucunda süperoksitten bir elektron Cu⁺²'ye geçer, sonuçta Cu⁺ ve moleküler oksijen meydana gelir. İkinci bir süperoksit anyonu Cu⁺ 'dan bir elektron, bağlanma ortağından ise iki elektron alarak H₂O₂ oluştururken enzim tekrar Cu⁺² formuna dönüşmüş olur (Stryer 1988).

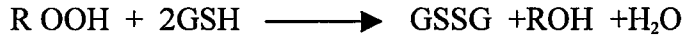


Fagositer granülositlerin fonksiyonu için SOD çok önemlidir. Bakterilerin fagositer granülositler tarafından öldürülmesinde önemli rol oynar. Lenfositlerde granülositlerden daha fazla miktarda SOD bulunur (Kobayashi ve ark 1977). Bazı araştırmacılara göre polimorf nüveli lökositler (PNL) tarafından artmış süperoksit salınımı, PNL'lerin süperoksit toplayıcı aktivitesinin azalmasından sorumlu olabilir. Antifagositik aktivitesi olan kolşisinin PNL'de süperoksit üretimini bloke ettiği, süperoksit toplayıcı aktivitenin azalmasını önlediği gözlenmiştir (Rister ve ark 1978, Hiramatsu ve Arimori 1988, Pronai ve ark 1991).

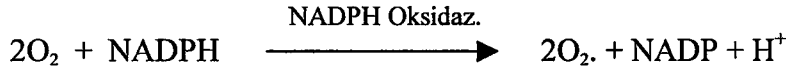
2.6.2. Glutatyon peroksidaz

Hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu olan glutatyon peroksidazın yapısında dört atom selenyum bulunur. Bu, önemli bir kısmını oluşturur ve bir çok dokuda bulunan majör sitozolik selenyumlu enzimdir (Flohe ve Ötting 1984, Lunec ve Blake 1990, Spallholz 1990,). Bu enzim redükte glutatyonu (GSH) H₂O₂ karşısında oksitlenmiş glutatyon (GSSG) çevirir. Bu enzim bünyesindeki selenyum sayesinde yağ asidi hidroperoksitlerinin ve hidrojen peroksidin yıkılmasını sağlar :

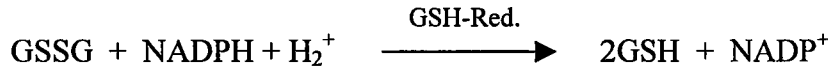
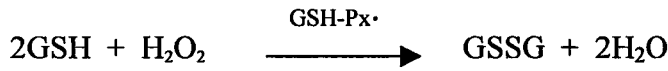




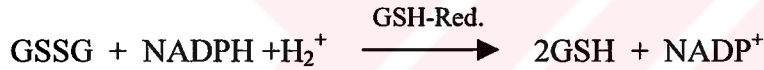
Heksoz monofosfat şantında elektron alıcısı olarak NADP görev yapar. İlk olarak “Respiratuar Burst” (solunumsal patlama) sırasında elektron vericisi olarak NADPH kullanılarak oksijenin süperokside indirgenmesi sonucu NADP üretimi artar.



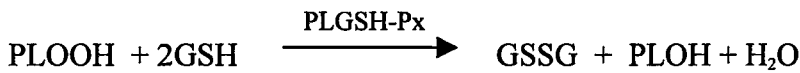
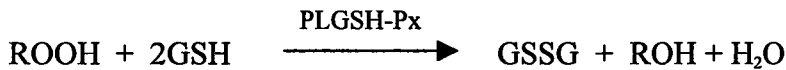
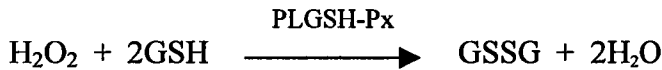
NADP'nin diğer kaynağı hidrojen peroksitin detoksifikasyonundan sorumlu olan glutatyon peroksidaz-glutatyon redüktaz sistemidir (Babior 1984). Ayrıca hidroperoksitlerin redükte olmasıyla meydana gelen GSSG glutatyon redüktaz aracılığıyla GSH'a dönüşür.



Hidroperoksitlerin redükte olmasıyla meydana gelen GSSG Glutatyon redüktaz aracılığıyla GSH'a dönüşür.



Fosfolipid hidroperoksit glutatyon peroksidaz (PLGSHPx), molekül ağırlığı 20000 dalton olan, monomerik, selenyum atomu ihtiva eden, sitozolik bir enzimdir. Membran fosfolipit hidroperoksitlerini alkollere indirger (Spallholz 1990).



Vit E, membrana bağlı en önemli antioksidandır ve sınırlı olduğu zaman PLGSH-Px membranın peroksidasyona karşı korunmasını sağlar (Spallholz 1990). Yani vit E ve GSH-Px 'in bünyesindeki peroksidasyonu önlemede esas rol alan kısmı olan selenyum ile sinerjetik etki gösterir. Böylece birbirlerinin vücut gereksinimlerini azaltırlar. Yapısında selenyum bulunduran GSH-Px hücre hasarı oluşturan peroksitlere karşı bir savunma hattı

oluşturur. Ayrıca vit E, vücuttan kaybını engellemek veya aktif formdaki devamlılığını sağlamak suretiyle organizmanın selenyum ihtiyacını azaltmaktadır (Pryor ve Castle 1984, Leonard ve Watson 1986).

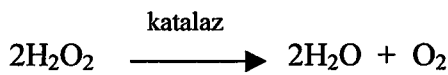
GSH-Px'in selenolat formu (E--Se-) peroksit substratını alkole indirger iken, kendisi okside senik aside dönüşür (E-Se-OH). Glutasyon bu evrede reaksiyona girerek selenosülfite oluşturur (E-Se-S-G). İkinci bir glutasyonun selenosülfite bağlanması ile enzim, aktif formu olan selenofat formuna dönerken, glutasyon okside hale dönüşür (Spallholz 1990).

GSH-Px'in fagositik hücrelerde önemli fonksiyonları vardır. Diğer antioksidanlarla birlikte GSH-Px sonumsal patlama sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmelerini engeller (Spallholz 1990). GSH-Px aktivitesindeki azalma H₂O₂'nin artmasına ve hücre hasarına yol açar (Kashiwagi ve ark1994).

GSH-Px aktivitesi yaşlıların lökositlerinde düşük, eritrositlerinde yüksek, esansiyel hipertansiyonlu hastaların lökositlerinde ise düşük bulunmuştur (Kobayashi ve ark 1977, Matkovic ve ark 1985, Forslid ve ark 1989, Ceballos ve ark 1992, Niwa ve ark 1993).

2.6.3. Katalaz

Katalaz (CA), H₂O₂: H₂O₂ oksidoredüktaz, EC 1.11.1.6) 4 tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Görevi, hidrojen peroksidi oksijen ve suya parçalamaktır. Peroksidaz aktivitesine sahip oluşuna ek olarak, bu enzim bir molekül hidrojen peroksidi elektron verici bir substrat olarak diğerini de oksidan veya elektron alıcısı olarak kullanabilir. Peroksidazlarda lokalizedir (Gaetani ve ark 1989).



2.6.4. C vitamini

C vitamini (askorbik asit), kapalı formülü, C₆H₈O₆ olan bir ketolaktondur. Suda eriyebilir vitaminlerden olan askorbik asit, özellikle yeşil renkli taze sebze, meyve ve turunçgillerde bol miktarda bulunur (Niki 1991, Akkuş 1995).

Normal plazma miktarı %0.6 - 1.5 mg. kadardır. Lökositlerde ise bu miktar %16 mg. kadardır. Günlük askorbik asit miktarı yaşa ve cinse göre, değişiklik gösterir (Taner 1975, Koen ve ark 1977). İnsanda C vitamini seviyesini anlamak için plazma ve lökosit askorbat konsantrasyonları ölçülür. Lökosit konsantrasyonlarının ise C vitamininin doku depolarını

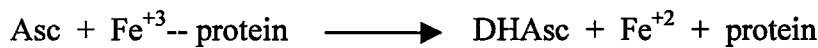
yansıttığına inanılmaktadır. Lökosit askorbik asit (LAA) seviyeleri plazma seviyesinden 25-80 kat daha yüksektir (Baggiolini 1980, Evans ve ark 1982, Markert ve ark 1984, Jacob ve ark 1987, Murata 1991, Doğan ve ark 1994). Bazı hastalıkların etyopatogenezinin açıklanmasında LAA seviyesinin bilinmesi önemlidir. C vitamini eksikliği olan hayvanlardan elde edilen lökositlerde frajilitenin arttığı ve fagositozun bozulduğu tesbit edilmiştir (Evans ve ark 1982).

C vitamini fagositoz için oldukça önemlidir. Oksidatif patlama sırasında nötrofiller C vitamini alırlar ve aktivasyonu takiben C vitamini konsantrasyonları azalır. C vitamini eksikliği olan hayvanların lökositlerinde kemotaksis ile bakterisidal aktivitenin deprese olduğu gösterilmiştir. Sağlıklı kişilerde C vitamini alımı kemotaktik cevabı artırır (Bendich 1990).

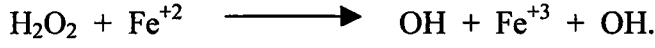
Çok güçlü indirgeyici bir ajandır. Bu özelliği yapısındaki 2. ve 3. karbonlara bağlı hidrojen iyonlarını kolaylıkla vermesinden kaynaklanır (Taner 1975, Klebanoff ve ark 1982, Lunec ve Blake 1990, Vera ve ark 1994). Güçlü redüktan etkisi nedeniyle aynı zamanda iyi bir antioksidandır. Süperoksit ve OH radikali ile kolayca reaksiyona girer (Klebanoff ve ark 1982, Lunec ve Blake 1990). İnsan lökositleri dehidroaskorbati yakalar ve hızla askorbik aside indirger. Bunun sonucu heksoz monofosfat şantı aktive olur (Evans ve ark 1982).

Askorbik asit (AA) organizmada bir çok hidroksilasyon reaksiyonlarında indirgeyici ajan olarak rol oynar. AA kollajen sentezinde lizin hidroksilaz ve Prolin hidroksilaz enzimleri için kofaktör olarak görev yapar (Taner 1975, Cameon ve Pauling 1979, Lunec ve Blake 1990, Niki 1991, Vera ve ark 1994, Doğan ve ark 1994).

Trozin yıkılımlında P hidroksi fenil piruvatın homojentisata oksidasyonu, maksimal aktivite için lüzumlu olan indirgenmiş bakırı bu hali ile muhafaza edebilen AA'e gereksinim gösterir (Lunec ve Blake 1990, Niki 1991, Doğan ve ark 1994). Bunun ardından gelen basamağı, yine AA'e ihtiyaç gösteren ferröz demir (Fe^{+2}) içerikli bir enzim olan homojentisat dioksijenaz katalizler. AA süperoksit radikali gibi ferri demiri ferröz demire indirger.



Bu reaksiyondan sonra AA proteine bağlı ferri demiri (Fe^{+3}) fenton reaksiyonunda H_2O_2 ile etkileşmeye müsait olan ferro demire (Fe^{+2}) dönüştürür. Böylece serbest radikal reaksiyonunun önemli bir katalizatörüdür (Lunec ve Blake 1990).



Safra asiti oluşumunda kolesterolün 7- α - hidroksilasyonu ilk basamaktır ve AA'e ihtiyaç gösterir (Davies ve Newson 1974, Ginter 1979, Lunec ve Blake 1990, Niki 1991, Doğan ve ark 1994).

AA varlığında demir emilimi belirgin olarak artar. Enzimatik olmayan bir yol ile midede ferri demirin ferro demire indirgenip, absorbe edilmesinde rol alır (Jacob ve ark 1987, Lunec ve Blake 1990, Niki 1991).

Oksidasyon-reduksiyon reaksiyonlarında ve hücre solunumunda önemli rol oynar (Beattie ve Sherlock 1976, Vera ve ark 1994). Sigara içenlerde, koroner arter hastalığı olanlarda ve kanserli hastalarda plazma AA düzeyinin normalden düşük olduğu kaydedilmiştir (Lunec ve Blake 1990, Murata 1991, Akyüz ve ark 1993, Babette ve Weksler 1993). AA- DHAs \dot{c} . Sistemi dokulardaki oksidasyon-reduksiyon reaksiyonlarının optimal düzeyde devamını sağlar (Chappell ve ark 1988).

Askorbik asit, başta adrenal korteks steroid hormonları olmak üzere steroid hormon biyosentezinde rol alır. Adrenalin gibi bazı hormonların oksidatif olarak tahribini önler (Taner 1975). Ayrıca stres esnasında da bu bezde AA'in arttığı gözlenmiştir (Porter 1984, Pryor ve Castle 1984, Blake ve ark 1993).

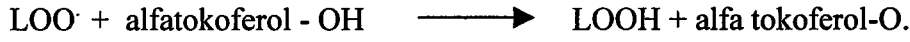
2.6.5. E vitamini

Dokularda en önemli zincir kırıcı antioksidan olan E vitamini, lipit peroksidasyonuna karşı ilk sırada yer alan korunma mekanizmasıdır. Erken dönemde serbest radikalleri tutarak, hücre membranlarına zarar vermelerini engeller (Horwitt 1986, Kurian ve ark 1988). Plazma E vitamini seviyeleri sıklıkla ölçülmekte ve normal populasyonlarda 0.5-1.6 mg/dl düzeyinde ortaya çıkmaktadır (Cheeseman ve Holley 1993).

E vitamini, süperoksit ve hidroksil radikallerini, singlet oksijen, lipit peroksi radikallerini ve diğer radikal örneklerini indirger (Freeman ve Crapo 1982, Packer ve Landvik 1990, Packer 1991, Mayes 1993, Gey 1993).

Hücre membranlarındaki düşük konsantrasyonlarına karşılık, tabiatta bulunan en etkili yağda eriyen antioksidandır (Burton ve ark 1982). Hücre membranı içindeki doymamış yağ asitlerini korur. Artmış vitamin E alınımı immun cevapları güçlendirmektedir. Bu özelliği vücudun kansere karşı savunması ile ilgili olabilir.

E vitamininin insan granüositlerindeki NADP oksido-redüktaz enzim sisteminin selektif bir inhibitörü olduğu kaydedilmiştir (Lunec ve Blake 1990). E vitamini lipit peroksil radikallerini (LOO[·]) parçalamak ve böylece lipit peroksidasyon zincir reaksiyonlarını sonlandırmak suretiyle antioksidan etki gösterir (Marklund 1990, Özdemir1993).



E vitamininin, nükleik asit ve protein metabolizmasında, mitokondriyal fonksiyonlar ve hormonal üretimde de rolü olduğu gösterilmiştir. Ayrıca glutatyon peroksidaz enziminin bir parçası olan selenyumun tutulmasında önemli rol oynamaktadır (Pryor ve Castle 1984, Leonard ve Watson 1986).

2.6.6. Diğer antioksidanlar

Belli başlı diğer antioksidanlar ve özellikleri Tablo 2.5’de gösterilmiştir (Özdemir 1993).

Tablo 2.5. Majör antioksidanlar ve özellikleri

Antioksidan	Yapısı	Bulunduğu yer	Özellikleri
Glutatyon redüktaz	Dimerik protein	Sitozol, mitokondri	GSSG’yi GSH’ye dönüştürür
Beta karoten	Vit A metabolit prekürsörü	Membranlarda	.O ₂ scavenger’i, Direk peroksillere etkili
Bilirubin	Hemoprotein metabolizma ürünü	Kan ve doku	Reaksiyon zincirini kırar, LOO [·] ’yu inaktive eder
Ürik asit	Ksantin oksidasyonu	Yaygındır	.O ₂ , .OH ve peroksil scavenger’i Vit C’nin oksadasyonunu engeller
Glukoz	Karbonhidrat	Yaygındır	.OH scavenger’i
Sistein	Amino asit	Yaygındır	Elektron vererek organik molekülleri indirger
GSH	Tripeptid	Hücre içi ve alveoller	.O ₂ , .OH’ye direk etkili, enzimler için substrat
Taurine	Beta amino asit	Radikal salgılayan hücrelerde	HOCl ile reaksiyon, ksenobiotiklere bağlanır
Trakeobronşial mukus	Protein ve glikoprotein	Üst solunum yolları	İnhale edilen oksidanlara scavenger etki
Albumin	Protein	Yaygın	Transition metalleri bağlar

2.7. Larinks Kanseri

Larinksten kaynaklanan malign neoplazmların büyük bir çoğunluğu (% 90-95) yassı hücreli karsinomdur. Dünya genelinde larinks karsinimleri, bütün kanserlerin % 1-2'sini oluştururlar. Birleşik Devletler'de 1997 yılında 10900 yeni vaka teşhis edilmiş ve bu hastalıktan 4230 ölüm meydana geldiği bildirilmiştir. Yine Birleşik Devletler'de laringeal kanserler, dudakla ilgili kanserlerden 4 kat daha fazla görülmekte ve dudak kanseriyle ilişkili ölümlerden 41 kat daha fazla ölüm meydana getirmektedir. Dil ile ilgili kanserlerden ise yaklaşık 2 kat daha fazla görülmekte ve laringeal kanserlere bağlı ölümlerin, dil ile ilişkili kanserlerden dolayı meydana gelen ölümlerin 2 katından fazla olduğu bildirilmiştir (Parker ve ark 1997).

Larinks karsinimleri erkeklerde kadınlardan 3,5 kat daha fazla görülmekle birlikte son yıllarda kadınlardaki insidansın arttığı bildirilmiş ve bunun kadınlar arasındaki sigara tüketiminin artmasının bir göstergesi olabileceği düşünülmüştür (Parker ve ark 1997).

Dünyanın farklı bölgelerinde larinks karsinimlerinin yaş ve cinsiyet insidanslarında belirgin değişiklikler görülmesi, çevresel etkilerin patogeneizde önemli rol oynadığını düşündürmektedir. Tütün ve alkolün, özellikle birlikte kullanıldıklarında bu hastalık için potent risk faktörleri oldukları bildirilmiştir (Falk ve ark 1989, Muscat ve Wynder 1992). Tütün tek başına alkolden daha önemli bir risk faktörüdür. Alkol tütünlle ilişkili kanserleri potansiyelize etmekle birlikte, kendisi de başlı başına bir risk faktörüdür. Sigara içmeyenler içinde laringeal kanserlerin insidans ve mortalitesinin nispeten düşük olması ve laringeal kanserli hastalar içinde sigara içmeyenlerin oranının düşük olması, sigara kullanımının patogeneizde önemli bir rolü olduğunu düşündürmektedir (Wynder ve ark 1976). Sigara alışkanlığının akciğer kanserinin en önemli sebeplerinden biri olduğu ve laringeal kanser gelişiminde önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir. Bununla birlikte bazı araştırmacılar, larinks ve akciğer kanserlerinin coğrafi dağılımlarının değişik olabileceğini ve bu değişikliğin, akciğer kanserinden çok larinks kanseri oluşturmada sinerjik etki gösteren alkol tüketimindeki farklılıklara bağlı olabileceğini bildirmişlerdir (Doll 1982).

Bir araştırmada larinks kanserlerinin insidansının kırsalda yaşayanlara oranla şehirlerde yaşayanlar arasında daha yüksek olduğu bulunmuş ve bu farkın şehirlerde alkol ve sigara kullanımının daha çok olmasına bağlı olabileceği öne sürülmüştür. Bunun yanında günümüzde yüksek laringeal kanser riskiyle ilişkili olduğu düşünülen iritan maddelere mesleki olarak maruz kalma oranı şehirlerde daha yüksektir (Ramadan ve ark 1982). Mesleki risk faktörleri olarak kereste tozu kömür ve katran ürünleri (Maier ve ark

1992), deri ve deri ürünleri (Decoufle 1979), boya maddeleri, eksoz dumanı (Brown ve ark 1988) sayılabilir.

Beslenme alışkanlıkları da laringeal kanser patogenezinde rol oynayabilir. Epidemiyolojik çalışmalar, beta-karoten alımının koruyucu olabileceğini göstermiştir ve sebze-meyve tüketimiyle laringeal kanser insidansı ters orantılıdır (La Vecchia ve ark 1990).

Geçmiş birkaç yıl içinde larinks ve baş-boyun bölgesindeki diğer yassı hücreli karsinoma vakalarındaki karsinogenezisin değişik safhalarında sitogenetik kanıtlar elde edilmiştir. 3p ve 18q kromozomlarında bozulmalar (Cowan ve ark 1992), ilaveler ve yeniden düzenlenmeler belirlenmiş (Cowan ve ark 1992, Kaya ve ark 1990), bazı laringeal karsinomalarda epidermal büyüme faktörü reseptör geni (c-erb-B)'de amplifikasyon ve over-ekspresyon bulunmuştur (Irish ve Bernstein 1993). Laringeal yassı hücreli karsinomaların yaklaşık % 60'ında bir tümör baskılayıcı gen olan p53'de mutasyonlar görülmüştür (Maestro ve ark 1992).

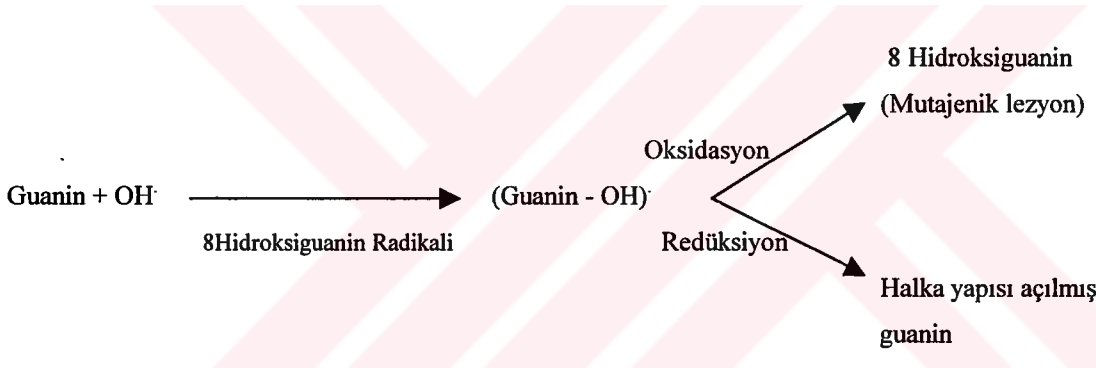
2.8. Serbest Radikallerin Kanser Oluşumundaki Roller

Serbest radikallerin zararlı etkileri molekülde, organelde ve hücre düzeyinde olabilmektedir. Bu zararlı etkiler enzim inaktivasyonu, membran harabiyeti ve diğer değişikliklerle hücresel fonksiyonu etkilemektedir (Doğan ve ark 1989). Birçok karsinojen maddenin hücre etrafındaki oksidan stresi artırarak kansere sebep olduğu ileri sürülmektedir (Guyton ve Kensler 1993). Serbest radikal üreten birçok bileşiğin, peroksit ve hidroperoksitlerin, in vivo tümörleri ilerlettikleri gösterilmiştir. Aktif oksijen türlerinin üretimini artıran demir gibi geçiş metallerinin kullanımı hayvanlarda ve insanlarda kanser gelişimi ile korelasyon göstermektedir. Nikel ve krom da benzer etkiye sahiptir (Guyton ve Kensler 1993).

Radyasyonun karsinogenezdeki etkisinin temelinde DNA hasarı olduğu varsayılmaktadır. Kanser oluşumunda DNA'daki direkt etkilerden ayrı olarak X ve γ ışınları dokularda serbest radikallerin oluşmasına neden olur. Sonuçta meydana gelen hidroksil, süperoksit ve diğer radikaller DNA ve diğer başka makromoleküller ile etkileşerek moleküller hasara yol açar ve böylece ışınlama enerjisinin karsinogenik etkilerine katkıda bulunur (Robert ve Murray 1991).

İnsanlar ve hayvanlarda inflamasyon ve karsinogenezis arasında kuvvetli bir ilişki vardır. PNL'ler formol esterlerine maruz bırakıldıklarında fazla miktarda O ve H₂O₂ gibi

reaktif oksijen türleri ile araşidonik asitin okside ürünlerinin salındığı bildirilmektedir. Formol esterlerinin, oksidanların fazla miktarda salınmasına neden olarak epidermal hücrelerde DNA hasarını uyarabileceği ileri sürülmüştür (Adams ve Lewis 1987, Fulton ve ark 1989). Tümör promotörleri ile hızla aktive olan PNL'ler, fazla miktarda aktif oksijen türlerini oluşturmak suretiyle komşu hücrelerin makromolekülleri (DNA'yı da kapsayan) üzerinde zararlı etkiler gösterirler ve DNA zincir kırılması uyarılır. Bu tip DNA hasarında oksijen türlerinde H_2O_2 sorumlu tutulmaktadır. H_2O_2 kendisi DNA ile ilişki kurmamakta fakat DNA'yı etkileyecek ($HOCl$, O^\cdot ve OH^\cdot) diğer molekülleri oluşturmaktadır. H_2O_2 metal iyonları varlığında OH radikali oluşturur. Bu da DNA kromatinlerin proteinlerini etkileyerek DNA kırılmasına neden olur. Pürin ve pirimidin bazlarına saldırarak mutasyonlara sebep olurlar. Oksidatif stresten en çok etkilenen bazlar DNA'daki guanin ve sitozindir. Deoxiguanozindeki 8 numaralı karbona bir oksijen atomunun bağlanması ile hidroxiguanozin oluşur. Bu bileşik fizyolojik pH'da 8 oxoguanozine dönüşür ki bu da DNA da anormal baz dizilişine ve böylece mutasyonlara neden olur (Şekil 2.4) (Akkuş 1995).



Şekil 2.4. Hidroksil radikalının DNA'ya etkisi

Guanindeki halka yapısının açılması DNA replikasyonunu durdurur ve bu bileşiğin DNA'yı tamir edici enzimler tarafından ortadan kaldırılması yeni bozukluklara sebep olur (Akkuş 1995).

Reaktif oksijen türlerinin en önemli intraselüler kaynağı mitokondridir. Mitokondrial DNA, ROP ile ağır hasar görür. Peroxide mitokondrilerin DNA ekstraktlarında mutasyonlara neden olan 8 hidroksiguanin içeriğinin önemli derecede arttığı gösterilmiştir (Richter 1992, Hrusckewycz 1992).

Lipid peroksidasyonu ile uyarılan DNA harabiyetinin karsinogenezise neden olabileceğini açıklayan mekanizmalar vardır. Lipid peroksidasyon ürünleri ve DNA arasındaki ilişki mutasyonların bir kaynağı olarak biyolojik bakımdan önemli olmaktadır.

Mutajenlere ve karsinojenlere karşı savunma mekanizmalarının en önemlisinin oksijen radikalleri ve lipid peroksidasyonuna karşı yapılan işlemler olduğu bildirilmektedir. Bunlar arasında antioksidanlar önemli rol oynarlar (Knuutila1984, Vaca ve ark 1988).

Lipid peroksidasyon ürünleri ile reaksiyon sonucu prekarsinojenlerin son karsinojenlere aktivasyonu tesbit edilmiştir. N hydroxi -N asetil amino fluorene'nin aktivasyonu buna örnektir. Linoleik asit, hidroperoksid ve katalitik olarak aktif demirin bulunduğu reaksiyon sistemi içerisinde 2 nitrosofluorene ve N asetoksi -N-asetil-2 amino fluoren olmuştur (Floyd ve ark 1976).

Malondialdehid ve lipid peroksidasyonunun diğer aldehytik ürünlerinin mutajenik etkisi invitro çalışmalarda gösterilmiştir. Lipid peroksidasyonuyla oluşan DNA hasarı ve karsinojenezisin başlama ve ilerlemesi arasındaki ilişkinin varlığını gösteren kanıtlar vardır (Vaca ve ark 1988).

Lipidler DNA ve RNA polimeraz aktivitesini de etkilerler. Karsinojenezisin erken basamaklarında lipid antioksidatif özelliklerinin değişmesinden dolayı fosfolipidlerde olan değişiklikler normal hücreninkinden farklıdır. Lipid kompozisyonu ile enzim aktivasyonu arasındaki bağ kolay etkilenmez. Ancak bu bağdaki bozukluk sadece tümör oluşumundan önceki son evrelerde görülür (Burlakova ve ark 1980).

Lipid peroksidasyon ürünlerinin karsinojenik etkileri ve DNA hasarında 8 hidroksideoksi guanozin (OH Gua) 'nin oluşumu önemli bir faktör olarak görülmektedir, çünkü OH Gua gen ifadesini değiştirmekte ve mutasyonlara neden olmaktadır (Griffith ve ark 1993).

Oksijen metabolizması tümörlerde normal olmayıp oksijen toksisitesine başlıca sebebin antioksidan savunmada azalmanın olabileceği ileri sürülmektedir (Casali ve ark 1988). Lipidlerin oksidatif reaksiyonlarının hızı, lipid kompozisyonu ve lipide bağımlı enzimlerin miktarı arasındaki korelasyon, karsinojenlerle bozulmaktadır. Kimyasal karsinojenlerin bu etkisi glukoz 6 fosfataz ve sitokrom P₄₅₀ modelleri seçilerek araştırılmıştır. Glukoneojenezisin anahtar enzimlerinden olan glukoz 6 fosfataz lipide bağımlı bir enzimdir. Aktif glukoz 6 fosfataz fosfatidil etanolamine gereksinim duyar. Antioksidanlarla veya karsinojenlerle muamele edildiğinde glukoz 6 fosfataz aktivitesindeki değişiklikler ile fosfatidil etanolamin konsantrasyonu arasında kuvvetli bir korelasyon bulunmuştur. Benzer bir ilişki pirofosfataz glukoz 6 fosfataz ve fosfatidil serin arasında da izlenmiştir (Burlakova ve ark 1980).

3. MATERYAL ve METOD

3.1. MATERYAL

3.1.1. Hasta gruplarının seçimi

Bu çalışmada, Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak-Burun-Boğaz servisinde yatan ve tedavi amacıyla opere edilen 10 adet larinks kanserli hastadan operasyon sırasında alınan kanser dokusu ve cerrahi sınıra ait sağlam kontrol dokusu kullanıldı. Bu hastalar haricinde Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız-Diş-Çene Hastalıkları ve Cerrahisi A.D. kliniğine kronik total protez irritasyonu sonucu gelişmiş oral mukozaya ait fibröz hiperplazik kitlelerin eksizyonu için başvurmuş 10 hastadan elde edilen dokular ikinci kontrol grubu olarak kullanıldı.

Larinks kanserlilerin oluşturduğu gruptaki 10 hastanın yaşları 43 ile 76 arasında değişmektedir (ortalama 60.2). Hastaların hepsi erkektir ve 30-60 yıllık 1-2 paket/gün sigara ve nadiren de alkol kullanıcısıdır. Hastaların tümü yassı hücreli kanserdir ve hiçbiri cerrahi tedavi öncesi radyoterapi veya kemoterapi görmemiştir. 1 hasta daha önce opere olmuş ve nüks meydana gelmiştir.

Fibröz hiperplazi grubu da 10 hastadan oluşmaktadır. Yaşları 40-69 arasında değişmektedir (ortalama 56.1). Hastaların dördü erkek, altısı ise bayandır ve tümü 1 paket/gün olmak üzere sigara kullanıcısıdır. Bu gruptaki hastaların hiçbirinde alkol alışkanlığı yoktur ve hiçbiri herhangi bir sebeple radyoterapi veya kemoterapi görmemiştir.

Elde edilen kanseröz dokular, aynı hastalardan alınan nonkanseröz komşu dokular ve fibröz hiperplazik dokular, kullanılıncaya kadar küçük tüpler içinde -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.1.2. Kullanılan cihazlar

- | | |
|-----------------------------|---|
| 1- Derin Dondurucu | : Esarsan |
| 2- Ultrasonik Homojenizatör | : Misonix Incorporated,
Model XL 2007, Seri No: M 7084 |
| 3- Soğutmalı Santrifüj | :Hettich Universal 30 RF |
| 4- Otoanalizör | :Technicon RA-XT |

3.1.3. Kullanılan kimyasal maddeler

1 - Süperoksit Dismutaz tayini için kullanılanlar:

-Superoxide Dismutase Kiti: Randox-Ransel

2 - Glutasyon Peroksidaz tayini için kullanılanlar:

-Glutathione Peroxidase kiti:Randox-Ransel

-Potasyum siyanür (KCN), Merck

-Potasyum ferri siyanür (K₃Fe(CN)₆), Merck

-Sodyum bikarbonat (NaHCO₃), Merck

3 - Protein tayini için Olympus marka kit (OSR 6170).

3.2. METOD

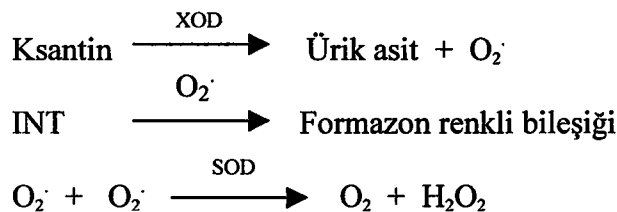
3.2.1. Doku örneklerinin enzim aktivitesi tayini için hazırlanması

Dokular 3 ml distile su içinde homojenize edildi. Homojenizasyon için Misonix marka hücre parçalayıcı kullanıldı (Model: XL 2007 Seri no: M 7084). Homojenizat 11000 rpm +4 °C' de 1 saat süreyle santrifüj edildi. Sonuçta oluşan süpernatandan Randox marka SOD ve GSH-PX kitleri kullanılarak aktivite ölçümü yapıldı. Sonuçlar mikroprotein başına verildi.

3.2.2. Süperoksit dismutaz tayini

SOD tayini, Randox marka ticari kit kullanılarak yapıldı.

Deneyin Prensibi: Süperoksit kaynağı olarak ksantin-ksantinoksidaz kullanılır. Ksantin oksidaz'ın katalizlediği reaksiyonla ksantinden ürik asit ve süperoksit radikali oluşur. Oluşan süperoksit radikali kırmızı renkli formazon bileşiği oluşturmak için 2- (4-iodofenil), 3 (4-nitrofenol) -5-feniltet-razolium klorid (I.N.T.) ile reaksiyona girer. SOD aktivitesi bu reaksiyonun inhibisyon derecesiyle ölçülür.



Çalışma, kit prospektüsüne uygun bir şekilde Technicon RA-XT marka otoanalizörde yapıp, sonuçlar aşağıdaki formüle uygulandı ve hesaplandı.

$$100 - \frac{A(\text{numune})/\text{dakika} \times 100}{A \text{ kör} / \text{dakika}} = \% \text{ inhibisyon}$$

$$100 - \frac{A (\text{standart})/\text{dakika} \times 100}{A \text{ kör} / \text{dakika}} = \% \text{ inhibisyon}$$

Elde edilen her bir standart konsantrasyonuna karşı, yüzde inhibisyonu ile çizilen eğriden enzim aktivitesi Ü/L olarak bulundu. Bu değerler litredeki protein miktarına bölünerek, sonuçlar Ü·mg protein⁻¹ olarak hesaplandı.

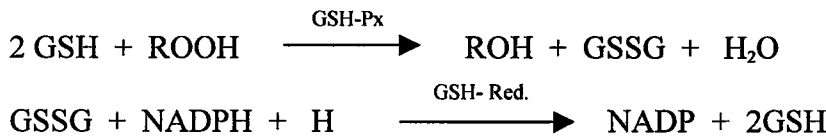
SOD aktivitesinin direkt ölçümü de mümkündür. Ancak bu metod özel cihazlar gerektirdiğinden her laboratuvar için uygun değildir. Bu nedenle genellikle SOD tayini için kullanılan metodlar SOD'nin, süperoksitin başlattığı bir reaksiyonu inhibe etme yeteneğine dayanır. Süperoksitin meydana gelmesi için enzimatik ya da enzimatik olmayan metodlar kullanılır. SOD'un reaksiyon hızını azaltma gücü, enzim aktivitesinin yeteneğine bağlıdır. Bundan başka SOD tayini için, luminometrik, polografik yada kolorimetrik teknikler uygulanabilir (Paoletti ve Mocali 1990). SOD'un enzimatik aktivitesinin ölçümündeki asıl zorluk, SOD substratı olan süperoksitin ölçüm ortamı içerisinde üretilmesidir, fakat pratik ve kolay uygulanabildiği için sık kullanılmaktadır (Flohe ve Ötting 1984).

3.2.3. Glutasyon peroksidaz tayini

Çalışmamızda GSH-Px tayini Randox marka ticari kit kullanılarak yapıldı.

Deneyin prensibi yüksek spesifiteye sahip Paglia Velentine'nin metoduna dayanmaktadır (Paglia ve Valentine 1967).

Deneyin Prensibi: Glutasyon peroksidaz, cumen hidroperoksid tarafından glutasyonun oksidasyonunu katalizler. Okside glutasyon NADPH varlığında, glutasyon reduktaz tarafından indirgenir. Bu arada NADPH, NADP'ye oksitlenir.



NADPH'in azalmasına bağlı olarak 340 nm'de meydana gelen absorbans değişimi ölçülerek enzim aktivitesi hesaplanır. Ü/L cinsinden bulunan enzim aktivitesi litredeki protein miktarına bölünerek Ü·mg protein⁻¹ olarak hesaplandı. Okumalar Technicon RA-XT marka otoanalizörde, kit prospektüsüne uygun bir şekilde yapıldı.

3.2.4. Protein tayini

Olympus marka ticari kit (OSR 6170) kullanılarak yapıldı.

Deneyin Prensibi: Pyrogallol red maksimum absorbansla kırmızı bir kompleks oluşturmak için molibdat iyonlarıyla birleşir. Test şartları altında, protein varlığında 600 nm'de maksimum absorbansla mavi-mor renkli bir kompleks oluşur. Bu kompleksin absorbansı numunedeki protein konsantrasyonuyla direkt olarak orantılıdır.

3.3. İstatistiksel Analiz Metodu

Veriler bilgisayar ortamına aktarılarak "SPSS for Windows 10.0" paket programı yardımıyla istatistik analiz yapıldı.

Veriler ortalama \pm standart sapma şeklinde özetlendi. Çoklu grupların karşılaştırılması "Kruskal-Wallis varyans analizi" ile yapıldı. Farklılık tespit edilen değişkenin (GSH-Px) ikili karşılaştırması "Bonfermoni düzeltilmeli Mann-Whitney U" testi ile yapıldı. Anlamlılık seviyesi 0.05 olarak alındı ($p < 0.05$).

4. BULGULAR

4.1. Larinks Kanser Grubu SOD Sonuçları

Larinks kanseri sebebiyle opere edilen 10 hastanın kanser dokusu numunelerinde ölçülen SOD enzim aktivite değerleri Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4.1. Kanser grubu SOD sonuçları

No	İsim	Yaş / Cinsiyet	SOD Aktivitesi (Ü·mg protein ⁻¹)
1 -	İ.K.	62 / E	0,013
2 -	N.H.	62 / E	0,006
3 -	H.A.	76 / E	0,006
4 -	H.A.	65 / E	0,008
5 -	O.K.	50 / E	0,006
6 -	K.A.	67 / E	0,007
7 -	L.Ç.	62 / E	0,007
8 -	M.S.	57 / E	0,007
9 -	M.T.	43 / E	0,007
10 -	Ş.Ü.	60 / E	0,009

4.2. Larinks Kontrol Grubu SOD Sonuçları

Larinks kanseri sebebiyle opere edilen 10 hastanın non-kanseröz komşu doku numunelerinde ölçülen SOD enzim aktivite değerleri Tablo 4.2'de verilmiştir.

Tablo 4.2. Larinks kontrol grubu SOD sonuçları

No	İsim	Yaş / Cinsiyet	SOD Aktivitesi (Ü·mg protein ⁻¹)
1 -	İ.K.	62 / E	0,010
2 -	N.H.	62 / E	0,008
3 -	H.A.	76 / E	0,010
4 -	H.A.	65 / E	0,011
5 -	O.K.	50 / E	0,003
6 -	K.A.	67 / E	0,007
7 -	L.Ç.	62 / E	0,009
8 -	M.S.	57 / E	0,008
9 -	M.T.	43 / E	0,009
10 -	Ş.Ü.	60 / E	0,011

4.3. Larinks Kanser Grubu GSH-Px Sonuçları

Larinks kanseri sebebiyle opere edilen 10 hastanın kanser dokusu numunelerinde ölçülen GSH-Px enzim aktivite değerleri Tablo 4.3'de verilmiştir.

Tablo 4.3. Larinks Kanser Grubu GSH-Px sonuçları

No	İsim	Yaş / Cinsiyet	GSH-Px Aktivitesi (Ü•mg protein ⁻¹)
1 -	İ.K.	62 / E	1,824
2 -	N.H.	62 / E	0,236
3 -	H.A.	76 / E	2,983
4 -	H.A.	65 / E	0,530
5 -	O.K.	50 / E	3,023
6 -	K.A.	67 / E	2,232
7 -	L.Ç.	62 / E	3,213
8 -	M.S.	57 / E	0,570
9 -	M.T.	43 / E	3,940
10 -	Ş.Ü.	60 / E	0,382

4.4. Larinks Kontrol Grubu GSH-Px Sonuçları

Larinks kanseri sebebiyle opere edilen 10 hastanın non-kanseröz komşu doku numunelerinde ölçülen GSH-Px enzim aktivite değerleri Tablo 4.4'de verilmiştir.

Tablo 4.4. Larinks kontrol grubu GSH-Px sonuçları

No	İsim	Yaş / Cinsiyet	GSH-Px Aktivitesi (Ü•mg protein ⁻¹)
1 -	İ.K.	62 / E	0,223
2 -	N.H.	62 / E	0,165
3 -	H.A.	76 / E	0,135
4 -	H.A.	65 / E	0,062
5 -	O.K.	50 / E	0,344
6 -	K.A.	67 / E	0,370
7 -	L.Ç.	62 / E	0,113
8 -	M.S.	57 / E	0,082
9 -	M.T.	43 / E	0,084
10 -	Ş.Ü.	60 / E	0,127

4.5. Fibröz Hiperplazi SOD Sonuçları

Kronik total protez irritasyonuna bağlı olarak oral mukozada gelişen fibröz hiperplazik kitlelerden ölçülen SOD enzim aktivite değerleri Tablo 4.5’de verilmiştir.

Tablo 4.5. Fibröz hiperplazi SOD sonuçları

No	İsim	Yaş / Cinsiyet	SOD Aktivitesi (Ü·mg protein ⁻¹)
1 -	Ö.A.	42 / E	0,008
2 -	A.K.	68 / E	0,005
3 -	S.U.	50 / K	0,014
4 -	F.P.	40 / K	0,011
5 -	Ü.Ö.	59 / E	0,015
6 -	N.Ö.	62 / K	0,014
7 -	D.A.	62 / E	0,005
8 -	E.A.	40 / K	0,006
9 -	A.Ö.	69 / K	0,010
10 -	M.B.	69 / K	0,005

4.6. Fibröz Hiperplazi GSH-Px Sonuçları

Fibröz hiperplazik kitle örneklerinde ölçülen GSH-Px enzim aktivite değerleri Tablo 4.6’da verilmiştir.

Tablo 4.6. Fibröz hiperplazi GSH-Px sonuçları

No	İsim	Yaş / Cinsiyet	SOD Aktivitesi (Ü·mg protein ⁻¹)
1 -	Ö.A.	42 / E	0,099
2 -	A.K.	68 / E	0,245
3 -	S.U.	50 / K	0,141
4 -	F.P.	40 / K	0,174
5 -	Ü.Ö.	59 / E	0,104
6 -	N.Ö.	62 / K	0,112
7 -	D.A.	62 / E	0,082
8 -	E.A.	40 / K	0,074
9 -	A.Ö.	69 / K	0,132
10 -	M.B.	69 / K	0,113

4.7. Gruplara Ait Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri

Tablo 4.7. Gruplara ait aritmetik ortalama ve standart sapma değerleri

<u>Grup</u>	<u>SOD (Ü·mg protein⁻¹)</u>	<u>GSH-Px (Ü·mg protein⁻¹)</u>
I- Kanser dokusu (n=10)	0,00760 ± 0,00212	1,893 ± 1,377
II- Kontrol dokusu (n=10)	0,00860 ± 0,00237	0,17050 ± 0,10865
III- Fibröz Hiperplazi (n=10)	0,00930 ± 0,00406	0,12760 ± 0.05046

“Mann-Whitney U” Testi’ne göre gruplar arası ilişkiler Tablo 4.8’de gösterilmiştir.

Tablo 4.8. Gruplar arası ilişkilerin istatistiksel analiz sonuçları

1- I-SOD / II-SOD	Anlamsız	p > 0,05
2- I-SOD / III-SOD	Anlamsız	p > 0,05
3- II-SOD / III-SOD	Anlamsız	p > 0,05
4- I-GSHPx / II-GSHPx	Anlamlı	p < 0,05
5- I-GSHPx / III-GSHPx	Anlamlı	p < 0,05
6- II-GSHPx / III-GSHPx	Anlamsız	p > 0,05

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Kanser gelişimi, malign tümör formasyonu ile sonuçlanan bir dizi biyokimyasal, hücre ve dokusal değişikliklerden oluşur (Pitot 1979, Farber ve Cameron 1980). Kanserde başlangıç (initiation), ilerleme (promotion) ve gelişme (progresion) olaylarının aydınlatılabilmesi için araştırmalar yapılmış, fakat birçok soru hala cevaplandırılmamıştır (Welsch 1985).

Karsinogenezis üzerinde yapılan çalışmalarda, pürin ve DNA metabolizması yanında (Durak ve ark 1993, Dolanmaz 1998, Biri ve ark 1999), serbest radikaller üzerinde durulmuş, özellikle moleküler oksijenin kanser oluşumunda rol oynadığı düşünülmüştür (Ames 1983, Clemens 1991, Dreher ve Junod 1996). Aşırı üretilmeleri veya metabolize edilmelerindeki başarısızlığa bağlı olarak, süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil radikali ($\cdot OH$), singlet oksijen radikali ($O\cdot$) ve hidrojen peroksit radikali (H_2O_2) gibi moleküler oksijenin aktif formlarının hücre içinde artması, hücre yapılarında moleküler hasara yol açabilir. Bunun sonucunda mutasyonlar, kromozomal sapmalar ve karsinogenezis oluşabilir (Player ve ark 1977, Guyton ve Kensler 1993, Dreher ve Junod 1996). Aktif serbest radikallerin bunun yanında büyüme ve farklılaşmayı kontrol eden spesifik genlerde hasar yapıp, hücrelerin daha çabuk büyümesini ve malign forma geçmelerini stimüle edebilecekleri bildirilmiştir (Freeman ve Crapo 1982, Heckler ve ark 1982, Guyton ve Kensler 1993, Dreher ve Junod 1996).

Hücre yapılarının serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunabilmesi enzimatik ve nonenzimatik savunma mekanizmalarıyla olur. Bu mekanizmalar reaktif ara ürünlerin yok edilmesinde çok önemlidirler (Halliwell ve Gutteridge 1984a, Dreher ve Junod 1996). Enzimatik savunma mekanizmasında primer rolü oynayan enzimler, SOD ve GSH-Px ve CAT'dır. SOD, toksik süperoksit radikalinin ($O_2^{\cdot-}$) hidrojen perokside (H_2O_2) dönüştürülmesini katalizlerken, GSH-Px ve CAT hidrojen peroksitin su ve moleküler oksijene (O_2) ayrıştırılması reaksiyonunu katalizlerler (Vo ve ark 1988).

Karsinogenezis ile serbest radikal metabolizması arasındaki ilişki hakkında birçok çalışma mevcuttur (Cerutti 1985, Kozumbo ve ark 1985, Corrocher ve ark 1986, Vo ve ark 1988, Guyton ve Kensler 1993). Birçok kanseröz doku ve hücrelerde söz konusu antioksidan enzimlerin aktiviteleri araştırılmış ve birbiriyle uyumlu olmayan sonuçlar elde edilmiştir. Kanseröz dokularda SOD ve GSH-Px aktiviteleri genelde düşük bulunmuş olmakla birlikte (Peskin ve ark 1978, Van Balgooy ve Roberts 1979, Bize ve ark 1980,

Corrocher ve ark 1986, Vo ve ark 1988, Aceto ve ark 1989, Durak ve ark 1994, Durak ve ark 1996, Durak ve ark 1997, Durak ve ark 1998, Öztürk ve ark 1998), bu enzimlere ait aktivitelerin kanseröz dokularda ve hücrelerde yükseldiğini (Singh ve ark 1990, Howie ve ark 1990, Durak ve ark 1993, Kanbağlı ve ark 2000, Balasenthil ve ark 2000, Skrzydlewska ve ark 2001) ve anlamlı değişiklikler göstermediğini bildiren sonuçlar da mevcuttur (Hoffman ve ark 1985, Nakada ve ark 1988, Biri ve ark 1999). Bazı araştırmacılar da, antioksidan potansiyel (AOP) düzeyi ölçümünün, kanserli dokulardaki oksidan-antioksidan durumun değerlendirilmesinde daha doğru sonuçlar verebileceğini ileri sürmektedirler (Kaçmaz ve ark, 1998).

Çalışmamızda, larinks kanserli hastaların kanser dokularındaki SOD aktiviteleri, nonkanseröz komşu dokulardakinden düşük çıkmış fakat bu fark anlamlı bulunmamış olup, GSH-Px aktivitesi kanserli dokuda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (Tablo 4.8). Bu bulgular, kanseröz larinks dokusunda antioksidan enzim metabolizmasının bozulduğunu göstermektedir.

Biri ve ark (1999), prostat kanserli hastalarda yaptıkları çalışmada, kanserli prostat dokusunda SOD aktivitesinin değişmemiş, GSH-Px ve katalaz aktivitelerinin ise normal prostat dokusuna göre artmış olduğunu bulmuşlardır. GSH-Px ve katalaz enzim aktivitelerinin artmasının kanserli prostat dokusunda ortaya çıkan serbest radikallerin oluşturduğu metabolik stresi azalttığını, ancak kanserli prostat dokusunun enzimatik antioksidan sisteminin karsinogenezis esnasında ortaya çıkan oksidan faktörlerle başa çıkamadığını ve hücrel peroksidatif reaksiyonları önleyemediğini öne sürmüşlerdir.

Aceto ve ark (1989), yaptıkları çalışmada prostatik karsinomali kişilerin testislerinden alınan örneklerde, tümör dokuda glutatyon transferaz aktivitesinin yüksek düzeyde olduğunu, ancak selenyuma bağlı enzim olan GSH-Px aktivitesinin tümör dokuda, tümör olmayan dokudan daha düşük bulunduğunu bildirmişlerdir. Buna benzer sonuçları göğüs, akciğer ve böbrek dokularında da elde etmişlerdir.

Canbolat ve ark (1997), kanserli deri dokusu, kanser komşuluğundaki sağlam doku ve kansere uzak sağlam doku üzerinde yaptıkları çalışmada her üç dokuda da SOD ve tiobarbitirik asitle reaksiyon veren madde (TBARS) düzeylerinin değişmediğini bulmuşlardır. Dolayısıyla serbest radikal metabolizmasının insan deri tümörü oluşumunda önemli bir yerinin olmadığını veya kanserli dokunun reaktif oksijen türlerini nonenzimatik mekanizmalarla elimine etmiş olabileceğini ifade etmişlerdir.

Nakada ve ark (1988), kanserli böbrek dokusu ve komşu sağlam dokular üzerinde yaptıkları çalışmada her iki dokuda da gerek Cu,Zn-SOD, gerek Mn-SOD ve gerekse total

SOD aktiviteleri arasında anlamlı bir fark olmadığını, kanser diferansiyasyon derecesinin SOD aktivitesine etkili olmadığını bulmuşlar ve buradan hareketle renal hücreli kanser oluşumunda SOD'un önemli bir rol oynamadığını bildirmişlerdir.

Howie ve ark (1990), akciğer, kolon, mide, meme, böbrek ve karaciğere ait kanserli ve kanser içermeyen komşu dokular üzerinde yaptıkları çalışmada, karaciğer kanseri haricindeki kanser dokularında sGSH-Px (selenyuma bağlı GSH-Px) aktivitesinin normal dokuya göre birkaç kat arttığını, karaciğere ait kanserli dokuda ise azaldığını bulmuşlardır. Bu artışı, sGSH-Px'in organik hidroperoksidlerin detoksifikasyonunda baskın rolü oynadığı yönünde yorumlamışlardır.

Singh ve ark (1990), yaptıkları çalışmada, 6 meme kanserli hastanın 4 tanesinde GSH-Px aktivitesinin 6 kata varan oranlarda arttığını, 1 tanesinde düştüğünü, 1 tanesinde de birbirine yakın olduğunu, aynı şekilde glutatyonla ilişkili diğer enzimlerin (glutatyon s-transferaz, glutatyon redüktaz) kanser ve komşu dokularda farklı aktiviteler gösterdiğini bulmuşlar ve insan meme kanserinde bu enzimlere ait aktivitelerin farklılıklar gösterebileceği sonucuna varmışlardır.

Kanseröz böbrek dokusunda Durak ve ark (1997), Kaçmaz ve ark (1999)'nın elde ettikleri gibi her iki enzim aktivitesini de Nakada ve ark (1988)'nin sonuçlarıyla uyumsuz olarak düşük bulmuşlardır. Bu düşük enzim aktivitelerinin kanseröz prosesin kendisinden kaynaklandığını, kanser hücrelerindeki değişmiş hemostaz ve metabolizmanın bu enzimlerin aktivasyon veya sentezini birçok yolla etkileyebileceğini bildirmişlerdir. Buradan hareketle, kanser hücrelerinde değişikliğe uğramış hemostaz ve metabolizmanın serbest radikal savunma sisteminde zayıflamaya sebep olabileceğini, ve zayıflamış serbest radikal defans mekanizmasının karsinogenezisin farklı safhalarında rol oynayabileceğini öne sürmüşlerdir.

Yine Durak ve ark (1998), kanseröz karaciğer dokusunda SOD ve GSH-Px aktiviteleriyle birlikte TBARS seviyelerini de düşük bulmuşlardır. Buradan hareketle kanseröz karaciğer dokusunda oksidan stres olmadığı sonucuna varmışlar ve kanseröz karaciğer dokusunun, muhtemelen nonenzimatik antioksidan savunma mekanizmalarının yardımıyla serbest radikalleri elimine etmede ve böylece hücrel peroksidasyon reaksiyonlarını önlemede başarılı olduğunu düşünmüşlerdir.

Corrocher ve ark (1986), insan hepatomasında, antioksidan moleküllerden en önemlisi olan glutatyonu (GSH) ve serbest radikal temizleyici enzimlerden CAT ve GSH-Px aktivitelerini düşük bulmuşlardır. Bu aktivite azalmasının, neoplastik mutasyona sebep olacak serbest radikallerin birikmesine yardımcı olabileceğini, fakat bu azalmanın

karsinogenezisin erken dönemlerinde mi, yoksa geç dönemlerinde mi olduğunun bilinmediğini bildirmişler.

Brawn ve Fridovich (1981), enzim sistemlerindeki değişikliklerin malignan değişiklikten önce olması durumunda, toksik serbest radikal birikiminin malign transformasyonla sonuçlanan DNA hasarından sorumlu olabileceği üzerinde durmuşlardır.

Novi (1981) ile Brada ve Bulba (1982), farelerde deneysel olarak oluşturulan hepatomada glutatyon (GSH) tedavisinin belirgin bir düzelmeye ve sonuçta tümörün kaybolmasına sebep olduğunu, Kawano ve ark (1984) ise yüksek dozda glutatyon (GSH) ile inoperabl kabul edilen bir hepatoma vakasını tedavi ettiklerini bildirmişlerdir.

Bize ve ark (1980), ratlardaki Morris hepatomada SOD aktivitesini düşük bulduklarını, çalışmaya dahil edilen ratlardaki en düşük SOD aktivitesinin, tümörü en hızlı büyüyen deney hayvanında olduğunu, ayrıca hem Cu,Zn-SOD hem de Mn-SOD'un spesifik aktiviteleri ile tümörlerin büyüme oranları ve farklılaşma dereceleri arasında kuvvetli bir korelasyon tespit ettiklerini ve bu sebeple ratlardaki Morris hepatomada SOD aktivitesi ile malignensi derecesi arasında bir bağlantı olabileceğini bildirmişlerdir.

Koen ve ark (1977) oksidatif hasara karşı ilk savunmayı yaptığı düşünülen GSH-Px ve SOD aktivitesi üzerine yaptıkları çalışmada, hepatoma 27 sitozol ve mitokondrisinde GSH-Px seviyesinin çok düşük olduğunu, SOD aktivitesinin ise tümör mitokondrisinde ve tümör hücre stoplazmasında normal dokular ile karşılaştırıldığında daha düşük olduğunu bulmuşlardır.

Öztürk ve ark (1998), kanseröz insan kolorektal dokusunda her iki enzim aktivitesini de nonkanseröz komşu dokudan düşük bulmuşlar, bunun sonucu olarak kanseröz dokuların radikalik strese daha fazla maruz kaldıklarını ve MDA konsantrasyonu artışının da gösterdiği gibi, kanseröz dokularda peroksidatif reaksiyonların önemli ölçüde hızlandığını ileri sürmüşlerdir.

Hoffman ve ark (1985), 23 kanseröz insan kolorektal dokusunda nonkanseröz komşu dokulara oranla SOD aktivitesini düşük, GSH-Px aktivitesini ve MDA seviyesini ise değişmemiş olarak bulmuşlar, buna dayanarak insan kolorektal kanserlerinde oksidatif mekanizmanın düşük olduğunu, bu sebeple tümör dokularında detoksifikasyon enzimlerine olan ihtiyacın azalma eğiliminde olabileceğini bildirmişlerdir. Aynı zamanda enzim aktivitelerine cinsiyet ve kanser farklılaşma derecesinin etkili olmadığını bildirmişler, araştırmalarda elde edilen farklı sonuçların (Baur ve Wendel 1980) farklı ölçme metodları kullanılmasına bağlı olabileceğini öne sürmüşlerdir.

Durak ve ark (1996), insan tiroid karsinomasında söz konusu olan her iki enzime ait aktiviteyi de düşük bulunmasının kanseröz olayın kendiliğinden kaynaklanabileceğini, kanseröz dokudaki değişmiş selüler hemostaz sonucu olabileceğini bildirmişlerdir.

Yine Durak ve ark (1994), insan kanseröz mesane dokusu ve nonkanseroz komşu dokudaki SOD aktivitesini, kanser olmayan insanlarla karşılaştırıldığında düşük bulmuşlar, fakat bunun kanser hücrelerinin evrensel bir karakteristiği olmadığını, çalışılan organ ve çalışma tekniğine göre değişik sonuçlar elde edilebileceğini bildirmişlerdir.

Yang ve ark (2002), oral kanserlerde yaptıkları çalışmada az diferensiyasyonlu tümör hücrelerindeki antioksidan enzim miktarının iyi diferensiyasyonlu tümör hücrelerinden düşük olduğunu bulmuşlar ve dokudaki antioksidan enzimlerin belirlenmesinin, oral kanserlerin moleküler teşhisinde faydalı olabileceğini bildirmişlerdir. Bunun aynı zamanda, söz konusu enzimlerin koruyucu ve tedavi edici etkilerinin belirlenebilmesi yanında tümör rekürrensünün gözlenebilmesine de imkan verebileceğini öne sürmüşlerdir.

Portakal ve ark (2000), meme kanserli hastalarda SOD ve GSH-Px aktivitelerinin kanserli dokuda daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Bunun, reaktif oksijen türlerinin kanser dokusunda arttığı görüşünü desteklediğini ve antioksidan enzim miktarlarında artışa sebep olabileceğini bildirmişlerdir. Artmış antioksidan enzim aktivitelerinin, hücrelerin karsinojenik ajanlara hassasiyetiyle ilişkili olabileceğini ve tümör hücrelerinin kemoterapötik ajanlara cevabı olabileceğini bildirmişlerdir.

Perchellet ve ark (1987), çeşitli antioksidanların kombinasyonunun (selenyum, Glutasyon, vitamin E) epidermal GSH-Px ve ornitin dekarboksilaz üzerine tümör promotörlerinin yaptığı etkiyi inhibe ederek deri tümör oluşumunu azalttığını bildirmişlerdir.

Sainkin ve ark (1991)'na göre nikelin SOD aktivitesini süratle inhibe ettiği ve inhibisyon derecesinin nikel konsantrasyonu ile doğru orantılı olduğunu bildirmişlerdir. Nikel ile çalışanlarda kanser insidansı yüksektir. Bu kişilerde SOD aktivitesinde inhibisyon ve serbest radikal üretiminde artış gözlenmiştir.

Kökoğlu ve ark (1989)'nın Misra ve Fridowich'in epinefrin metodunu kullanmak suretiyle, akut ve kronik lösemilerde SOD aktivitesini göstermek için yaptıkları çalışmada, lösemilerin tüm çeşitlerinde SOD aktivitesinin normallerden belirgin bir şekilde artmış olduğunu, bununla beraber remisyonda bu seviyelerin normale döndüğünü göstermişlerdir. Bu durumun doğrudan lösemi ile SOD aktivitesi arasındaki bir bağlantıdan ziyade başka faktörlerin sonucu olduğunu bildirmişlerdir.

Nishiura ve ark (1992) nın AML ve ALL'li hastaların serum Mn-SOD seviyeleri ile ilgili yaptıkları çalışmada, lösemili hastalarda Mn-SOD seviyesinin normallere göre daha yüksek olduğunu tesbit etmişlerdir. Löseminin regresyon döneminde serum SOD seviyesinin düştüğünü, bu durumun hastalığın aktivitesine yardımcı olduğunu ifade etmişlerdir.

Gonzales ve ark (1984)'nın değişik hematolojik malign hastalığı olanların (AML, KML, Hodgkin hastalığı, lenfosarcom ve değişik visseral kanserler) eritrositlerinde yaptıkları çalışmada, lösemi dışında SOD, GSH-Px ve katalaz aktivitelerinin normal sınırlarda olduğunu, ancak lösemide SOD aktivitesinin belirgin şekilde arttığını tesbit etmişlerdir.

Batke ve ark (1988)'nin fare hücre kültürlerinde invitro oluşturulan lenfoma tiplerinde yaptıkları çalışmalarda, hücre içinde SOD aktivitesinde düşüş olduğunu, GSH-Px aktivitesinde ise artış olduğunu tesbit etmişlerdir. Bu durumun, lenfoma oluşturmak için kullanılan ilaçlar sebebiyle hücre içindeki süperoksit radikal konsantrasyonunun artışına bağlı olabileceğini ifade etmişlerdir.

Tihan ve ark (1989)'nın insan miyeloid lösemisinin beş farklı tipinde yaptıkları çalışmada, lökosit SOD ve GSH-Px aktivitesinin bazı lösemi tiplerinde diğerlerine oranla artmış olduğunu, buna göre miyeloid lösemisinin farklı fazlarında SOD ve GSH-Px aktivitelerinin değişiklik gösterebileceğini bildirmişlerdir.

Durak ve ark (1993), kanseröz laringeal dokulardaki SOD ve CAT aktivitesini nonkanseröz dokulara oranla yüksek bulmuşlar ve bu artışı, diğer kaynaklardan doğan yüksek süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) konsantrasyonuna bağlamışlardır.

Yiğitbaşı ve ark (2000), larinks kanserlerindeki SOD aktivitesinin normal larinks dokusundan daha düşük olduğunu ve malignensi derecesi arttıkça SOD aktivitesinin azaldığını bulmuşlardır. Bunun, kanser dokusunda artmış serbest radikal üretiminin bir sonucu olabileceğini ileri sürmüşler ve mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte, elde edilen bu bulgunun, kanser dokusunda antioksidan savunma sisteminin zayıfladığı hipotezini desteklediğini bildirmişlerdir.

Bu çalışmada ise, larinks kanserli hastaların kanseröz ve nonkanseröz dokularındaki GSH-Px aktiviteleri arasında tümör dokusu lehine bir artışla birlikte her iki dokudaki SOD aktiviteleri arasında anlamlı bir fark olmadığı bulundu. GSH-Px'in fibröz hiperplazi grubundaki aktiviteleri ile nonkanseröz komşu dokulardaki aktiviteleri arasında beklenildiği gibi anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi (Tablo 4.8).

SOD aktivitesindeki azalma, ilerlemiş karsinogeneziste ya da son dönemde doku antioksidan enzimlerinin DNA düzeyinde transkripsiyon veya translokasyonlarında bir yetersizlik olabileceğini düşündürmektedir. SOD aktivitesinin tümör dokusunda düşük çıkması, karsinogeneziste oluşan tümör promotörlerinin önemli derecede baskılanmasının veya inhibitör etkilerinin bir sonucu da olabilir. GSH-Px aktivitesindeki artış ise karsinogeneziste daha etkin rol oynaması, özellikle glutatyon metabolizmasının hidroperoksitlerin detoksifikasyonunda daha baskın olması sonucudur. Ayrıca glutatyon, transkripsiyona uğramadan sentezlenen bir tripeptiddir. Dolayısıyla karsinogeneziste DNA düzeyinde meydana gelen tümör promotörlerinin deprese etkisinden bağımsızdır. Karsinogeneziste GSH-Px'in antioksidan enzimler içinde daha etkili olması buna bağlı olabilir. Serbest radikallerin normal hücrelerin DNA'larında kansere yol açan mutasyonlara sebep olduğu bilinmektedir. Ancak in vivo şartlarda kanser hücrelerinde artan serbest radikal üretiminin hastalığın sebebi mi yoksa sonucu mu olduğunu söylemek zordur.

Bu araştırma ve literatürdeki diğer çalışmalarda da görüldüğü gibi kanserde SOD ve GSH-Px enzim aktiviteleri hakkında bir genelleme yapmak mümkün değildir. Bir çok araştırmacı tarafından elde edilen farklı sonuçlar, farklı dokularda, farklı tekniklerle çalışılmış olmasından kaynaklanabilir. Doku numunelerinin karsinogenezisin hangi safhasında alındığı da antioksidan enzim aktiviteleri açısından önemli olabilir. Bu sebeple, aynı hastadan farklı zamanlarda alınacak doku örneklerinde enzim aktivitelerinin incelenmesi yerinde olabilir.

Bütün kanserli hastalardaki SOD ve GSH-Px aktiviteleri hakkında genelleme yapmak yerine aynı kanser türlerindeki enzim aktivitelerini dikkate almak daha doğru sonuçlara ulaşılmasını sağlayabilir. Enzimlerle ilgili araştırmaların bu şekilde artması ve genel bir görüşün kabul edilmesi, klinisyene hastalığın teşhisinde ve prognozun takibinde yardımcı olacaktır. Bununla birlikte kanserde enzimlerle ilgili genel kabullerin ortaya konulmasının, tedavide kullanılacak antimetabolitlerin geliştirilmesine yardımcı olabileceğini düşünmekteyiz.

Sonuç :

Kanser gelişimi bir dizi biyokimyasal değişiklikler sonucu meydana gelir. Karsinogenezde aşırı radikal üretimi, özellikle süperoksit ve hidrojen peroksit üretiminin artması ve buna bağlı olarak aynı hızda metabolize edilememeleri sonucu hücresel düzeyde modifikasyonlar meydana gelmektedir.

Bu çalışmada da SOD ve GSH-Px aktivitelerindeki değişiklikler karşılaştırılmış ve SOD aktivitesinin değişmediği, GSH-Px aktivitesinin ise kanserli dokuda arttığı tespit edilmiştir. Bu değişikliklerin muhtemelen DNA düzeyindeki hasara bağlı oluşabileceği veya tümör promotörlerinin inhibitör etkisi sonucu gelişebileceği söylenebilir. Ancak GSH-Px aktivitesinin tümör promotörlerinin baskılayıcı etkisinden bağımsız olduğunu düşünmekteyiz.



6. ÖZET

S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Ağız-Diş-Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı
DOKTORA TEZİ / KONYA – 2002
Abdullah KALAYCI

Kanseröz ve Nonkanseröz İnsan Larinks Dokularında Süperoksit Dismutaz ve Glutasyon Peroksidaz Enzim Aktivitelerinin Araştırılması

Bu çalışma, kanseröz ve non-kanseröz dokularda SOD ve GSH-Px aktivitelerinin araştırılması amacıyla, 43-76 yaşları arasındaki larinks kanserli 10 hasta (10 erkek) ve ikinci kontrol grubu olarak da, başka herhangi bir sistemik hastalığı olmayan, irritasyonel fibröz hiperplazik kitleler için başvurmuş 40-69 yaşları arasındaki 10 hasta (4 erkek, 6 kadın) üzerinde gerçekleştirildi.

Larinks kanserli 10 hastadan, operasyon sırasında kanser dokusu ve cerrahi sınıra ait sağlam dokudan örnekler alındı. İkinci kontrol grubu olarak da, farklı 10 hastadan elde edilen oral mukozaya ait fibröz hiperplazik dokular kullanıldı. Elde edilen doku örnekleri ultrasonik bir homojenizatörle homojenize edildi. Homojenatlar 11000 rpm ve 4 C°'de 60 dakika santrifüj edildi. Homojenatlarda ticari kit kullanılarak mg cinsinden protein tayini yapıldı. Daha sonra SOD ve GSH-Px'e ait spesifik aktiviteler ticari kitlerle ölçüldü.

Sonuçta, kanseröz dokulardaki GSH-Px aktivitesinin, hem non-kanseröz komşu dokulara hem de fibröz hiperplazik dokulara göre önemli oranda arttığı görülürken ($p<0,05$), SOD aktiviteleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi ($p>0,005$). Bununla birlikte non-kanseröz komşu dokulardaki GSH-Px aktiviteleri ile fibröz hiperplazi dokularındaki GSH-Px aktiviteleri arasında da anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,005$).

Bu değişikliklerin DNA düzeyindeki hasara bağlı olduğu veya tümör promotörlerinin inhibitör etkisi sonucu gelişmiş olduğu söylenebilir. GSH-Px aktivitesindeki artış ise bu enzimin tümör promotörlerinin baskılayıcı etkisinden bağımsız olmasından kaynaklanabilir. Bu araştırma ve literatürdeki diğer çalışmalarda da görüldüğü gibi kanserde SOD ve GSH-Px enzim aktiviteleri hakkında bir genelleme yapmak mümkün değildir. Enzimlerle ilgili genel yargılara varılması, klinisyene teşhis, tedavi ve prognozun takibi açısından yardımcı olacaktır.

7. SUMMARY

Selçuk University The Institute of Health Sciences

Oral and Maxillofacial Surgery Department

PhD THESIS / KONYA – 2002

Abdulah KALAYCI

Investigation of Superoxide Dismutase and Glutathione Peroxidase Enzym Activities In Cancerous and Noncancerous Human Laryngeal Tissues

This study was carried out on 10 patients (10 M) with laryngeal carcinoma, between 43-76 years old and 10 healthy controls with intraoral hyperplastic fibrous tissue (4 M, 6 F) between 40-69 years old to investigate the activities of SOD and GSH-Px enzymes in cancerous and non-cancerous tissues.

Cancerous and non-cancerous adjacent larynx tissue samples were obtained from ten patients who had laryngeal carcinoma during operation. As a second control group ten fibrous hyperplastic tissue samples of the oral mucosa were obtained from ten healthy patients. Tissue specimens were homogenised by an ultrasonic homogenisator. The homogenates were centrifugated 60 min at 11000 rpm and at 4 °C. Protein content of the homogenates were determined by a commercially available kit. After that, homogenate superoxid dismutase and glutathione peroxidase activities were measured by commercially available kits.

At the end of the study, GSH-Px levels were significantly increased in the cancerous tissues compared with cancer free adjacent tissues and fibrous hyperplasia tissues ($p < 0,05$), whereas there was no significant differences between SOD activities ($p > 0,005$). There was also no significant differences between cancer-free adjacent tissue GSH-Px activity and fibrous hyperplasia GSH-Px activity ($p > 0,005$).

It can be concluded that these changes are related to the damage at the DNA level or inhibitory effect of tumor promoters. Increases in the GSH-Px activity may be related to the independence of this enzyme from suppressive effect of tumor promoters. This study and other studies in literature shows that, it is not possible to generalize the activities of SOD and GSH-Px in cancer. Generalized considerations about enzymes may help the clinician for diagnosis, treatment and follow up of prognosis.

8. LİTERATÜR LİSTESİ

- Aceto A, Dillio C, Angelucci S, Tenaglia R, Zezza A, Caccuri AM, Federici G, (1989)** *Glutathione-related enzyme activities in testis of patients with malignant diseases*, Clinica Chimica Acta, 183, 83-86.
- Adams DO, Lewis JG (1987)** *Inflammation oxidative DNA damage and carcinogenesis*, Environmental Health Perspectives, 76, 19-27.
- Akkuş İ (1995)** *Serbest radikalleri araştırma metodları, Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri*, 123-132, Mimoza yayınları, Yayın no:38(5), Konya.
- Akyüz F, Erden M, Önder E (1993)** *Evaluation of serum magnesium, zinc, copper and ascorbic acid levels in patients with hypertension and atherosclerotic heart diseases*, Türk J Med Res, 11(6), 273-276.
- Ames BN (1983)** *Dietary carcinogens and anticarcinogens: oxygen radicals and degenerative diseases*, Science, 221, 1256-1265.
- Babette B, Weksler MD (1993)** *Essentials of medicine: Hematological disease*, 379-391.
- Babior BM (1984)** *Oxidants form phagocytes: Agents of defence and destruction*, Blood, 64, 959-966.
- Bagdade JD, Root RK, Bulger RJ (1974)** *Impaired leukocyte function in patients with poorly controlled diabetes*, Diabetes, 23, 9-15.
- Baggiolini M (1980)** *The neutrophil in the cell biology of inflammation*, edited by C Weissman, Elsevier, North-Holland, New-York, 163.
- Bakan E (1985)** *Diabetli hasta nötrofillerinde fagositik indeks ile plazma membran proteinlerinin glikozillenmesi arasındaki ilişki*, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AD, Doktora Tezi.
- Balaseshthil S, Saroja M, Ramachandran CR, Nagini S (2000)** *Of humans and hamsters: comparative analysis of lipid peroxidation, glutathione, and glutathione-dependent enzymes during oral carcinogenesis*, Br J Oral Maxillofac Surg, 38(4), 267-270.
- Bast A, Haenen GRMM, Doelman CJA (1991)** *Oxidant and antioxidant*, State of the art, Am J Med, 91 (3) 2 –13.
- Batke E, Ogura R, Vaupel P, Hummel K, Kallinowski F, Gasic MJ, Schröder HC, Müller WEG (1988)** *Action of the antileukemic and anti-HTLV-III (anti-HIV) agent*

- avarol on the levels of superoxide dismutases and glutathione peroxidase activities in L5178y mouse lymphoma cells, Cell Biochemistry and function, 6, 123-129.*
- Baur G, Wendell A (1980)** *The activity of the peroxide-metabolizing system in human colon carcinoma, J Cancer Res Clin Oncol, 57, 267.*
- Beattie AD, Sherlock S (1976)** *Ascorbic acid deficiency in liver disease, Gut, 571.*
- Beckman G, Lundgren E, Tarnvik A (1973)** *Superoxide dismutase isozymes in different human tissues, their genetic control and intracellular localization, Human Heredity, 23, 338-345.*
- Bendich A (1990)** *Antioxidant vitamins and their functions immune responses, Adv Exp Med Biol, 262, 35-55.*
- Biri H, Öztürk HS, Kaçmaz M, Karaca K, Tokuçoğlu H, Durak İ (1999)** *Activities of DNA turnover and free radical metabolizing enzymes in cancerous human prostate tissue, Cancer Investigation, 17(5), 314-319.*
- Bize IB, Oberley LW, Morris HP (1980)** *Superoxide dismutase and superoxide radical in Morris hepatomas, Cancer Res, 40, 3686.*
- Blake DR, Morris CJ, Winrow VR, Winyard PG (1993)** *Free radicals in inflammation: second messengers and mediators of tissue destruction, Br Med Bull, 49(3), 506-522.*
- Brada Z, Bulba S (1982)** *The regression of dl-ethionine induced hepatocellular carcinoma in rats by glutathione treatment. Presented at the fifth annual seminar of cancer researchers in Florida. Tampa, February 6, Florida.*
- Brawn K, Fridovich I (1981)** *DNA strand scission by enzymically generated oxygen radicals, Arch Biochem Biophys, 206, 414.*
- Brown LM, Mason TJ, Pickle LW at al (1988)** *Occupational risk factors for laryngeal cancer on the Texas Gulf Coast, Cancer Res, 48, 1960-1964.*
- Bulkley GB (1983)** *The role of free radicals in human disease processes, Surgery, 94, 407-411.*
- Burlakova EB, Molochkina EM, Palmira NP (1980)** *Role of membrane lipid oxidation in control of enzymatic activity in normal and cancer cell, Adv Enzyme Reg, 18, 163-179.*
- Burton GW, Ingold KU, Joyce A (1982)** *First proof that vitamin E is major lipid-soluble, .Chain-Breaking antioxidant in human blood plasma, Lancet August 7, 327.*
- Cameon E, Pauling L (1979)** *Ascorbic acid and cancer, Cancer Res, 39, 663.*
- Canbolat O, Yılmaz S, Özgen G, Erçöçen AR, Elgün S, Can Z (1997)** *İnsan deri tümörlerinde pürin- pirimidin ve serbest radikal metabolizması enzim aktiviteleri,*

Serbest radikaller ve antioksidanlar araştırma derneği kongre kitapçığı, 69, Side-Antalya.

- Casali E, Gesmundo N, Masotti L, Sartor G (1988)** *Lipid peroxidation in cancer cells: Chemical and physical studies*, Annals New York Academy of Sciences, 551, 47-57.
- Ceballos-Picot I, Trivier JM, Nicole A (1992)** *Age-correlated modifications of copper-zinc SOD and glutathione-related enzyme activities in human erythrocytes*, Clin Chem, 38(1), 66-70.
- Cerutti PA (1985)** *Preoxidant states and tumor promotion*, Science, 227, 375.
- Chappell JB, Henderson LM, Jones OTG (1988)** *Internal pH changes associated with the activity of NADPH oxidase of human neutrophils*, Biochem J, 251, 563-567.
- Cheeseman KH, Holley AE (1993)** *Measuring free radical reaction in vivo*, Brit Med Bull, 49 (3), 494-505.
- Cheeseman KH, Slater TF (1993)** *An introduction to free radical biochemistry*, Br. Med Bull, 49 (3), 479-480.
- Clemens MR (1991)** *Free radicals in chemical carcinogenesis*, Klin Wochenschr, 69, 1123-1134.
- Corrocher R, Casaril M, Bellisola G, Nicoli N, Guidi GC, De Sandre G (1986)** *Severe impairment of antioxidant system in human hepatoma*, Cancer, 15, 1658.
- Cowan JM, Beckett MA, Ahmet-Swan S at al (1992)** *Cytogenetic evidence of the multistep origin of head and neck squamous cell carcinomas*, J Natl Cancer Inst, 84, 793-797.
- Dargel R (1992)** *Lipid peroxidation aldehyd common pathogenetic mechanism*, Exp Toxicol Pathol 44(4) 169-81.
- Davies JDF, Newson J (1974)** *Ascorbic acid and cholesterol levels in postoral peoples in Kenya*, Am J Clin Nutr, 27, (10), 1039.
- Deby C, Pincemail J (1988)** *Oxygen toxicity, free radicals and defence mechanisms*, In Fünfgeld EW, Rökan (Ginkgo Biloba), Recent result in pharmacology and clinic, Newyork, 56-70.
- Decoufle P (1979)** *Cancer risks associated with employment in the leather and leather products industry*, Arch Environ Health, 34, 33-37.
- Doğan P, Soyuer Ü, Tanrikulu G (1989)** *SOD and myeloperoxidase activity in polymorphonuclear leukocytes and serum ceruloplasmin and copper levels in psoriasis*, Br J Dermatol, 120, 239-244.

- Doğan P, Kardaş Y, Köse K, Saraymen R (1994)** *Lipid peroxidation and antioxidant activity in rheumatoid arthritis*, Tr J Med Sci, 22, 31-34.
- Dolanmaz D (1998)** *Kanseröz ve nonkanseröz baş-boyun bölgesi dokularında adenozin deaminaz enzim aktivitesinin incelenmesi*, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız-Diş-Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı Doktora Tezi.
- Doll R (1982)** *Trends in cancer incidence, causes and practical implications*. In Magnus K (ed): *Cancer of the Larynx and Lung*, 183-184, Hemisphere Publishing, Washington DC.
- Draper HH, Siu GM, Valli VEO, (1983)** *Oral toxicity of MDA: A 90-day study on ice*, J Toxicol Environ Health, 11, 105-119.
- Dreher D, Junod AF (1996)** *Role of oxygen free radicals in cancer development*, Eur J Cancer, 32A, 30-38.
- Durak İ, Isik AÜ, Canbolat O, Akyol Ö, Kavutçu M (1993)** *Adenosine deaminase, 5 nucleotidase, xantine oxidase, superoxide dismutase and catalase activities in cancerous and noncancerous human laryngeal tissues*, Free Radical Biolgy & Medicine, 15, 681-684.
- Durak İ, Perk H, Kavutçu M, Canbolat O, Akyol Ö, Bedük Y (1994)** *Adenosine deaminase, 5 nucleotidase, xantine oxidase, superoxide dismutase and catalase activities in cancerous and noncancerous human bladder tissues*, Free Radical Biolgy & Medicine, 16(6), 825-831.
- Durak İ, Bayram F, Kavutçu M, Canbolat O, Öztürk HS (1996)** *Impaired enzymatic antioxidant defense mechanism in cancerous human thyroid tissues*, J Endocriol Invest, 19, 312-315.
- Durak İ, Bedük Y, Kavutçu M, Öztürk S, Canbolat O, Ulutepe S (1997)** *Activites of superoxide dismutase and glutathione peroxidase enymes in cancerous and non-cancerous human kidney tissues*, International Urology and Nephrology, 29(1), 5-11.
- Durak İ, Karaayvaz M, Öztürk HS, Kaçmaz M, Akgül H (1998)** *Activities of DNA turn-over and free radical metabolising enzymes and levels of peroxidation indices in human hepatic cancer tissues*, Cancer Research Therapy Control, 5, 195-201.
- Erden M (1992)** *Serbest radikaller*, Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Derg, 12, 201-207.
- Evans RM, Currie L, Campbell A (1982)** *The distrubition of ascorbic acid between various cellular components of blood, innormal individuals and its relation to the plazma concentration*, Br J Nutr, 47, 473-482.

- Falk RT, Pickle LW, Brown LM et al (1989)** *Effect of smoking and alcohol consumption on laryngeal cancer risk in coastal Texas*, Cancer Res, 49, 4024-4029.
- Farber E, Cameron R (1980)** *The sequential analysis of cancer development*, Adv Cancer Res, 35, 125-126.
- Flohe L, Ötting F (1984)** *SOD assays*, Methods Enzymol, 105 93-104.
- Floyd RA, Soong LM, Stuart M, Walker RN (1976)** *Lipid hydroperoxide of N-hydroxy-N-acetyl-aminofluorene via free radical route*, Cancer Res, 36, 2761-2767.
- Forslid J, Björkstén B, Hagersten K, Hed J (1989)** *Erythrocyte-mediated scavenging of reactive oxygen metabolites generated by human polymorphonuclear leukocytes during phagocytosis*, Inflammation, 13, 543-551.
- Freeman BA, Crapo JD (1982)** *Free radicals and tissue injury*, Lab invest, 47, 412-426.
- Fritsma GA (1983)** *Vitamin E and Autoxidation*, Am J Med Tech, 49, 453-456.
- Fulton AM, Heppner GH, Paul LA (1989)** *Reactive oxygen-mediated damage to murine mammary tumor cells*, Mutation research, 215, 223-234.
- Gaetani GF, Galano S, Canepa L, Farraris AM (1989)** *Catalase and glutathione peroxidase are equally active in detoxification of hydrogen peroxide in human erythrocytes*, Blood, 73, 334-339.
- Gey KF (1993)** *Prospects for the prevention of free radical disease, regarding cancer and cardiovascular disease*, Br Med Bull, 49 (3), 679-699.
- Ginter E (1979)** *Decline of coroner mortality in the United States and vitamin C*, Am J Clin Nutr, 32, (3) 511.
- Gonzales R, Auclair C, Voisin E, Gautero E, Dhermy D, Boivin P (1984)** *Superoxide dismutase catalase and glutathione peroxidase in red blood cells from patients with malignant diseases*, Cancer Res, 44, 4137-4139.
- Griffith OW, Nisshimura S, Pickett CB, Taniguchi N (1993)** *Oxy radicals and antioxidative responses in cancer*, 12th Sapporo Cancer Seminar Cancer Research, 53, 3207-3210.
- Guyton KZ, Kensler TW (1993)** *Oxidative mechanism in carcinogenesis*, Brit Med Bull, 49 (3), 523-544.
- Halliwell B (1989)** *Current status review: free radicals reactive oxygen species and human disease a critical evaluation with special reference to atherosclerosis*, Br J Exp Path, 70, 737-757.
- Halliwell B, Gutteridge JMC (1984)** *Lipid peroxidation oxygen radicals, cell damage and antioxidant therapy*, Lancet, June 23, 1396-1397.

- Halliwell B, Gutteridge JMC (1984a)** *Oxygen toxicity, oxygen radicals transition metals and diseases*, Biochem J, 219, 1-14.
- Halliwell B, Gutteridge JMC (1990)** *Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease An overview*, Methods Enzymol, 186, 1-85.
- Halliwell B (1991)** *Reactive Oxygen Species in living systems, Source, biochemistry and role in human*, Am, J Med, 91:(3)14-(3) 22.
- Halliwell B, (1994)** *Free radicals, antioxidants and human disease: curiosity, cause, or consequence*, The Lancet, 344, 721-724.
- Hassun HM (1983)** *Oxygen toxicity and mutagenesis in prokaryotes in: Cohen G, Greenworld RA, Oxy radicals and their scavenger systems*, Vol 1, Elsevier Biomedical, 198-206.
- Heckler E, Fusenig N, Marx W at al (1982)** *Carcinogenesis: A comprehensive survey*, Vol 7, Raven Press, New York.
- Hiramatsu K, Arimori S (1988)** *Increased superoxide production by mononuclear cells of patients with hypertriglyceridemia and diabetes*, Diabetes, 37, 832-837.
- Hoffman CEJ, Webster NR, Wiggins PA, Chisholm EM, Giles GR, Leveson SH (1985)** *Free radical detoxifying systems in human colorectal cancer*, Br J Cancer, 51, 127-129.
- Horwitt MK (1986)** *Interpretations of requirements for thiamin, riboflavin, niacin-triptofan and vitamin E plus comments on balance studies and vitamin B6*, Am J Clin Nutr, 44, 973-985.
- Howie AF, Forrester LM, Glancey MJ, Schlager JJ, Pavis G, Beckett GJ at al (1990)** *Glutathione S-transferase and glutathione peroxidase expression in normal and tumor human tissues*, Carcinogenesis, 11(3), 451.
- Hrusckewycz AM (1992)** *Lipid peroxidation and mt DNA degeneration, A hypothesis*, Mutation research, 275, 243-248.
- Irish JC, Bernstein A (1993)** *Oncogenes in health and neck cancer*, Laryngoscope, 103, 42-52.
- Jacobson HN (1987)** *Dietary standards and future developments*, Free Rad Biol Med, 3, 209-213.
- Jacob RA, Omaye ST, Scala JH (1987)** *Biochemical indices of human vitamin C status*, Am J Clin Nutr, 46, 818-826.

- Kaçmaz M, Dolanmaz D, Büyükoçak Hİ, Çimen S, Öztürk A (1998)** *Larinks kanserinde antioksidan potansiyel ve malondialdehit düzeyleri*, Tıp ve Sağlık Dergisi, 2(3), 25-27.
- Kaçmaz M, Biri H, Kavutçu M, Öztürk HS, Durak İ (1999)** *Activities of cytoplasmic and mitochondrial superoxide dismutase isoenzymes in cancerous human renal tissues*, Cancer Research Therapy and Control, 10, 25-29.
- Kanbagli O, Ozdemirler G, Bulut T, Yamaner S, Aykac-Toker G, Uysal M (2000)** *Mitochondrial lipid peroxides and antioxidant enzymes in colorectal adenocarcinoma tissues*, Jpn J Cancer Res, 91(12), 1258-1263.
- Kashiwagi A, Asahina T, Ikebuchi M, Tanaka Y, Tagagi Y, Nishio Y at al (1994)** *Abnormal glutathione metabolism and increased cytotoxicity caused by hydrogen peroxide in human umbilical vein endothelial cells cultured in high glucose medium*, Diabetologia, 37, 264-269.
- Kawano N, Ishimaru M, Nagao T, Setoyama R, Morioka Y (1984)** *Non-resectable hepatocellular carcinoma responding to reduced glutathione: A case report*, Acta Hepatol Jpn, 92, 1468-1473.
- Kaya S, Levent S, Sevkett R (1990)** *Laryngeal leiomyoma*, Int J Pediatr Otorhinolaryngol, 19, 285-288.
- Klebanoff SJ(1980)** *Oxygen metabolism and toxic properties of phagocytes*, Ann Int Med, 93, 480-489.
- Klebanoff PC, Waltersdorff AM, Rosen H (1982)** *Antimicrobial activity of myeloperoxidase*, Methods Enzymol, 105, 399-403.
- Knuutila S (1984)** *Role of free radicals in genetic damage (mutation)*, Med Biol, 62, 271-279.
- Kobayashi Y, Ishigame K, Ishigame Y, Usui T (1977)** *SOD activity of human granulocytes and lymphocytes*, Lancet, April, 16, 865-866.
- Koen YM, Peskin AV, Zbarsky IB (1977)** *SOD and GSH-Px activities in tumors*, Febs Letters, 78, 41-45.
- Kozumbo WJ, Trush MA, Kensler TW (1985)** *Are free radicals involved in tumor promotion*, Chem Biol Interactions, 54, 199.
- Kökoğlu E, Aktuğlu G, Belce A (1989)** *Leucocyte superoxide dismutase levels in acute and chronic leukemias*, Leukemia Research, 13 (6), 457-458.

- Kurian R, Jeejeebhoy KN, Van Gossum A, Whitwell J (1988)** *Decrease in lipid peroxidation measured by breath pentane output in normals after oral supplementation with vitamin E*, Clin Nutr, 7, 53-57.
- La Vecchia C, Negri E, D'Avanzo B at al, (1990)** *Dietary indicators of laryngeal cancer risk*, Cancer Res, 50, 4497-4500.
- Leonard TK, Watson RR, (1986)** *Selenium and vitamins A, E and C: Nutrients with cancer prevention properties*, J, Am, Diet, Assoc, 86, 505-510.
- Lunec J (1990)** *Free radicals: Their involvement in disease processes*, Ann Clin Biochem, 27, 173-182.
- Lunec J, Blake D (1990)** *Oxygen free radicals: Their relevance to disease processes, The metabolic and molecular basis of acquired diseases*, Balliere Tindall, 189-206.
- Maestro R, Dolcetti R, Gasparotto D at al (1992)** *High frequency of p53 gene alterations associated with protein overexpression in human squamous cell carcinoma of the larynx*, Oncogene, 7, 1159-1166.
- Maier H, Gewelke U, Dietz A at al (1992)** *Risk factors of cancer of the larynx: Results of the Heidelberg case control study*, Otolaryngol Head Neck Surg, 107, 577-582.
- Markert M, Andrews PC, Babior BM (1984)** *Methods Enzymol*, 105, 358-365.
- Marklund SL, (1990)** *Analysis of extracellular SOD in tissue homogenates and extracellular fluids*, Methods Enzymol, 186, 260-265.
- Matkovics B, Molnar A, Novak Z, Pataki L, Varga SJ (1985)** *Comparison of antioxidant red blood cell enzymes in premature and fullterm neonates*, Clin Chim Acta, 147, 191-195.
- Mayes PA (1993)** *Structure and function of the lipid-soluble vitamins*, In: Murray RK, Granner DK, Mayes PA- Rodwell VW, Harper's Biochemistry, 23 rd, Lange Medical publication, 588-598, London.
- Murata A (1991)** *Smoking and vitamin C*, World Rev, Nutr diet, Basel, Karger, 64, 31-57.
- Muscat JE, Wynder EL (1992)** *Tobacco, alcohol, asbestos, and occupational risk factors for laryngeal cancer*, Cancer, 69, 2244-2251.
- Nakada T, Akiya T, Koike H, Katayama T (1988)** *Superoxide dismutase activity in renal cell carcinoma*, Eur Urol, 14, 50-55.
- Niki E (1987)** *Antioxidants in relation to lipid peroxidation*, Chemistry and Physics of Lipids, 44, 227-253.
- Niki E (1991)** *Vitamin C as an antioksidant, selected vitamins, minerals and functional consequences of maternal malnutrition*, 64, 1-30.

- Nishiura T, Suzuki K, Kawaguchi T, Nakao H, Kawamura N, Taniguchi M, Kanayama Y, Yonezawa T (1992)** *Elevated serum manganese superoxide dismutase in acute leukemias*, *Cancer Let*, 62, 211-215.
- Niwa Y, Ishimoto K, Kanoh T (1990)** *Induction of SOD in leukocytes by paraquat: Correlation with age and possible predictor of longevity*, *Blood*, 76, 835-841.
- Niwa Y, Lizawa O, Ishimoto K, Akamatsu H, Kanoh T (1993)** *Age-dependent basal level and induction capacity of copper-zinc and manganese SOD and other scavenging enzyme activities in leukocytes from young and elderly adults*, *Am J Pathol*, 143, 312-320.
- Novi AM (1981)** *Regression of aflatoxin B₁-induced hepatocellular carcinomas by reduced glutathione*, *Science*, 212, 541-542.
- Oski FA (1980)** *Vitamin E-A Radical Defense*, *New Eng J Med*, 303, 454-455.
- Özdemir G, (1993)** *Reaktif Oksijen Partikülleri*, Roche Bilimsel Eserler Serisi, 4-13, Eskişehir.
- Öztürk HS, Karaayvaz M, Kaçmaz M, Kavutçu M, Akgül H, Durak İ (1998)** *Activities of the enzymes participating in purine and free-radical metabolism in cancerous human colorectal tissues*, *Cancer Biochem Biophys*, 16, 157-168.
- Packer L, Landvik, S, (1990)** *Vitamin E in biological systems, Antioxidants in therapy and preventive medicine*, 262, 93-103.
- Packer L (1991)** *Protective role of vitamin E in biological systems*, *Am, J Clin Nutr*, 53, 1050-1055.
- Paglia DE, Valentine WN (1967)** *Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte GSH-Px*, *J Lab Clin Med*, 70, 158-168.
- Paoletti F, Mocali A (1990)** *Determination of SOD activity by purely chemical system based on NAD(P)H oxidation*, *Methods Enzymol*, 186, 209-220.
- Parker SL, Tong T, Bolden S, Wingo PA (1997)** *Cancer statistics*, *CA Cancer J Clin*, 47, 5-27.
- Perchellet JP, Abney NL, Thomas RM, Guislain YL, Perchellet EM (1987)** *Effect of combined treatments with selenium glutathione and vitamin E on GSH-Px activity ornithine decarboxylase induction and complete and multistage carcinogenesis in mouse skin*, *Cancer Research*, 47, 477-485.
- Peskin AV, Koen YM, Zbasky IB (1978)** *Superoxide dismutase and glutathione peroxidase activity in tumors*, *FEBS Letters*, 1, 41.

- Pitot HC (1979)** *Biological and enzymatic events in chemical carcinogenesis*, Annu Rev, 30, 25-39.
- Player TJ, Mills PL, Horton AA (1977)** *Age-dependent changes in rat liver microsomal and mitochondrial NADPH-dependent lipid peroxidation*, Biochem Biophys Res Commun, 78, 397-402.
- Portakal O, Ozkaya O, Erden Inal M, Bozan B, Kosan M, Sayek I (2000)** *Coenzyme Q10 concentrations and antioxidant status in tissues of breast cancer patients*, Clin Biochem, 33(4), 279-284.
- Porter NA (1984)** *Chemistry of lipid peroxidation*, Methods Enzymol, 105, 273-282.
- Pronai L, Ichikawa Y, Nakazawa H, Arimori S (1991)** *Enhanced superoxide generation and the decreased superoxide scavenging activity of peripheral blood leukocytes in Behçet's disease-effect of colchicine*, Clin Exp, Rheum, 9, 227-233.
- Pryor WA, Castle L (1984)** *Chemical methods for the detection of lipid hydroperoxides*, Methods Enzymol, 105, 293-299.
- Pryor WA (1986)** *Oxyradicals and related species: their formation, lifetimes and reactions*, Ann Rev Physiol, 48, 657-667.
- Ramadan MF, Morton RP, Stelle PM et al (1982)** *Epidemiology of laryngeal cancer*, Clin Otolaryngol, 7, 417-428.
- Randall T (1992)** *Mitochondrial DNA:Edinsel ve Doğumsal gen bozukluklarında yeni bir öncü*, JAMA Tıp Dergisi Eylül, Gen Teknolojisi Eki, 20-22.
- Richter C (1992)** *Reactive oxygen and DNA damage in mitochondria*, Mutation Research, 275, 249-255.
- Rister M, Bauermeister K, Gravert U, Gladtko E, (1978)** *SOD deficiency in rheumatoid arthritis*, The Lancet, May, 20, 1094.
- Robert K, Murray MD(1991)** *Cancer, Oncogenes and Growth Factors* In "Harper's Biochemistry", Middle East Edition, 650-651.
- Sainkin R, Caruso C, Berlyne GM (1991)** *Effect of nickel on oxygen free radical metabolism, Inhibition of superoxide dismutase and enhancement of hydroxydopamine autoxidation*, Biol Trace Elem Res, 28, 213-221.
- Sies H (1991)** *Oxidative stress:From basic research to clinical application*, Am J Med, 91 (3), 31-38.
- Singh SV, Brunnert SR, Roberts B, Krishan A (1990)** *Differential expression of glutathione S-transferase, glutathione peroxidase and glutathione reductase in normal and malignant human breast tissues*, Cancer Letters, 51, 43.

- Skrzydłewska E, Stankiewicz A, Sulkowska M, Sulkowski S, Kasacka I (2001)** *Antioxidant status and lipid peroxidation in colorectal cancer*, J Toxicol Environ Health A, 64(3), 213-222.
- Southorn PA, Powis G (1988)** *Free radicals in medicine I chemical nature and biologic reactions*, Mayo Clin Proc, 63, 380-408.
- Spallholz JE, (1990)** *Selenium and GSH-Px: Essential nutrient and antioxidant component of the immune system*, Adv Exp Med Biol, 262, 145-158.
- Stryer L, (1988)** *Biosynthesis of amino acids and heme in: Biochemistry* 3. ed W H Freeman and Company, 575-600, New York.
- Taner F (1975)** *Metabolizma ve nutrisyon fizyopatolojisi*, 1. baskı, 275.
- Tihan T, Chiba P, Eher R, Goebel R, Pernerstorfer T, Kraupp M (1989)** *Influence of cell cycle on glutathione-S-transferase, selenium dependent glutathione peroxidase superoxidase dismutase and glutathione levels in human myeloid leukaemia cell lines*, Carcinogenesis, 10(9), 1709-1712.
- Vaca CE, Wilhelm J, Harms-Ringdahl M (1988)** *Interaction of lipid peroxidation products with DNA*, A review, Mutation research, 195, 137-149.
- Van Balgooy JNA, Roberts E (1979)** *Superoxide dismutase in normal and malignant tissues in different species*, Comp Biochem Physiol, 62 B, 263-268.
- Vera JC, Rivas CL, Zhang RH, Farber CM, Golde DW (1994)** *Human HL-60 myeloid leukemia cells transport dehydroascorbic acid via the glucose transporters and accumulate reduced ascorbic acid*, Blood, Sep 1:84(5), 1628-1634.
- Vo TKO, Druetz C, Delzenne N, Taper HS, Roberfroid M (1988)** *Analysis of antioxidant defense systems during rat hepatocarcinogenesis*, Carcinogenesis, 9 (11), 2009-2013.
- Weiss SJ, Lobuglio AF (1982)** *Phagocyte-generated oxygen metabolites and cellular injury*, Lab invest, 47, 5-18.
- Welsch CW (1985)** *Host factors affecting growth of carcinogen-induced rat mammary carcinomas: a review and tribute to Charles Brenton-Huggins*, Cancer Res, 45, 3415-3443.
- Winrow VR, Winyard PG, Morris CJ, Blake DR (1993)** *Free radicals in inflammation: second messengers and mediators of tissue destruction*, Br Med Bull, 49(3), 506-522.
- Wynder EL, Covey LS, Mabuchi K et al (1976)** *Environmental factors in cancer of the larynx, a second look*, Cancer, 38, 1591-1601.

Yang J, Lam EW, Hammad HM, Oberley TD, Oberley LW (2002) *Antioxidant enzyme levels in oral squamous cell carcinoma and normal human oral epithelium*, J Oral Pathol Med, 31(2), 71-77.

Yavuzer S, (1993) *Oksidan stres ve hücre hasarı: Serbest oksijen radikallerine karşı savunma sistemleri*, TTB Tıpta Temel Bilimler Kolu Sonbahar Okulu, Ekim, 6-9.

Yiğit Ş, Yurdakök M (1996) *Yeni doğanlarda serbest radikallere bağlı hastalıklar*, Çocuk Sağlığı Hastalıkları Derg, 39, 749-765.

Yigitbasi OG, Guney E, Haghghi N, Dogan P, Saraymen R, Balkanli S (2000) *Oxidant and antioxidant status in larynx squamous cell carcinomas*, J Exp Clin Cancer Res, 19(4), 447-451.



9. ÖZGEÇMİŞ

1969 yılında Seydişehir’de doğdu. İlk öğrenimini Seydişehir’de, orta öğrenimini Konya’da tamamladı. 1989 yılında Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi’ne girdi ve 1994 yılında mezun oldu. 1996 yılında aynı fakültenin Ağız-Diş-Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı’nda doktora öğrenimine başladı. Evli ve bir çocuk babasıdır.



10. TEŞEKKÜR

Doktora öğrenciliğim boyunca ve tezimin hazırlanmasında maddi ve manevi katkılarını esirgemeyen Ağız-Diş-Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof.Dr. Adnan ÖZTÜRK'e, tez çalışmalarım boyunca büyük yardımlarını gördüğüm Sayın Prof.Dr. Mehmet GÜRBİLEK, Prof.Dr. Ziya CENİK, Prof.Dr. Yavuz UYAR, Prof.Dr. Bedri ÖZER ve Yrd.Doç.Dr. Doğan DOLANMAZ'a, yine tez çalışmalarımdeki yardımlarından dolayı Sayın Yrd.Doç.Dr. Hamdi ARBAĞ ve Yrd.Doç.Dr. Kayhan ÖZTÜRK'e ve istatistiksel değerlendirmelerdeki katkılarından dolayı Sayın Dr. Fatih KARA'ya teşekkürlerimi sunarım.