



**T.C.**

**CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ**

**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**AKCİĞER KANSERLİ HASTALARIN PLAZMALARINDA POLİAMİN  
YOLAĞINA AİT ENZİM DÜZEYLERİ VE OKSİDATİF STRES  
İNDEKSİ TAYİNİ**

**SERKAN KAPANCIK**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**SİVAS  
2014**



**T.C.**

**CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ**

**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**AKCİĞER KANSERLİ HASTALARIN PLAZMALARINDA POLİAMİN  
YOLAĞINA AİT ENZİM DÜZEYLERİ VE OKSİDATİF STRES  
İNDEKSİ TAYİNİ**

**SERKAN KAPANCIK**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI**

**Doç. Dr. V. KENAN ÇELİK**

**SİVAS  
2014**

Bu çalışma Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Biyokimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan .....

Üye.....

Üye.....

Üye .....

Üye (Danışman).....

#### ONAY

Bu tez çalışması, 24/09/2014 tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ali ÇELİKSÖZ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
MÜDÜRÜ

Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi senatosunun 24.09.2008 tarih ve 007 sayılı kararına göre kabul edilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü tez yazım kılavuzu adlı yönelgeye göre hazırlanmıştır. Bu tez çalışması Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir (Proje No T-540).

## ÖZET

### AKCİĞER KANSERLİ HASTALARIN PLAZMALARINDA POLİAMİN YOLAĞINA AİT ENZİM DÜZEYLERİ VE OKSİDATİF STRES İNDEKSİ TAYİNİ

**Serkan KAPANCIK**

Yüksek Lisans Tezi, Biyokimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. V. Kenan ÇELİK

2014, 77 sayfa

Bu çalışmada poliamin yolağına ait enzim düzeyleri ve oksidatif stres indeksi 36 akciğer kanseri hastası ve 36 sağlıklı kontrol üzerinde incelenmiştir. Çalışmanın amacı akciğeri kanserinde bu parametrelerin düzeylerinin belirlenerek kontrol grubuna göre farklılıkların belirlenmesidir. Ornitin Dekarboksilaz(ODC) düzeyi ( $P=0,001$ ,  $P<0,05$ ), Agmatinaz düzeyi ( $P=0,001$ ,  $P<0,05$ ), Arjinaz enzim aktivitesi ( $P=0,001$ ,  $P<0,05$ ), Toplam Antioksidan Kapasitesi(TAK) ( $t=3,14$ ,  $P<0,05$ ), Toplam Oksidan Kapasitesi(TOS) ( $P=0,001$ ,  $P<0,05$ ), Oksidatif Stres İndeksi(OSİ) ( $P=0,001$ ,  $P<0,05$ ) hasta ve kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Fakat iki grup arasında Arjinin Dekarboksilaz düzeyi(ADC) ( $P=0,424$ ,  $P>0,05$ ) ve Ornitin düzeyinde ( $t=0,17$ ,  $P>0,05$ ) istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

Çalışmada akciğer kanserli hastalarda ornitin dekarboksilaz düzeyi, agmatinaz düzeyi, arjinaz enzim aktivitesi, toplam oksidan kapasitesi ve oksidatif stres indeksinde artış gözlemlendi. Toplam oksidatif kapasite artarken, toplam antioksidan kapasitesinde ise azalma gözlemlenmiştir. Bu da doğal olarak oksidatif stres indeksinde yükseltmiştir. Çalışmamızın bulgularına dayanarak poliamin düzeyinde oluşabilecek muhtemel artış, poliamin bağımlı olan kanserin seyrini kötüleştiriyor olabilir. Ayrıca oksidatif stresdeki artışın, çalışmamıza dahil edilen hastalarda akciğer kanserinin ortaya çıkışında etkili olup olmadığı bilmesede hastalığın seyri esnasındaki bu artış hastalığın prognozunu kötü yönde etkiliyor olabilir.

**Anahtar kelimeler:** Akciğer Kanseri, Arjinin Dekarboksilaz, Ornitin Dekarboksilaz, Agmatinaz, Toplam Oksidan Kapasitesi, Toplam Antioksidan Kapasitesi, Oksidatif Stres İndeksi, Poliamin

## ABSTRACT

### DETERMINATION OF POLYAMINE PATHWAY ENZYME LEVELS AND OXIDATIVE STRESS INDEX AMONG LUNG CANCER PATIENT'S PLASMA

**Serkan KAPANCIK**

Master of Science Thesis, Department of Biochemistry

Supervisor: Associate Prof. Dr. V. Kenan ÇELİK

2014, 77 pages

In this study, enzyme levels of polyamine pathway and oxidative stress index were observed among 36 lung cancer patients and 36 healthy people who are involved to control group. Objective of this study is to determine these parameter levels on lung cancer and then compare differences to control group.

Ornithine Decarboxylase(ODC) level ( $P=0,001$ ,  $P<0,05$ ), Agmatinase level ( $P=0,001$ ,  $P<0,05$ ), Arginase enzyme activity ( $P=0,001$ ,  $P<0,05$ ), Total Antioxidant Capacity(TAK) ( $t=3,14$ ,  $P<0,05$ ), Total Oxidant Capacity(TOS) ( $P=0,001$ ,  $P<0,05$ ), Oxidative Stress index(OSI) ( $P=0,001$ ,  $P<0,05$ ) differences have been found statistically significant between control group and patients group.

On the other hand, Arginine Decarboxylase(ADC) level ( $P=0,424$ ,  $P>0,05$ ) and Ornithine level ( $t=0,17$ ,  $P>0,05$ ) differences have been found statistically pointless between the patients and control group,

In this study, it was observed that ornithine decarboxylase, agmatinase levels, arginase enzyme activity, total oxidant capacity and oxidative stress index among lung cancer patients were decreasing.

It was also found that total oxidative capacity was increasing while total antioxidant capacity was decreasing. And this situation naturally led oxidative stress index to increase.

According to our study's results, probable increment on polyamine level may aggravate polyamine relation cancer's process. Furthermore, it isn't known wheather increment of oxidative stress can effect occuring lung cancer or not still if this increment happens during the progress of disease this could effect cancer's prognosis in a bad way.

**Keywords:** Lung Cancer, Arginine Decarboxylase, Ornithine Decarboxylase, Agmatinase, Total Oxidant Capacity, Total Antioxidant Capacity, Oxidative Stress Index, Polyamine

## TEŞEKKÜR

Tez alıŐması boyunca değerli bilgi ve tecrübeleriyle çalıŐmalarımın her aŐamasında bana yol gÖsteren danışman hocam sayın Doç. Dr. V. Kenan ÇELİK' e yoğun çalıŐmalarım süresince bilgi ve emeğini esirgemeyen Biyokimya Anabilim Dalı'nın tüm Öğretim üyelerine ayrıca istatistiksel analizlerim sırasında bana yol gÖsteren değerli hocam Yard. Doç. Dr. Ziyet ÇINAR'a tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

Bu alıŐma süresince maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen DEğERLİ AİLEME sonsuz teŐekkürlerimi sunarım.

# İÇİNDEKİLER

	SAYFA NO
<b>ÖZET</b>	i
<b>ABSTRACT</b>	ii
<b>TEŞEKKÜR</b>	iii
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>	vii
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b>	viii
<b>KISALTMALAR DİZİNİ</b>	ix
<b>1.GİRİŞ VE AMAÇ</b>	1
<b>2.GENEL BİLGİLER</b>	2
<b>1.Akciğer Kanseri</b>	2
1.1.Epidemiyoloji	2
1.2.Etiyoloji	2
1.2.1.Sigara İçimi	2
1.2.2.Radon	3
1.2.3.Mesleki Maruziyet	3
1.2.4.Asbest	4
1.2.5.Beslenme	4
1.2.6.Hava Kirliliği	4
1.2.7.Geçirilmiş Akciğer Hastalıkları	5



1.2.8.Genetik yatkınlık	6
<b>2.Poliaminler</b>	6
2.1.Poliamin Yolağı Enzimleri	11
2.2.Poliaminlerin Kanserle İlişkisi	13
<b>3.Serbest Radikaller Ve Oksidatif Stres</b>	15
3.1.Serbest Radikallerin Etkileri	19
3.2.Antioksidanlar	21
3.3.Oksidatif Stres	22
3.4.Oksidatif Stresin Kanserle İlişkisi	22
<b>3.GEREÇ VE YÖNTEMLER</b>	25
3.1.Gereçler	25
3.1.1.Kullanılan Gereçler	
3.2.Yöntem	25
3.2.1.Hasta ve Kontrol Grubu	25
3.2.2.Kan Örneklerinin Toplanması	25
3.2.3.Arjinin Dekarboksilaz(ADC) Tayini	26
3.2.4.Ornitin Dekarboksilaz(ODC) Tayini	26
3.2.5.Agmatinaz Tayini	27
3.2.6.Arjinaz Aktivite Tayini	28
3.2.7.Ornitin Tayini	29
3.2.8.Total Antioksidan Kapasite( TAK) Ölçümü	29
3.2.9.Total Oksidan Kapasite( TOK) Ölçümü	30
3.2.8.Oksidatif Stres İndeksi( OSİ)	30
<b>4.İSTATİSTİKSEL ANALİZ</b>	31
<b>5.BULGULAR</b>	32
<b>6.TARTIŞMA VE SONUÇ</b>	35

<b>7.KAYNAKLAR</b>	42
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	60
<b>EKLER</b>	61
EK-1. Cumhuriyet Üniversitesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu Karar Formu	61
EK-2. Bilgilendirilmiş Olur Formu	64

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### SAYFA NO

Şekil 2.1 Poliaminlerin Sentezi	6
Şekil 2.2 Oksijen molekülünün elektron sayısı ve oluşan oksidan moleküller	16
Şekil 3.1 Arjinin Dekarboksilaz standart eğri grafiği	26
Şekil 3.2 Ornitin Dekarboksilaz standart eğri grafiği	27
Şekil 3.3 Agmatinaz standart eğri grafiği	27

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	SAYFA NO
Çizelge 5.1 Kontrol ve Hasta Gruplarının Cinsiyetine Ait Bilgiler ve Değerlendirilmesi	32
Çizelge 5.2 Kontrol ve Hasta Gruplarının Yaşına Ait Bilgiler ve Değerlendirilmesi	32
Çizelge 5.3 Ölçülen Parametrelerin Hasta ve Kontrol Grubunda Değerlendirilmesi	33

## KISALTMALAR DİZİNİ

<b>ABD</b>	Amerika Bileşik Devletleri
<b>ADC</b>	Arjinin Dekarboksilaz
<b>Adomet-DC</b>	S-adenozilmetiyonin dekarboksilaz
<b>AMPA</b>	$\alpha$ -amino-3-hidroksi-4-metil-5-izoksazolepropionik asit
<b>CAT</b>	Katallaz
<b>DFMO</b>	Diflorometilornitin
<b>EGF</b>	Endotel Growth Faktör
<b>eIF5A</b>	Ökaryotik başlatma faktörü 5A
<b>GR</b>	Glutasyon redüktaz
<b>GST-Px</b>	Glutasyon Peroksidaz
<b>G6PD</b>	Glukoz 6-fosfat Dehidrojenaz
<b>Kir</b>	Ekstraselüler içe doğrultucu potasyum kanalları
<b>MDA</b>	Malondialdehit
<b>MAPK</b>	Mitojen aktive olan protein kinaz
<b>NF-Kb</b>	Nükleer Faktör Kappa b
<b>NMDA</b>	N- Metil-D-Aspartat
<b>NOS</b>	Nitrik oksit sentaz
<b>NO</b>	Nitrik Oksit
<b>ODC</b>	Ornitin Dekarboksilaz
<b>ODC-Az</b>	Antizim Ornitin Dekarboksilaz
<b>TOS</b>	Toplam Oksidan Kapasitesi
<b>ROT</b>	Reaktif Oksijen Türleri
<b>SOD</b>	Süper Oksit Dismutaz
<b>SSAT</b>	Spermidin-spermin-N <sup>1</sup> -asetiltransferaz
<b>TAS</b>	Toplam Antioksidan Kapasite
<b>TOS</b>	Toplam Oksidan Kapasite
<b>8-OhdG</b>	8-hidroksi-2'-deoksiguanozin

## GİRİŞ VE AMAÇ

Akciğer kanseri sık görülen kanser türü olup, kanser ölümleri arasında erkeklerde 1. sırada, kadınlarda ise meme kanserinden sonra 2. sırada yer almaktadır. Her yıl dünyada yaklaşık 1 milyon kişi akciğer kanseri nedeniyle ölmekte, akciğer kanserli hasta sayısında yılda % 0,5 oranında artış meydana gelmektedir(1).

Memeli hücrelerinde bulunan putresin, spermidin ve spermin hücre büyümesi için gerekli olan, transkripsiyon, translasyon ve protein sentezinin başlamasını kolaylaştıran alifatik poliaminlerdir(2,3). Poliaminlerin sentezindeki ilk basamak reaksiyonlar arginaz tarafından katalizlenen reaksiyonla argininin ornitine dönüşümü ve arjinin dekarboksilaz tarafından arjininin agmatine dönüşümüdür. Ornitinden putresin'in sentezi ornitin dekarboksilaz tarafından, agmatinden putresin'in sentezi ise agmatinaz tarafından katalizlenir(4,5). Neoplastik gelişim sürecinde poliamin biyosentezinin regülasyonunun önemli değişikliklere uğradığı bildirilmiştir(6).

Bu çalışmada hücre büyümesi ve farklılaşmasında önemli görevleri olan poliaminlerin sentezindeki kilit parametrelerden olan ornitin, arjinaz, arjinin dekarboksilaz, agmatinaz, ornitin dekarboksilaz tayininin yapılabilmesi ve bu parametrelerin akciğer kanseri ile ilişkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Serbest radikaller, bir atom ya da molekül yörüngesinde eşleşmemiş bir elektron bulunduran yüksek oranda reaktif kimyasal ürünlerdir. Vücutta doğal metabolik yollarla serbest radikaller oluşur, ancak radikal parçalayan antioksidan sistemlerle oluşan serbest radikaller ortadan kaldırıldığında herhangi bir sitotoksiste oluşmaz. Fakat bu işleyişin radikaller lehine bozulduğu durumlarda bir dizi patolojik olay meydana gelir. Serbest radikallerden etkilenen membran yapısındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu sonucunda lipid peroksidasyonu oluşur. Kanser başta olmak üzere çok sayıda hastalıkta lipid peroksidasyonunun önemli rol oynadığı bilinmektedir(7).

Bu çalışmada ek olarak toplam antioksidan kapasitesi, toplam oksidan kapasitesi, oksidatif stres indeksi parametrelerinin saptanması ve bu parametrelerin akciğer kanseri ile ilişkilerinin araştırılması da amaçlanmıştır.

## **2.GENEL BİLGİLER**

### **1. Akciğer Kanseri**

#### **1.1.Epidemiyoloji**

Akciğer kanseri sık görülen bir kanser türü olup, kanser ölümleri arasında erkeklerde en sık, kadınlarda ise meme kanserinden sonra 2. sırada gelmektedir. Erkeklerde kanser ölümlerinin % 34'ü, kadınlarda ise % 22'si akciğer kanserinden kaynaklanmaktadır. Tüm dünyada kanserler arasında % 12,8 (yılda 1 milyon yeni vaka) oranında görülmektedir ve tüm kanser ölümlerinin % 17,8'ini meydana getirmektedir. 2000 yılında dünyada yeni tanı almış 1,2 milyon akciğer kanserli hasta olup, bunların da % 52'si gelişmiş ülkelerde görülmektedir. Her yıl dünyada yaklaşık 1 milyon kişi akciğer kanseri sebebiyle ölmekte ve akciğer kanserli hasta sayısında yılda % 0,5 oranında artış görülmektedir. Erkeklerde en sık, kadınlarda ise 5. sıklıkta görülen kanser türüdür. Akciğer kanseri insidansı özellikle 65 yaş ve üzerinde oldukça artmaktadır(1,8).

Etiyolojisinde büyük oranda sigaranın rol oynaması engellenebilir bir kanser tipi olma özelliğini beraberinde getirmektedir. Sigara içiminin ve endüstrinin artmasıyla birlikte 1950'li yıllardan sonra insidansı giderek artmaktadır. Kadınlarda da insidans giderek yükselmekte ve akciğer kanseri görülme yaşı düşmektedir. Ayrıca mortalitesi yüksek olan ve tedaviye rağmen 5 yıllık yaşam süresinin hastaların % 10-15'inde sağlandığı bir hastalıktır(1,8).

Akciğer kanseri düşük sosyoekonomik seviyelerde ve kentsel yerleşimlerde daha yüksek oranda görülmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde, Avrupa, Avustralya, Yeni Zelanda ve Doğu Asya'da oldukça sık görülen bir kanser türüdür. Amerika Birleşik Devletlerin'de akciğer kanseri insidansı siyah erkeklerde beyaz erkeklerden % 50 daha fazla olmasına rağmen, beyaz ve siyah kadınlarda oranlar oldukça benzerdir(1,9).

#### **1.2.Etiyoloji**

##### **1.2.1. Sigara içimi**

Akciğer kanserinin patogenezinin % 85-90 oranında sigara sorumlu olup, etkeni belli olan kanserlerden biridir. Günlük içilen sigara sayısının ve içilen yılın artması, sigaraya erken yaşta başlanması, filtresiz ve yüksek katran içerikli sigara içilmesi akciğer kanseri yönünden riski arttırmaktadır. Sigarayı bırakma süresi ile orantılı olarak risk azalmaktadır. Sigara içilen yıl sayısı (paket/yıl) büyük öneme sahiptir. Günde bir paket ve üzeri ile 20 yıl ya da daha fazla süre sigara içenlerde akciğer kanseri riski 10-65 kat daha yüksektir. Sigarayı bıraktıktan sonraki 5. yıldan itibaren risk düşmektedir(10,11).

Sigara dumanının etkisi, karsinojenlerin DNA'ya kadar ulaşması, DNA'da hatalı kodlama ve mutasyon meydana getirmesi yoluyla olmaktadır. Sigara karsinojenler, kokarsinojenler (kendileri karsinojen olmayan ancak diğer maddelere karsinojen özellik kazandıran) ve tümör promotörleri (karsinogenezisi geri dönüşümsüz olarak potansiyalize eden ve kendileri karsinojen olmayan maddeler) olmak üzere çok sayıda maddeyi içermektedir. Sigara dumanındaki önemli karsinojenler, polisiklik hidrokarbonlar, aromatik aminler, nitrozaminler, piridin alkaloidler ve radyoaktif moleküllerdir(12). Sigara, onkogenleri aktive etmekte ve kanser baskılayıcı genleri süprese etmektedir. Bunun yanı sıra onkogen veya tümör baskılayıcı gen sisteminde 10-20 arasında mutasyon oluşturduğu ve buna bağlı akciğer kanseri meydana geldiği düşünülmektedir(13).

### **1.2.2. Radon**

Radon uranyumun parçalanmasıyla oluşan radyoaktif bir gazdır. Yerküre yüzeyinde herhangi bir yerde bulunabilmektedir. Coğrafik bölgenin jeolojik yapısıyla ilişkili olarak çevreye yayılım göstermektedir. Binalarda birikebilmekte ve yüksek konsantrasyonlara ulaşabilmektedir. Yapılan çalışmalarda radonun yüksek konsantrasyonda inhalasyonuna bağlı olarak akciğer kanseri riskinin yüksek oranda arttırdığı bildirilmiştir. Avrupanın birçok bölgesinde radon, akciğer kanserinin meydana gelmesinde sigaradan sonra ikinci nedendir (14).

### **1.2.3. Mesleki maruziyet**

Mesleki bazı ajanların akciğer kanserine yol açtığına dair çalışmalar bulunmaktadır. Bu ajanlara maruziyet sonucunda akciğer kanseri 1,3-1,6 kez daha sık gözlenmektedir. Mesleki akciğer kanserli olguların yarısından fazlası asbest maruziyeti ile



yakından ilişkilidir. Avrupa Birliğinde çalışanların % 23'ünün mesleki karsinogen maruziyetinde olduğu saptanmıştır. Asbest dışında mesleki olarak radon, krom, nikel, kömür, kadmiyum, uranyum parçalanma ürünleri, demir, arsenik, alüminyum, polisiklik hidrokarbonlar ve formaldehite maruz kalmak akciğer kanseri riskini arttırmaktadır(9).

#### **1.2.4. Asbest**

Asbest doğada bulunan, ısıya ve kimyasal maddelere oldukça dayanıklı olan bir grup fibröz silikatın genel adıdır. Gemi, uçak, otomobil, inşaat sanayide ve tekstil endüstrisinde kullanılmaktadır. Asbestin mesleki karsinogen olma etkisi neredeyse kesin kanıtlara dayanır. Asbest liflerinin solunum yolu ile akciğerlere alınması akciğer kanseri gelişimine yol açabilmektedir. İngiltere'de yapılan bir araştırmada tekstil işçilerinde akciğer kanseri riskini 10 kat artırdığı ayrıca ABD'de de yapılan başka bir araştırmada izolasyon işçilerinde akciğer kanserini 7 kat artırdığı gösterilmiştir(15,16). Asbestin bu etkisini direkt yada indirekt yollarla mı (kronik inflamasyona yol açarak sonrasında akciğer kanseri gelişmesi vb.) oluşturduğu bilinmemektedir. Sigara içimi ve asbest maruziyeti birlikteliği akciğer kanseri oluşumunda oldukça etkilidir(17).

#### **1.2.5. Beslenme**

Beslenmenin akciğer kanserinde koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir. Sebze ve meyveler, içerdikleri antioksidan ve vitaminler sayesinde koruyucu gıdalardır. Beta karotenler en önemli koruyucu olarak bilinmektedir. Elma, greyfurt, kırmızı şarap, domates, havuç, brokoli ve çayda bulunan flavonoidlerin akciğer kanserine karşı koruyucu olduğu gösterilmiş ayrıca zeytinyağı, omega-3 ve omega-6 yağ asitlerinden zengin diyetin akciğer kanserini azalttığı saptanmıştır. Sigara içicilerinde ve sigara içmeyenlerde, taze sebze ve meyve, vitamin C, karotenoidlerin (özellikle beta karotenin) akciğer kanseri riskini tüm histopatolojik tipler için ve her iki cinsiyette de önemli ölçüde düşürmektedir(18,19).

#### **1.2.6. Hava Kirliliği**

Yetişkin bireyler günde yaklaşık 10000 lt hava akciğerlerine çeker. Akciğerlere çekilen havadaki düşük konsantrasyonlardaki karsinogenler akciğer kanseri riskini arttırabilir. Endüstriyel bölgelerdeki hava kirliliği akciğer kanserinin daha fazla görülmesinde önemli faktördür. Fosil yakıtların yanması ile oluşan poliaromatik

hidrokarbonlar, arsenik, nikel, krom, kömür dumanı, egzoz dumanı havayı kirleten önemli karsinojen etkenlerdir(10).

### **1.2.7. Geçirilmiş Akciğer Hastalıkları**

Akciğer kanser riskinin tüberküloz, pulmoner fibrozis (örn. silikozis), kronik bronşit ve amfizemi olan hastalarda arttığı saptanmıştır. Lokalize akciğer skar alanlarında ve diffüz akciğer fibrozisi olan kişilerde akciğer kanseri oluştuğu saptanmıştır. Skar yakınında mikroskopik olarak epitelyal hiperplazi bildirilmiştir. Skar zemininde kanser oluşumunun patogenezi tam olarak bilinmemektedir. Skar ve fibrozis sonucu gelişen avaskülarite ve doku anoksisinin epitel metaplazisine yol açtığı ve karsinogenezi hazırladığı tahmin edilmektedir. Skar alanlarında yüksek adenokarsinom insidansı saptanmıştır(20).

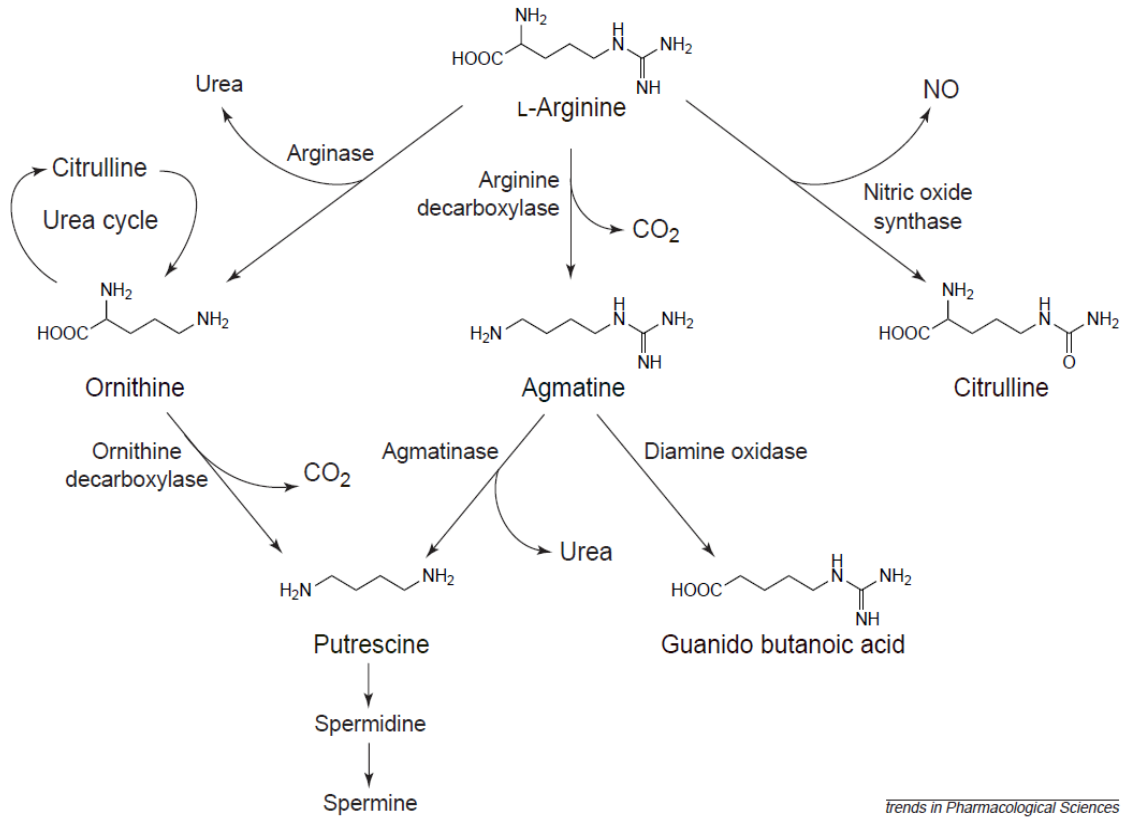
### **1.2.8. Genetik yatkınlık**

Sigara içimi dahil, çevresel ajanlara maruz kalanların hepsinde değil ama bir kısmında akciğer kanseri ortaya çıkmaktadır. Tüm sigara içicilerin % 10-20'sinde akciğer kanseri gelişimi, genetik yatkınlığın önemini göstermektedir. Genetik aktarım, sigaradan sonra oldukça önemli risk faktörüdür. Bazı epidemiyolojik çalışmalarda ailesinde akciğer kanseri öyküsü bulunanlarda, risk açısından genetik hassasiyet olduğu saptanmıştır(21). Elli iki soyağacı incelenmesine dayanan bir analizde kromozom 6q23-25 lokusunun akciğer kanserine yatkınlıkla ilişkili olduğu belirlenmiştir. Özellikle daha genç yaşlarda ortaya çıkan hastalıkta genetik faktörün önemli rol oynadığı tahmin edilmektedir(22).

## **2. Poliaminler**

Poliaminler bitkiler, hayvanlar ve mikroorganizmalarda bulunan organik katyonlardır. Düşük molekül ağırlıklı, suda çözünen alifatik aminlerdir. Vücut içi pH'sında protonlanmışlardır. Poliaminlerin fonksiyonları taşıdıkları elektriksel yüke dayanır. İlk olarak seminal sıvıda belirlenmişlerde, poliaminler tüm hücre tiplerinde değişen konsantrasyonlarda bulunurlar. Hızlı turn-over olan hücrelerde yüksek düzeyde gözlenmektedirler(23,24).

Poliaminler iki yolak üzerinden meydana gelir. Birinci yolakta; arjinin dekarboksilaz enziminin katalizlediği reaksiyonla arjinin aminoasitinden agmatin oluşur. Agmatinaz enziminin katalizlediği reaksiyonla ise agmatinden putresin oluşur. İkinci yolakta; arjinaz enziminin katalizlediği reaksiyonla arjinden ornitin oluşur. Ornitin ise ornitin dekarboksilaz enziminin katalizlediği reaksiyonla putresine dönüşür. Putresinden spermidin sentaz enziminin katalizlediği reaksiyonla spermidin, spermidinden ise spermin sentaz enziminin katalizlediği reaksiyonla ve spermin oluşur(25).



*trends in Pharmacological Sciences*

Şekil 2.1. Poliaminlerin Sentezi (25)

Memelilerde spermin ve spermidin poliaminlerin en önemlileridir. Onların öncülü putresindir. Fizyolojik pH'ta katyonik moleküller olmalarından dolayı zıt yüke sahip RNA, DNA, nükleotit trifosfatlara, fosfolipidlere ve proteinlere bağlanırlar(26,27). Poliaminlerin yalnızca %2-15'i sitoplazmada serbesttir. Çoğunluğu RNA'ya bağlı olarak bulunur. Hücre içi spermidin ve sperminin büyük çoğunluğunun RNA'ya bağlanması poliaminlerin fonksiyonlarını yerine getirmesine aracılık eder(28). Poliaminler taşıyıcı, ribozomal ve mesajcı RNA'ya bağlanarak onların ikincil yapılarında değişikliklere yol açar. tRNA poliaminler aracılığıyla stabilize olup işlevini

yerine getirebilir. Ayrıca rRNA'nın fosfat grupları spermidin ve spermin aracılığıyla nötralize edilir. Sperminin pozitif yükünün putresin ve spermidinin pozitif yüklerine göre daha yüksek olması sebebiyle spermin anyonik molekülleri daha hızlı bir şekilde toplar ve stabilize eder(29-33).

Prokaryot hücrelerde mRNA okumada translasyonel çerçeve kaydırma genel düzenleyici mekanizmadır. Diğer taraftan ökaryotlarda çerçeve kaydırma, memelilerde eksprese edilen antizimin translasyonunda bulunur. Antizim ornitin dekarboksilaz(ODC-Az) aktivite ve poliamin taşınımının negatif regülatörüdür. Antizimin translasyonu, poliamin konsantrasyonunun yükselmesi aracılığıyla artar(34).

Poliaminlerin yükselen düzeyi mitojenle aktive olan protein kinaz(MAPK) ile ilişkili belirli transkripsiyon faktörlerinin(c-fos, c-myc) ekspresyonunu uyarır. Poliaminlerin düzeyindeki azalma ornitin dekarboksilaz inhibitörü DFMO(diflorometilornitin)'nin uygulanması ile sağlanabilir. DFMO uygulanması ile c-fos, c-myc, c-jun transkripsiyon faktörlerinin mRNA düzeyleri azalır(35-37). Poliamin düzeyindeki azalma hücre döngüsünün ilerlemesini durdurur. Bunun yanında azalan poliamin düzeyleri belirli büyüme inhibitör genlerinin transkriptlerini(p53, TGF- $\beta$  ve junD) stabilize eder(38-40).

Spermidin-spermin-N<sup>1</sup>-acetyltransferase (SSAT), putresinden spermidin ve spermidinden spermin oluşturarak poliamin düzeylerini düzenler. Böylece poliamin siklusuna ve katabolizmasına katkıda bulunur. Poliaminler çift sarmallı DNA'nın fosfat gruplarına bağlanırlar ve bu şekilde DNA yapısını stabilize eden zincir arası ve zincir içi köprüler oluştururlar(41,42). Poliaminler A, B ve Z formları arası DNA'nın konformasyonel değişikliklerini düzenlerler(43,44). Poliaminlerin hücre çekirdeğinde oluşturdukları kümelenme DNA'ya bağlı olan poliaminlerden ve fosfat anyonlarından oluşur. Poliaminlerin DNA'ya bağlı olması hücrenin bölünmesi sürecinde DNA'nın kopyalanmasına olanak sağlar. DNA'yı enzimatik sindirim ile reaktif oksijen türleri ve radyasyon aracılığıyla indüklenen hasardan koruyan ve onun yapısını stabilize eden nükleozomdaki poliaminler, DNA'nın paketlenmesini güçlendirir(45-48).

Poliamin düzeyindeki azalma ile hücre döngüsünde bir uzama meydana gelir ve bu uzamada kromozomal anormalliklere, kromozomda uzamaya, paketlenmeme ve kırılmalara neden olur. Bunun yanında poliaminler histonların asetilasyonundaki değişimlere yol açan histon modifiye protein komplekslerini düzenler(49). Histonların asetilasyonu promotore edici faktörlerin örneğin transkripsiyon faktörlerinin

bağlanmasını sağlar. Ayrıca poliaminlerin DNA'ya bağlanması, DNA'nın bükülmesini kolaylaştırmaktadır. Bu DNA bükülmesi transkripsiyonun başlaması için önemlidir(50).

Nükleik asitlere poliaminlerin bağlanması iki fonksiyonun oluşmasında önemli rol oynar: 1) Poliaminler DNA'nın ve RNA'nın yapısını degradasyondan koruma ve paketleme aracılığıyla stabilize eder. 2) Poliaminler proliferasyonu arttırarak mitojenik uyarılara cevap verir. Poliaminler hücrenin proliferatif aşamalarını dinamik olarak regüle etmektedir. Bu nedenle poliaminlerin aşırı olarak tükenmesi proliferasyonun inhibisyonu ve apoptozun indüklenmesine sebep olmaktadır(51).

Transglutaminazlar amin bileşiklerinin proteinlerin  $\gamma$ -glutaminilerine transamidasyonunu indükler. Poliaminler aminlerin en büyük kaynağıdır(52,53). Aminlerin birleşmesi proteinlerin net yükünü, çözünürlüğünü, stabilitesini ve diğer makromoleküllerle etkileşimlerini arttırır. Proteinlerin transamidasyonu post-translasyonel modifikasyonda biyolojik olarak önemli bir rol oynar. Transglutaminazların G proteinlerine poliaminleri bağladığı bulunmuştur. Örnek olarak RhoA'nın glutamin 63'üne poliaminlerin bağlanması verilebilir. Bu poliaminasyon RhoA'nın GTPaz aktivitesini korur. Belirli bakteriyel toksinler transglutaminazlar olarak işlev görür ve poliaminasyon aracılığıyla RhoA aktive edilir. RhoA aktin sitoskeletonin regülatörü olduğundan dolayı fokal adezyon proteinlerinin ve stres fiberlerinin oluşumunu arttırır. RhoA'nın poliaminasyonu nöronal farklılaşma ve nörit gelişiminde rol oynar(54). Bağırsakta meydana gelen hasarın tamiri esnasındaki epitel hücre göçünün poliaminlerin konsantrasyonuna, Rho proteinlerinin aktivitesine ve  $Ca^{+2}$  a bağlı olduğu gösterilmiştir(55,56).

Poliamin bağımlı protein modifikasyonunun spesifik örneği ökaryotik başlatma faktörü 5A (eIF5A)'ya hipusinin bağlanmasıdır. Spermidinin 4-aminobütül parçası eIF5A'ya aktarılır ve sonrasında hipusine modifiye edilir(57). Önceleri sadece transkripsiyonun başlatıcısı olduğu düşünülüyorken sonraları mRNA'nın degradasyonunun regülasyonunda da rol oynadığı bildirilmiştir. eIF5A'nın fonksiyonu hipusinilasyona bağlı olduğundan dolayı spermidinin yokluğunda hipusinilasyon inhibe olur ve hücre büyümesi durur(58,59).

Poliaminler aracılığıyla iyon kanallarının regülasyonu, protein-poliamin etkileşimlerinde önemli bir fizyolojik rol oynar. İntra ve ekstraselüler içe doğrultucu potasyum kanallarında(Kir),  $\alpha$ -amino-3-hidroksi-4-metil-5-izoksazolepropionik asit (AMPA), kainat and N-metil-D-aspartat (NMDA)-tipi glutamat kanallarında küçük ve

katyonik poliaminler bulunmaktadır. Poliaminler kanal gözeneklerine sızarlar ve voltaj bağımlı içe doğrultucu potasyum kanalları aracılığıyla iyonların akışını engellerler. Glutamat reseptörlerinde, spesifik bağlanma bölgelerine poliaminlerin eklenmesi elektrostatik çevreyi modüle eder ve bu yolla ligandların bağlama kapasitesini etkiler(60). S-adenozil metiyonin dekarboksilaz veya ornitin dekarboksilazın inhibisyonundan sonra spermin ve spermidinin tükenmesi Rbl-1 ve CHO hücrelerinde içe doğrultmayı azaltır. İçe doğrultmadaki benzer azalma spermin sentaz geni silinen ve spermin yoksunluğu oluşan farelerde gözlenmiştir(61).

Poliaminlerin konsantrasyonunun azalmasından sonra kardiyak miyositlerde uyarılabilirlikte azalmaktadır. Bu nedenle aritminin tedavisinde potansiyel bir hedef olarak önerilmektedir. NMDA tipi glutamat reseptörünün ekstraselüler bölümünde poliaminlerin hücre içi ve hücre dışı her iki taraftan girişini sağlayan kanal gözeneklerindeki bağlanma bölgelerine ek olarak en az iki poliamin bağlama bölgesi daha vardır. Reseptöre spermidin ve spermin bağlanması co-ligand ve glisin bağlanmasını artırır(62). Kanal açılmasının glisin bağımsız aktivasyonu ve glutamat affinitesinin azalması fizyolojik olarak oldukça ilişkili mekanizmalardır(60). Bu sebeple poliaminler cevabın büyüklüğünü azaltarak ve cevabın bolluğunu etkileyerek aktivasyon sinyaline NMDA reseptör cevabını güçlendirir. Sinyalin hızla susturulması depresyon ve uzun süreli potansiyalizasyona neden olur. Ayrıca bu durum öğrenme ve bilginin saklanması önemli rol oynar(63,64). Bu reseptörlerin alt tiplerinin poliaminlere bağlanma kabiliyetinde ve poliaminlerin bağlanmasına verilen cevap yönünde farklılıklar vardır(65,66). Nöronal uyarım reseptörlerin bileşimini değiştirir ve yeni reseptörler, mobil transport paketleri ve ekstrasinaptik membran alanlarından sinaptik yoğunluğa geçer(67-70). Spermin için yüksek afiniteli reseptörlerin alt tipleri embriyonal ve neonatal olarak eksprese edilir. Bu durum morfogenezde (örneğin sinaptogenez ve aksonogenez) poliaminlerin rolü olduğuna işaret eder. NMDA reseptörlerine benzer olarak perinatal kainat reseptörlerinin poliaminler tarafından regülasyonu sinaps oluşumuna ve plastisiteye katkı sağlar(71).

Poliaminlerin ve onların sentezinden sorumlu enzimlerin(örneğin ornitin dekarboksilaz (ODC) ve S-adenozilmetiyonin dekarboksilaz (adomet-DC)) en önemli fonksiyonlarından biri proliferasyonu indüklemeleridir. Proliferasyon döngüsüne giren hücrelerdeki poliamin düzeyi anlamlı olarak yüksektir. Poliaminlerin miktarı ve poliamin sentezleyen enzimlerin aktiviteleri hücre döngüsünün G1 fazının sonunda ve

G2 fazına geçişte hızla artmaktadır. S fazı ve mitosisde spermidin/spermin N<sub>1</sub>-asetiltransferaz (SSAT) aracılı poliamin katabolizması sentez oranlarını oldukça hızlandırır(72). Proliferasyon döngüsünün tam olarak ilerleyebilmesi için poliamin konsantrasyonundaki azalmayı izleyen artış gereklidir. Proliferasyon döngüsü boyunca poliaminlerdeki dalgalanma siklinler ile siklin ve siklin bağımlı kinazlar, özellikle silkinE/cdk2 ve siklinA/cdk2 komplekslerinin ardışık aktivasyonu ile ilişkilidir(73). Poliamin konsantrasyonundaki ve ornitin dekarboksilaz aktivitesindeki meydana gelen artış, c-myc, c-fos, ve c-jun gibi transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonlarını arttırması aracılığıyla growth uyarıyı arttırır. DFMO aracılığıyla ornitin dekarboksilaz aktivitesinin inhibisyonu poliaminlerin tükenmesine yol açar ve hücre döngüsü inhibitörleri p21<sup>Waf1/Cip1</sup>, p27<sup>Kip1</sup>, p53, junD/AP-1, and TGF- $\beta$  ile c-myc, c-fos, ve c-jun gibi transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonlarının dengesizlikleri aracılığıyla hücre döngüsü G1/G0 da durur(35, 74-77).

Poliaminler insan üreme organlarında (Testis, yumurta ve prostat) yüksek oranda meydana gelir. Poliaminlere kemirgen testis dokusunun germinal epitelinin proliferasyonu ve spermatogenez için ihtiyaç vardır(78-80).

Fazla poliamin birikimi apoptozisi destekler, poliaminlerin poliamin oksidaz ile katabolizmaları sırasında açığa çıkan hidrojen peroksitin birikimi ile oluşan oksidatif stresin bu mekanizmadan sorumlu olduğu düşünülmektedir(23). Yapılan bir çalışmada poliamin inhibitörü olan DFMO(diflorometilornitin) ile poliaminlerin sentezinin baskılanmasının apoptozisi yavaşlattığı bildirilmiştir(81). Bir başka çalışmada ise, ekzojen putresin desteğiyle poliaminlerin düzeyindeki artışın apoptozisi hızlandırdığı saptanmıştır(82).

Polikationik özelliklerinden dolayı, membran fosfolipidleri ile güçlü ilişkiler kurar ve bu da membran ilişkili enzimlerin düzenlenmesinde önemlidir(83).

Poliaminler immün hücrelerin farklılaşmasında ve inflamatuvar reaksiyonun düzenlenmesinde görev yaparlar. Ferioli ve ark. yaptıkları bir çalışmada, T hücre fonksiyonlarının düzenlenmesine ek olarak poliaminlerin prolaktin gibi mediatörlerin timotropik etkilerine aracılık ettiğini göstermiştir. Lokal inflamasyon durumunda da spermin ölü veya hasarlı hücrelerden açığa çıkararak, hücre göçünü ve gelişimini desteklemektedir(84).

Poliaminler, NO(nitrik oksit) metabolizması ile olan kompleks ilişkileri aracılığı ile makrofaj aktivasyonu üzerine negatif düzenleyici etki gösterirler(85).

Poliaminler pulmoner immunolojik ve intestinal immunolallerjik yanıtlar üzerine baskılayıcı etki gösterir(81).

## **2.1. Poliamin Yolağı Enzimleri**

### **2.1.1.Arjinaz**

Varlığı ilk defa 1904 yılında Kossel ve Dakin tarafından saptanan arjinaz(EC 3.5.3.1) üre döngüsünün son enzimidir(86). Üre döngüsü sadece karaciğer hücrelerinde olmasına karşın arjinaz enzimi birçok hücrede bulunmaktadır. Arjinaz bakımından en zengin organ karaciğer olup üre döngüsüne katılarak amonyağı toksik olmayan bileşiklere dönüştürür. Karaciğer dokusu dışında böbrek, beyin, bağırsak, tiroid bezi, eritrosit, lökosit trombosit, iskelet ve kalp kası, plasenta, testis, meme, akciğer gibi birçok dokuda düşük düzeyde bulunduğu ve üre döngüsü dışında özellikle poliamin sentezine katılmak ve protein biyosentezi için gerekli olan prolinin sentezlenmesi olmak üzere özel fonksiyonlara sahip olduğu bildirilmiştir(87).

Arjinaz enziminin birçok metabolik özelliklere sahip olduğu ve bazı hastalıklarda rol oynadığı yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. Meme kanseri yönünden yüksek riske sahip olan apokrin kist sıvılarında arjinaz enzim aktivitesi, düşük risk grubuna göre daha yüksek bulunmuş ve arjinaz enziminin kanser oluşumunda etkili bir ajan olarak gösterilen poliaminlerin sentezini artırarak, özellikle apokrin kiste sahip kistlerde dengenin meme kanseri yönünde kaymasına neden olabileceği kanısına varılmıştır(88). Mide kanserli hastaların mide mukozasında arjinaz enzimi ile birlikte glukokortikoid reseptör düzeyinde de artış meydana geldiği gözlenmiş ve arjinaz enziminin de glukokortikoidler gibi immunosupressif ajan olduğu, artan glukokortikoid reseptörleri ile birlikte arjinazında kanser etiolojisinde rol oynadığı ileri sürülmüştür(89). Başka bir çalışmada da arjinazın kanser hücrelerinin sitoplazmasında normal hücrelere göre daha fazla bulunduğu, lenfosit proliferasyonunu güçlüce inhibe ettiği ve hücrel immunitiyi baskıladığı bildirilmiştir(90). İnsan göbek kordonu epitelyal hücrelerinin L-argininden yararlanabilmesi için arjinazın önemli bir metabolik yol olduğu ve normal proliferasyonu için gerekli olduğu anlaşılmıştır. Ayrıca yangısal olaylarda arjinaz



aktivitesinin arttığı belirtilmiştir. Yine aynı çalışmada endotelial arjinaz aktivitesindeki çeşitliliğin kardiyovasküler fonksiyon, angiogenez ve yara iyileşme sürecinde bir gösterge olabileceğini tahmin edilmektedir(91). Paraziter enfeksiyonlarda da arjinaz aktivitesi değişebilmektedir. Chagas hastalığına neden olan trypanosoma cruzi ile enfekte farelerin kalplerindeki Th2 sitokinlerinin arjinaz üretimini artırdığı tespit edilmiştir(92). Fasciola gigantica ile enfekte koyun karaciğerinde de arjinaz aktivitesi yüksek bulunmuştur(93).

Arjinaz enzimi hormonal etkiye bağlı olarak da değişebilmektedir. Kortikosteronun karaciğer arjinaz aktivitesini(94), testosteronun böbrek arjinaz aktivitesini(95), tiroksin ve hidrokortizonun ince bağırsak ve böbrek arjinaz aktivitesini artırdığı bildirilmiştir(96).

Arjinaz aktivitesi ile akciğer hastalıklarının ilgisi araştırılmış ve artan arjinaz aktivitesinin akciğerdeki hava yollarının tıkanmasına sebep olduğu, bunun da astım, kistik fibrozis gibi diğer akciğer hastalıklarına yol açabileceği bildirilmiştir(97,98).

### **2.1.2. Arjinin Dekarboksilaz**

Arjinin amino asitinin dekarboksilasyonu aracılığıyla agmatini meydana getiren reaksiyonu katalizleyen enzimin adı arjinin dekarboksilazdır(EC 4.1.1.19). Arjinin dekarboksilaz enziminin memelilerde eksprese edilmediği düşünülüyordu(2). 1994 yılında rat beyinde arjinin dekarboksilaz enzim aktivitesinin varlığı keşfedildi(99). Arjinin dekarboksilaz enziminin varlığı birçok dokuda ve hücre tipinde gösterilmiştir(99-105).

Beyinde arjinin dekarboksilaz aktivitesi belirlendiğinde beyin farklı bölgelerinde enzimin farklı eksprese edildiği bilinmiyordu. Daha sonraki çalışmalarda arjinin dekarboksilaz aktivitesinin beyin tüm bölgelerinde saptanmasına rağmen enzimin aktivitesinde büyük bölgesel farklılıklar belirlendi. En büyük aktivite hipotalamusta saptanırken en düşük aktivite ise beyin kök hücrelerinde saptanmıştır(106-107).

### **2.1.3. Agmatinaz**

Agmatinin hidrolizi aracılığıyla putresini meydana getiren reaksiyonu agmatinaz (E.C.3.5.3.11) katalizler. Arjinin dekarboksilaz enzimi gibi agmatinaz enziminde memelilerde eksprese edilmediği düşünülüyordu(2). 1994 yılında rat beyinde

agmatinaz enzim aktivitesinin varlığı keşfedildi. Agmatinaz enziminin varlığı birçok dokuda ve hücre tipinde gösterilmiştir(99-105).

Agmatinazın insan vücudunda en yüksek düzeyde sentezlendiği organlar karaciğer ve böbrektir. Beyinde bulunan agmatinazın düzeyi diğer dokularla karşılaştırıldığında oldukça düşük seviyededir(108).

Karaciğerdeki agmatinaz ekspresyonu, besin kaynaklarıyla alınan agmatin miktarının yüksekliğiyle veya endojen olarak agmatinin sentezinin artmasıyla meydana gelen enzimin düzeyindeki artışı kontrol ediliyor olabilir. Bu kontrol agmatinin böbrekte glomerüler filtrasyon hızını stimüle ediyor olması sebebiyle önem taşımaktadır(109).

Agmatin nöronal oksit sentazı inhibe etmektedir. Bu nedenle iskelet kasında agmatinazın varlığı nöronal nitrik oksit sentazın inhibe olmasını engellemektedir(110).

Benzer şekilde beyinde bulunan agmatinaz hücre sinyal molekülü olan agmatini modüle etmektedir(111).

#### **2.1.4. Ornitin Dekarboksilaz**

Ornitin dekarboksilaz(E.C.4.1.1.17), ornitinden putresin oluşturan poliamin biyosentez yolundaki ilk adımı katalizler. Poliaminler hem normal hemde neoplastik büyümede önemli role sahiptir. Tümör başlatıcılar ve karsinojenler vücuda girdiğinde cevap olarak ornitin dekarboksilaz düzeylerinin artması aracılığıyla poliamin düzeyinde artış gözlenir(1,2). Ornitin dekarboksilaz enzimi düzenlemeye karşı oldukça hassas tır. Birçok uyarıcı etken çok farklı cevaplar verir. Ornitin dekarboksilaz aktivitesinde oluşan bu farklılıklar oldukça hızlı bir şekilde turn-over olan enzimin miktarındaki değişimler aracılığıyla olmaktadır. Ornitin dekarboksilaz enziminin yıkımı, poliamin konsantrasyonundaki artışa cevap veren antizim adı verilen protein tarafından kontrol edilir. Ayrıca ornitin dekarboksilaz aktivitesindeki bu farklılıklar, enzimin transkripsiyon seviyesinde ve ODCmRNA nin dönüşümü esnasında düzenleniyor olmasından kaynaklanır(1-4).

#### **2.2.Poliaminlerin Kansere İlişkisi**

Poliaminler prokaryotik ve ökaryotik yapıya sahip tüm hücrelerde bulunan doğal alifatik aminler olup, 1971 yılında Russel'in tümörlü hastaların idrarında bu aminlerin arttığını göstermesi çarpıcı olmuştur(112).

Poliaminlerin, hücrelerde nükleotit ve protein sentezini uyararak hücre proliferasyonunda önemli rol oynadıkları(113), ayrıca hızlı büyüyen hücre ve dokularda yüksek konsantrasyonlarda buldukları, hücre büyümesi ve farklılaşması için gerekli oldukları gösterilmiştir(114). Büyüme süreci için gerekli olan poliaminlerin aynı zamanda kanser gelişimi ile ilişkili olduğu belirtilmektedir(115).

Ehrlich ascites karsinoma hücreleri farenin periton boşluğuna enjekte edildiğinde 5. Ve 12. saatte ornitin dekarboksilaz aktivitesinde maksimal düzeyde bir artış gözlenmiştir. İlk pik DNA sentezinden önce meydana gelmekte ve putresin artışı ile ilişkili olmaktadır. 2. Pik ise hücrenin G<sub>1</sub>'den S fazına geçiş döneminde meydana gelmektedir. Başlangıçtaki yüksek putresin konsantrasyonu ilk haftanın sonunda hızla azalmıştır. Spermin konsantrasyonu ise 2 hafta içinde çok yüksek düzeylere ulaşır. Deneysel olarak oluşturulmuş karaciğer tümörlerinde karaciğer dokusu içinde putresin ve spermidin konsantrasyonları, normal karaciğer dokusuna göre daha fazla bulunmuştur(112,116,117). Deneysel olarak oluşturulan beyin ve deri tümörlerinde de benzer bulgular elde edilmiştir(112,118).

Kanserli kişilerde tümör rezeksiyonu, sitostatik ajanların kullanımı ve radyoterapi tedavisi ornitin dekarboksilaz enzim aktivitesinde ve poliamin düzeylerinde azalmaya yol açar. Karaciğer tümörü olan farelere 5-fluorouracil verildiğinde spermidin konsantrasyonunda %30'luk bir azalma olmuştur(112,116,118).

Lewis pulmoner karsinomasında U251 insan glioblastomasında veya MAT-LyKu prostatik adenokarsinomasında, poliaminsiz diyet ve  $\alpha$ - Difluorometilornitin, (N1,N4-bis-(2-3-butadienil)-1,4-butanediamin, MDL 72527) ve neomisinmetranidazol kombine tedavisi ile poliamin alınımı ve oluşumu inhibe edildiğinde, tümör gelişiminin belirgin derecede gerilediği saptanmıştır(119).

Poliaminlerin hücre içindeki anabolik etkileri ve hücre çoğalması için gerekli olduğu bilinmektedir. Bu nedenle otonom hücre çoğalması olan neoplastik hastalıklarda, gerek kanserli dokularda ve gerekse vücut sıvılarında poliaminler yüksektir. 1800'lerde lösemili hastaların dalağının spermin yönünden zengin olduğu bundan 100 yıl sonra lösemiden ölmüş bir hastanın kemik iliği ve karaciğerinde poliamin düzeylerinin yüksek olduğu bildirilmiştir(112).

Löser ve ark. pankreas kanseri olan hastaların idrarlarında putresini ve spermidini yüksek bulmuşlardır. Aynı çalışmada idrardaki putresin konsantrasyonu ile tümör boyutları arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır(120). Yine Löser ve ark. kolon

kanserli hastaların serum, idrar ve kolon mukozalarında, poliamin düzeylerine bakmışlar, poliamin düzeylerini hem kolon kanserli hastalarda hemde nonmalign gastrointestinal hastalıklarda yüksek bulmuşlardır. Yüksek poliamin düzeylerinin kolon kanseri için bir tanı yöntemi olamayacağı fakat hastalığın tedavisinin etkinliğinin değerlendirilmesinde ve nüks takibinde önemli olduğunu vurgulamışlardır(121).

Horn ve ark. meme, mide, prostat, jinekolojik kökenli ve orjini bilinmeyen metastatik kanserli hastaların idrarlarında putresin düzeylerine bakmışlar ve 3 tür kanserde de poliamin düzeylerini yüksek bulmuşlardır. Aynı çalışmada hastalığın aktif ve inaktif döneminde putresin düzeyleri arasında anlamlı derecede fark bulunduğunu gözlemlemişlerdir. Küçük tümörlerde ve malign hastalığın remisyon döneminde, poliamin düzeyinin normalden farklı olmadığı bildirilmiştir(122).

Kubota(123) ve Umeki(124) üriner poliamin düzeylerinin malignitelerde tanı ve tedaviyi takip açısından iyi bir marker olduğunu çalışmalarında göstermişlerdir.

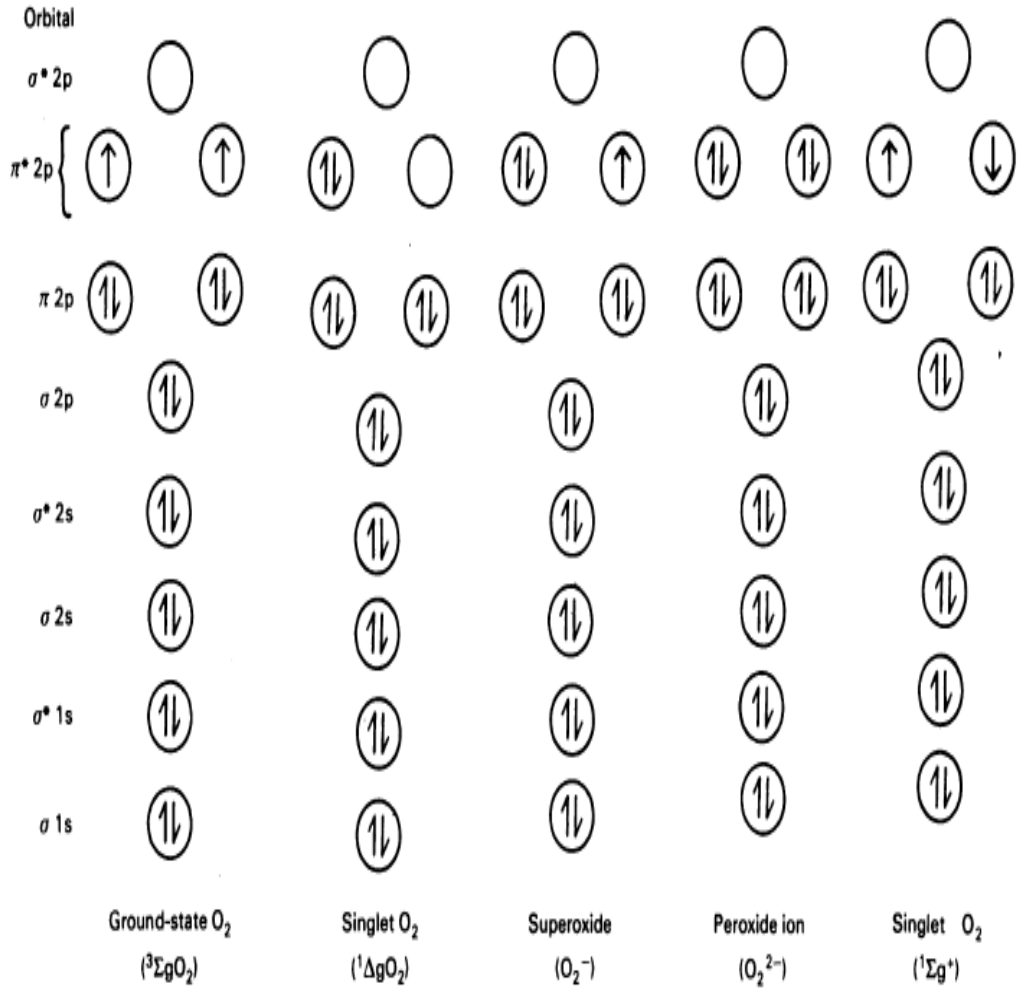
Poliamin konsantrasyonlarının meme kanserinde de arttığı, tümör poliamin konsantrasyonları ile tümörün yeniden nüks etmesi arasında pozitif bir korelasyon olduğu ve meme kanseri poliamin oranlarının biyolojik belirteç olarak kullanılabileceği gösterilmiştir(125,126). Meme tümör dokusunda poliamin sentezinin artış nedeni bilinmemekle birlikte, yüksek miktardaki östrojen içeriğinin poliamin sentezini indükleyerek meme kanser gelişimine yol açabileceği, öne sürülen mekanizmalardan biridir(127).

Kwang ve ark. akciğer kanserli hastaların idrarlarında putresin, spermidin ve spermin düzeyini kontrol kontrol grubuyla kıyaslandığında oldukça yüksek bulmuşlardır. Aynı çalışmada idrardaki putresin, spermidin ve spermin konsantrasyonu ile tümör boyutları arasında anlamlı bir ilişki olabileceğinden bahsedilmektedir(128).

### **3.Serbest Radikaller Ve Oksidatif Stres**

Atom yapısı bir çekirdek ve çevresinde bulunan değişik sayıda elektronlardan oluşmaktadır. Enerji düzeylerine göre belli bir düzeyde yerleşen elektronlar, orbital adı verilen yörüngelerde hareket etmektedirler. Her orbitalde yerleşik iki elektron, birbirine zıt yönde kendi eksenini etrafında dönmektedir. Buna uygun olarak her bir orbitale önce birer tane aynı yönde dönen elektron yerleşmekte ve atom numarasına göre sayıları artan elektronlar tekrar aynı sıra ile ters yönde dönecek şekilde orbitale yerleşmektedir.

Atom numarası 8 olan oksijenin 8 elektronu bulunmaktadır. Oksijen molekülündeki aynı yönde dönen iki elektrona sahip 2p dış orbitali önem taşımaktadır. Orbitalerden birine veya ikisine ters dönüşlü bir veya dönüşlü iki elektron yerleştirilmesi ile radikal oluşmaktadır.

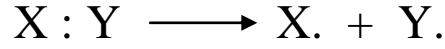


Şekil 3.1. Oksijen molekülünün elektron sayısı ve oluşan oksidan moleküller

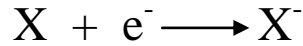
Serbest radikal veya en doğru adlandırma ile reaktif oksijen türleri atomik veya moleküler yapılarında eşlenmemiş elektron içeren ve bu nedenle reaktif özellik taşıyan moleküllerdir.

Serbest radikaller kovalent bağın homolitik yarılanması, bir molekülün elektron kaybetmesi veya bir moleküle elektron eklenmesi ile oluşabilmektedir. Bir molekülü

oluşturan kovalent bağın homolitik yarılanması sonucu eşlenmiş elektronlardan herbirinin ayrı parçada kalması ile serbest radikaller meydana gelmektedir.



Molekül yapısındaki atomlardan birisinden elektron uzaklaştırılması veya moleküle elektron eklenmesi sonucu da serbest radikal oluşmaktadır.

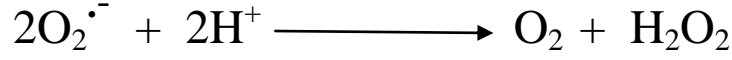
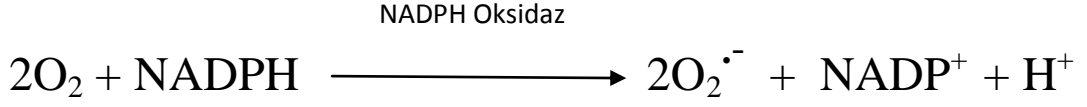


Negatif yüklü elektron sayısı çekirdekdeki pozitif yüklü proton sayısı ile eşit olmayan moleküller oldukları için dayanıklı olmayan serbest radikaller, elektron konfigürasyonlarını pozitif yükü dengelemeleri gerektiğinden çok reaktiftirler. Tek elektronunu bir başka moleküle verebilen bu radikaller, bir başka molekülden elektron alarak elektron çifti oluşturabilmektedirler. Sonuçta radikal olmayan bir yapı, elektron vererek radikal şekline dönüşebilmektedir(7).

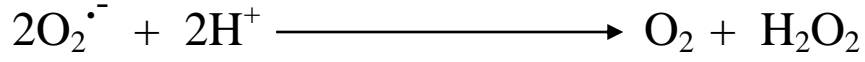
Moleküler oksijen üzerindeki değişiklikler ile meydana gelen ‘serbest oksijen radikalleri’ veya diğer adıyla ‘reaktif oksijen türleri’ (ROT) serbest radikaller içerisinde karşımıza oldukça sık çıkan bir sınıfı oluşturmaktadır. Bu şekilde oluşabilen başlıca ROT’lar, süperoksit anyonu ( $O_2^{\cdot-}$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), Hidroksil radikali ( $\cdot OH$ ), Singlet Oksijen ( $^1O_2$ ) ve Hipokloröz Asit ( $HOCl$ )’ dir(129).

**A. Süperoksit Radikali ( $O_2^{\cdot-}$ ):** Tüm aerobik hücrelerde, oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu, süperoksit radikal anyonu ( $O_2^{\cdot-}$ ) meydana gelir. Kendisi direkt olarak önemli zarar vermez. Hidrojen peroksit kaynağı olmasının yanı sıra, demir gibi geçiş metalleri için indirgeyici olması önemlidir. Yine süperoksitin nitrik oksit (NO) ile reaksiyonu neticesinde, çok toksik olan peroksinitrit ( $ONOO^-$ ) meydana gelir(130).

Nötrofillerde süperoksit radikali NADPH oksidaz enzimi aracılığı ile oluşur. Önce fagosit uyarılır, sonra NADPH oksidaz enzimi aktive olur ve bu enzimin katalizlediği reaksiyon sonucunda  $O_2^{\cdot-}$  oluşur(129,130). Süperoksit radikali indirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyon reaksiyonu ile de oluşabilmektedir.

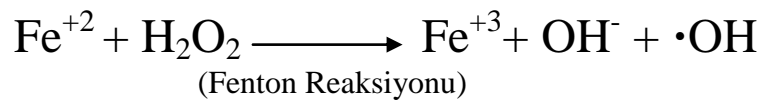
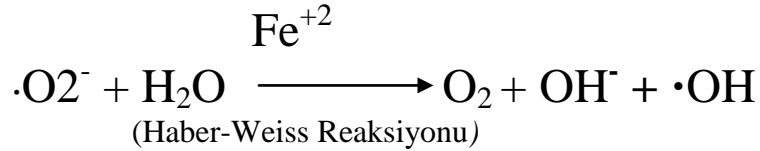


**B.Hidrojen Peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>):** Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksit'in başlıca üretimi, süperoksit dismutasyonu ile gerçekleşir. Bu reaksiyon, spontan olarak gerçekleşebilir veya süperoksit dismutaz (SOD) enzimi tarafından katalizlenir ancak fizyolojik koşullarda katalizör varlığında bu reaksiyonun hızı çok daha yüksektir.



Hidrojen peroksit serbest radikal olmadığı halde, reaktif oksijen türleri içine girer çünkü süperoksit ile reaksiyona girerek, çok toksik olan hidroksil radikalini oluşturabilir (129,130). Katalaz ve/veya glutatyon peroksidaz enzimleri ise hidrojen peroksidin detoksifikasyonunda etkilidir(129).

**C.Hidroksil Radikali (OH.):** Hidroksil radikali örneğin Fenton reaksiyonu, Haber-Weiss reaksiyonu veya suyun yüksek enerjili iyonize radyasyona maruz kalması sonucunda oluşan son derece reaktif bir oksidandır. Yarı ömrü çok kısadır. Radikal olmayan çeşitli moleküllerle kolaylıkla etkileşerek, onları da radikal yapabilmesi ve böylelikle bir dizi zincirleme reaksiyon başlatabilme kapasitesinden dolayı, olduğu yerde büyük hasara neden olur(129).



**D.Singlet Oksijen (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>):** Radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Oksijenin elektronlarından birisinin enerji alarak, kendi spininin ters yönünde başka bir orbitale

yer değiştirmesiyle oluşmaktadır. Singlet oksijen tipik olarak bir eksitasyon ürünüdür ve etkin bir şekilde lipid peroksidasyonunu başlatabilir(129,130).

**E.Hipokloröz Asit (HOCl):** Myeloperoksidaz enziminin katalizlediği reaksiyonla özellikle nötrofilik lökositler, süperoksitin dismutasyonu ile oluşan hidrojen peroksiti klorür iyonu ile birleştirerek, güçlü bir oksidan ve antibakteriyel ajan olan hipokloröz asit'e dönüştürür(131).

### **3.1.Serbest Radikallerin Etkileri**

Serbest radikaller, hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler. Kapiller geçirgenliği, aerobik solunumu bozar, hücrenin potasyum kaybını ve trombosit agregasyonunu arttırlar. Bazı savunma sistemlerini inhibe ederler(130).

#### **A.Membran lipidlerine etkisi**

Serbest radikaller, savunma mekanizmalarının kapasitesini aşacak oranlarda oluşturuldukları zaman organizmada çeşitli bozukluklara yol açarlar. Biyomoleküllerin tüm büyük sınıfları serbest radikaller tarafından etkilenir. Lipitler en hassas olanlardır. Membrandaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünlerini oluştururlar. Çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı lipid peroksidasyonu olarak bilinir ve oldukça zararlıdır. Çünkü zincir reaksiyonu şeklinde ilerler. Lipit peroksidasyonu ile oluşan membran hasarı tersinmezdir. Lipit peroksidasyonu organizmada oluşan bir serbest radikal etkisi sonucu membran yapısında bulunan çoklu doymamış yağ asitleri zincirinden bir hidrojen atomu uzaklaştırılmasıyla başlar bunun sonucunda yağ asidi zinciri bir lipid radikali özelliği kazanır. Oluşan lipid radikali dayanıksız bir bileşiktir ve bir dizi değişikliğe uğrar.

Lipit radikalının oksijenle birleşmesi sonucu lipid peroksil radikali oluşur. Lipit peroksil radikalleri membran yapısındaki diğer çoklu doymamış yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikali oluştururlar. Ayrıca kendileri de ağığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid hidroksiperoksitlerine dönüşürler. Lipit peroksidasyonu ya toplayıcı reaksiyonlarla sonlandırılır. Yada otokatalitik yayılma reaksiyonlarıyla devam eder. Lipitlerden, araşidonik asid metabolizması sonucu serbest radikal üretimine



enzimatik lipit peroksidasyonu, diğer radikallerin sebep olduğu lipit peroksidasyonuna ise nonenzimatik lipit peroksidasyonu denir. Lipit peroksidasyonu sonucu oluşan lipit hidroksi peroksitlerin yıkımı, geçiş metalleri iyon katalizini gerektirir. Lipit hidroperoksitleri yıkıldığında çoğu biyolojik olarak aktif aldehitler oluşur. Bu bileşikler ya hücre düzeyinde metabolize edilir veya difüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar. Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda tiyobarbitirik asitle ölçülebilen malondialdehit oluşur. Malondialdehit lipit peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir. Lipit peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Direkt olarak membran yapısına ve indirekt olarak reaktif aldehitler üreterek hücre bileşenlerine zarar verir. Böylece birçok hastalığa ve doku hasarına neden olur. Lipit radikallerinin hidrofobik yapıda olması nedeniyle reaksiyonların çoğu membrana bağlı moleküllerle oluşur. Membran geçirgenliği ve mikroviskozitesi ciddi şekilde etkilenir. Peroksidasyonla oluşan malondialdehit membran bileşenlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna neden olur. Bu da deformasyon iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intirinsik membran özelliklerini değiştirir. Bu etkiler malondialdehitin mutajenik, genotoksik ve kansinojenik olduğunu açıklar(130).

## **B. Proteinlere etkileri**

Proteinler serbest radikal etkisine karşı, çoklu doymamış yağ asitlerinden daha az hassastır ve başlayan zarar verici zincir reaksiyonlarının hızla ilerleme ihtimali daha azdır. Proteinlerin serbest radikal harabiyetinden etkilenme dereceleri amino asit bileşenlerine bağlıdır. Doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallerle reaktivitesi yüksek olduğundan triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin gibi amino asitlere sahip proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenir. Özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli radikaller oluşur. Bu reaksiyonlar sonucunda immünglobülin G ve albumin gibi fazla sayıda disülfid bağı bulunduran proteinlerin üç boyutlu yapıları bozular. Böylece normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. Nitekim serum proteinlerinde, kataraktlı lens proteinlerinde ve inflamatuvar eklem hastalığı olan kişilerin sinovyal sıvılarındaki IgG'lerinde serbest radikal hasarı tespit edilmiştir. Sitoplazmik ve membran proteinleri okside edici anlara maruz kaldıktan sonra çapraz bağlanarak dimerleşirler ve daha büyük agregasyonlara dönüşürler. Proteinler üzerine olan serbest radikal hasarı birikmişse yada belirgin proteinlerin spesifik bölgesi

üzerinde yoğunlaşmışsa hücrenin canlılığı bakımından zararlı etki yapar hem proteinler serbest radikallerden önemli oranda zarar görür ve methemoglobin oluşabilir(130).

İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar. Hidroksil radikali, deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girer ve değişikliklere yol açarlar. Aktivite olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit membranlardan kolayca geçerek ve çekirdeğe ulaşarak DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilir. Bu yüzden DNA serbest radikallerden kolay zarar görebilir önemli bir hedeftir. Süperoksite maruz kalan DNA molekülleri hayvanlara enjekte edildiğinde daha fazla antijenik özellik gösterir(130).

#### **D.Karbonhidratlara etkileri**

Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerine de önemli etkileri vardır. Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksitler ve oksialdehitler meydana gelir. Bunlar bazı kronik hastalıkların patolojisinde önemli bir rol oynar. Oksialdehitler DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturma özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterirler. Böylece kanser ve yaşlanma olayında rol oynarlar.

Serbest radikaller pek çok hastalığın patogenezinde rol oynar. Pek çok hastalıkta serbest radikal üretiminin arttığı ve antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz olduğu gösterilmiştir(130).

#### **3.2 Antioksidanlar**

Antioksidanlar hem direkt hemde dolaylı olarak ksenobiyotiklerin, ilaçların ve kanserojenlerin etkilerine karşı hücreyi koruyan maddelerdir. Vitamin C, E, A, betakaroten, metalotionin, poliaminler, melatonin, NADPH, adenzin, urat, sistein, metiyonin, glutatyon bu gruba girer(130-132). Diyetle alınan alfa tokoferol lipid peroksidasyonuna karşı koruma sağlar ve sonuçta steroidlerin neden olduğu karaciğer hücre hasarı ve tümör gelişmesine karşı kullanılabilir(133). vitamin C ve E artmış lipid peroksidasyonu ve serbest radikallere karşı savunmada yetersiz kalır(134). İnsanlarda serebrovasküler hastalıklarda kullanım alanı bulan idebenonun serbest radikal yok edicisi gibi etki gösterdiği ve lipid peroksidasyonuna karşı mitokondriyal membranı koruduğu belirlenmiştir(135). Yine aneztezik dozlarda kullanılan propofolun, hücre membranında lipid peroksidasyonunu durdurabildiği gösterilmiştir(136).

Antioksidanlar, enzimatik ve non-enzimatik olarak incelenirler: Süperoksit dismutaz(SOD), katalaz(CAT) ve glutatyon peroksidaz(GSH-Px) birinci derece enzimatlere, glutatyon redüktaz(GR) ve glukoz 6-fosfat dehidrojenaz(G6PD) ikinci derece enzimatlere örnek gösterilmektedir(137,138). Non-enzimatik olanlar ise; Mineral (Se, Zn), vitamin ( A, C, K ve E), karotenoidler örnek gösterilebilir(137).

Glutatyon ve glutatyonun öncüleri antioksidan kapasiteyi korumada tedavi amaçlı kullanılır. Hücresel glutatyon taşınımı, tiyol grupları ve alfa tokoferol gibi diğer membran bileşiklerini koruyarak hücre membranının oksidan hasara karşı korunmasını sağlamakta, bunun yanı sıra serbest radikallerle direkt reaksiyonu ile glutatyon peroksidazlara ve glutatyon-S-transferazlara substrat olmasıyla bir antioksidan olarak davranmaktadır(138).

### **3.3.Oksidatif Stres**

Serbest radikal hasarına karşı koymak üzere mevcut antioksidanlar kullanılabilir durumda değilse veya radikal oluşumu baş edilemeyecek kadar fazla ise, oksidan-antioksidan dengesi oksidanlar lehine bozulur ve oksidatif stres ortaya çıkar. Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisinde. Oksidatif denge sağlandığı sürece organizma, serbest radikallerden etkilenmemektedir. Bu radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir düşme bu dengenin bozulmasına neden olur. ‘Oksidatif Stres’ olarak adlandırılan bu durum; serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ciddi dengesizliği göstermektedir. Şiddetli oksidatif stres hücre hasarına ve ölümüne yol açabilir(139).

### **3.4 Oksidatif Stresin Kanserle İlişkisi**

Stabil bir molekül olan DNA da lipidler, karbohidratlar ve proteinler gibi spontan kimyasal oksidatif hasara uğrayabilmektedir. İnsan vücudunun her hücresinde DNA'nın günde  $10^3$  kez oksidatif hasara maruz kaldığı öne sürülmüştür(140). DNA hasarı ve onarımı arasındaki denge nedeniyle, çok düşük düzeylerde hasar, sağlıklı bireylerde de saptanmaktadır(141). Reaktif oksijen metabolitleri oluşumundaki artma, antioksidan enzim düzeylerindeki azalma ve DNA onarım mekanizmalarında defekt olması oksidatif DNA hasarının artmasına yol açmaktadır(142,143). Serbest radikallerin DNA üzerinde yaptıkları hasar önemlidir. DNA'nın nükleik asitleri ile reaksiyona giren

serbest radikaller, DNA dizininde çatlaklar meydana getirmekte ve bu hücrelerin kanser hücrelerine dönüşmesine yol açmaktadırlar(144).

Kimyasal olarak oluşan kanser üç ana aşamada oluşmaktadır. İlk aşamada DNA kimyasallara maruz kalır. Bu mutasyonlar hücreye büyüme avantajları sağlar. Radikal oksijen türlerinin peroksil radikallerinin aracılık ettiği hidroperoksit bağımlı oksidasyonla kanserojenlerin harekete geçmesine aracılık eder(145). Bu olay aflatoxin B, aromatik aminler, polisiklik hidrokarbon dihidrodioller ile olur. Radikal oksijen türleri veya onların lipit peroksidasyon ürünü MDA direkt olarak DNA ile reaksiyona girebilir(146). Radikal oksijen türleri, DNA'nın tamirine engel olarak ve DNA hasarına neden olan karsinojen aktivasyonu arttırarak karsinogenesizin başlama adımında çoklu etkiye sahiptir. İkinci aşamada hücre ölümü(apoptoz) inhibisyonu ve hücre sel büyümede artış aracılığıyla hücre popülasyonlarının selektif klonal büyümesi meydana gelir. Patolojik olarak bu durum preneoplastik lezyon oluşumu ile sonuçlanır. Radikal oksijen türleri selektif klonal büyüme meydana gelen hücre popülasyonunda oldukça fazla düzeyde oluşur. Bu hücre popülasyonuna örnek olarak karaciğerdeki preneoplastik hücre popülasyonları verilebilir. Çünkü radikal oksijen türleri oluşumu P450 enzim aktivasyonu ile bağlantılıdır. Oksidatif stres klonal hücre büyümesinde önemli bir rol oynayabilir. Radikal oksijen türleri sıçan karaciğer neoplastik nodüllerinde çevredeki normal dokuya göre oldukça yüksek oranda saptanmıştır. Bu ratlarda fenobarbital tedavisi nodüllerde mono-oksijenaz aktivitesini hızlandırması aracılığıyla radikal oksijen türleri oluşumunu hızlandırmıştır(147). Radikal oksijen türlerinin diğer bir kaynağı ise preneoplastik odakta  $\gamma$ -glutamiltranspeptidaz aracılığıyla glutatyonun oksidasyonundan meydana gelir(148). Radikal oksijen türlerinin ekstraselüler kaynağı inflamatuvar hücrelerinden oluşur. Bu radikal oksijen türleri preneoplastik hücrelerin büyümesine izin verir ve patofizyolojik değişime neden olan kalıcı oksidatif stres ortamının oluşumuna katkıda bulunur. Benign lezyondan malign büyümenin gelişimi tümörle sonuçlanır. Bu safhada oksidatif stres kanser özelliklerinin gelişiminde direkt bir rol oynayabilir. Bu rollere kontrolsüz büyüme, genomik instabilite, kemoterapik direnç, invazyon ve metastaz örnek verilebilir. Tümör hücreleri sürekli olarak yüksek ve kalıcı oksidatif strese maruz kalır. Bu durum insan karsinoma hücrelerinde çevredeki normal hücrelere göre 8-OhdG(8-hidroksi-2'-deoksiguanozin) seviyelerinin daha yüksek düzeyde ölçümü ile ortaya konulmuştur(149). Bu kalıcı oksidatif stres hücre ölümünü indüklemek için yeterli değildir. Bunun nedeni tümör hücrelerinin oksidatif

strese karşı olan hücre duyarlılıklarının azalmasıdır(150). Kanserli hücreler tümör baskılayıcı genlerin silinmesi veya inaktivasyonu bunun yanında onkogenlerin aktivasyonu ile çok basamaklı karsinojenik prosesten meydana gelir. Kanserli hücreler dış büyüme faktörlerine normal hücreler ile kıyaslandıklarında daha az bağımlıdırlar. Çünkü kanserli hücreler kendi büyüme faktörlerini oluşturabilir. Tümör hücrelerinde kalıcı oksidatif stresle indüklenen yüksek antioksidanlar hücrenin kemoterapi direncini artırır. Belirli proteaz inhibitörleri üzerindeki artmış olan protein oksidatif hasarı tümörün istilasını kolaylaştırır(149). Oksidatif stresin doku hasarına yol açtığı, kanser, diyabet ve ateroskleroz gibi patolojik durumların gelişmesinde etkin olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir(151-155).

Akciğer kanseri ve birçok malign hastalıkların patogeneğinde, süperoksit radikalleri ve bunların biyomoleküllerinin oluşturduğu oksidatif hasarın önemli bir rolü olduğu bilinmektedir( 156,157).

## 3.GEREÇ VE YÖNTEM

### 3.1.Gereç

#### 3.1.1.Kullanılan Gereçler

Santrifüj (MSE MISTRAL 100)

Derin dondurucu low -85 °C (SANYO-ultra)

Vorteks (Nuvemix)

Spektrofotometre (UV-VIS Double BEAM PC scanning LABOMED INC.)

Otomatik Elisa (Chemwell 2902)

Ependorf tüp (1500 ml)

Kuvartz küvet

Mikropipetler (Gilson)

Biyokimya Otoanalizörü (Beckman Coulter Shynchron LX-20)

### 3.2.Yöntem

#### 3.2.1.Hasta ve Kontrol Grubu

10.02.2012 – 10.02.2013 tarihleri arasında Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Onkoloji Anabilim Dalı Polikliniğine başvuran Akciğer Kanseri tanısı konmuş 36 hasta çalışmaya dahil edildi. Hastalar arasında cinsiyet, yaş veya kanserin histopatolojik tipi ile derecesi yönünden bir kısıtlama yapılmadı. Akciğer Kanseri tanısı histolojik olarak doğrulandıktan sonra hastalar çalışmaya dâhil edildi.

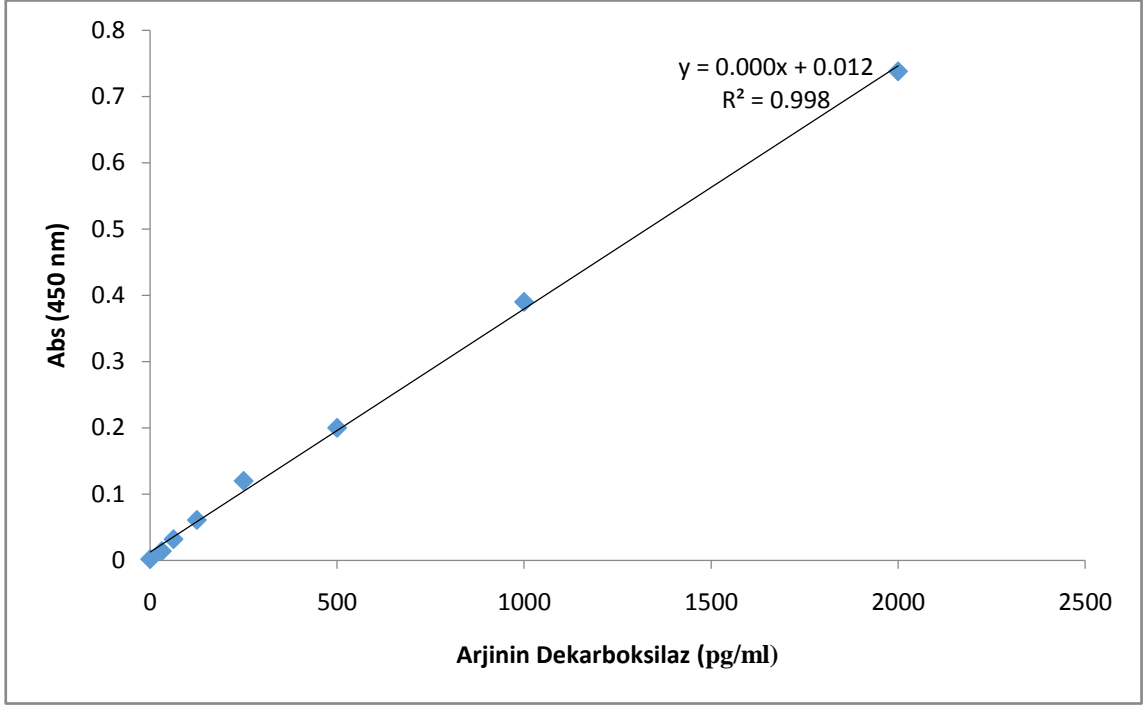
Kontrol grubumuz ise herhangi bir sistemik hastalığı (diyabet, hipertansiyon, akciğeri kanseri hastalığı) olmayan 36 sağlıklı hastane personelinden sağlandı.

#### 3.2.2.Kan Örneklerinin Toplanması

Kontrollerden ve Akciğer Kanseri tanısı konulan hastalardan, herhangi bir tedaviye başlanmadan önce, 10 ml kan örneği alındı. Alınan kan örnekleri 4000 rpm’de 15 dakika santrifüj edildikten sonra elde edilen serumlar ependorf tüplere kısımlandırılarak ilgili parametreler çalışılmak üzere -80 °C’de muhafaza edildi.

### 3.2.3. Arjinin Dekarboksilaz Tayini

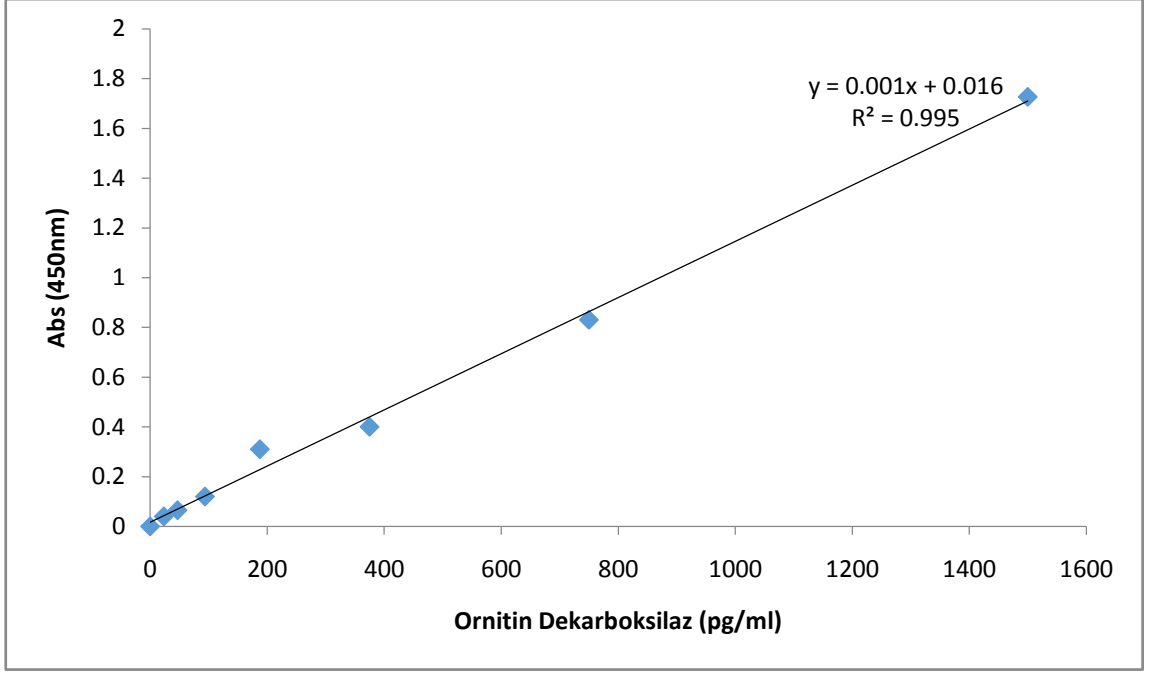
Cusabio marka elisa kiti kullanılarak arjinin dekarboksilaz tayini yapıldı. Standart derişimlerine karşı okunan absorbanlar aracılığıyla oluşturulan standart eğri denkleminde her bir numunenin derişimi hesaplandı.



Şekil 3.1: Arjinin Dekarboksilaz standart eğri grafiği

### 3.2.4. Ornitin Dekarboksilaz Tayini

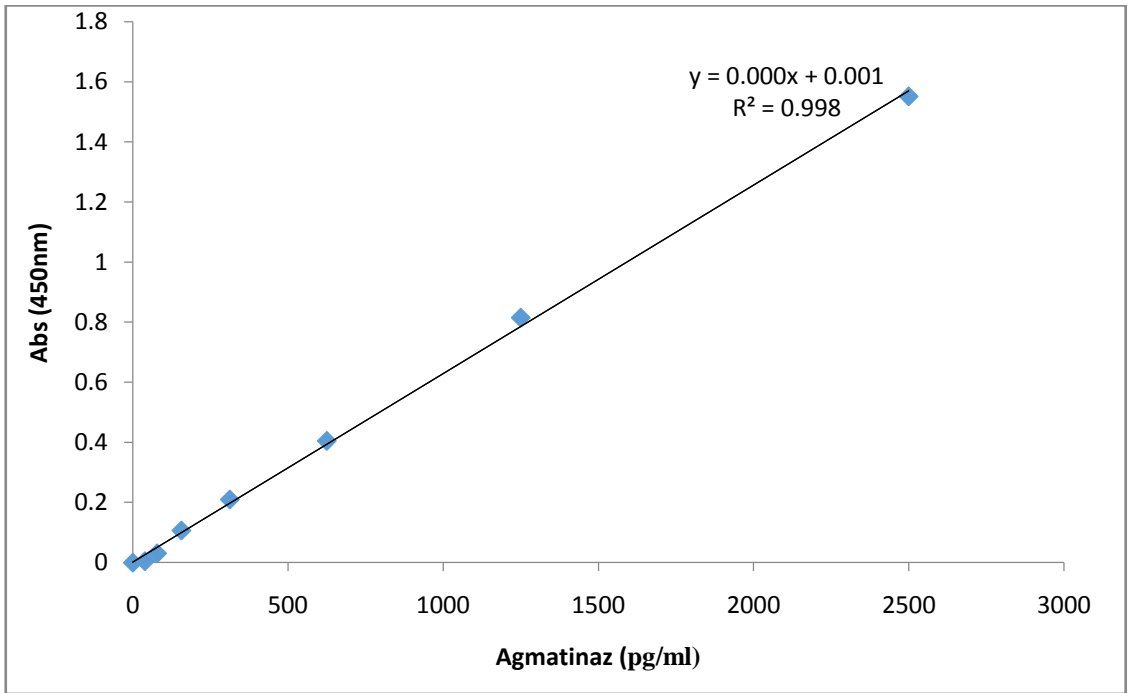
Cusabio marka elisa kiti kullanılarak ornitin dekarboksilaz tayini yapıldı. Standart derişimlerine karşı okunan absorbanlar aracılığıyla oluşturulan standart eğri denkleminde her bir numunenin derişimi hesaplandı.



Şekil 3.2: Ornithin Dekarboksilaz standart eğri grafiği

### 3.2.5. Agmatinaz Tayini

Cusabio marka elisa kiti kullanılarak agmatinaz tayini yapıldı. Standart derişimlerine karşı okunan absorbanslar aracılığıyla oluşturulan standart eğri denkleminde her bir numunenin derişimi hesaplandı.



Şekil 3.3: Agmatinaz standart eğri grafiği



### 3.2.6. Arjinaz Aktivite Tayini

Aktivite ölçümü substrat olarak kullanılan arginin, arginazla hidrolizi sonucu oluşan ürenin miktarının Tiyosemikarbazid Diasetil Monoksim Üre (TMDU) yöntemi ile spektrofotometrik olarak saptanması ile gerçekleştirilmiştir. TMDU spektrofotometrik olarak üre düzeyini ölçen bir yöntemdir(158).

0.1 ml hemolizata 9.9 ml 2.5 mM MnCl<sub>2</sub> eklenerek 55°C'ta 10 dk preinkübasyona bırakıldı. Deney ve sıfır zaman (zero time blank) tüplerine 0.4 ml 50 mM arjinin çözeltisi ve 0,4 ml 100mM karbonat tamponu (pH 9.7) konuldu. Kör (blank) tüpüne 1 ml distile su, Standard tüpüne 0,1 µmol/ml'lik üre standardından 1 ml konuldu. Sıfır zaman tüpüne ise 3 ml asit karışımı (%56.7'lik H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> içinde 0.12 M FeCl<sub>3</sub> ve %20'lik (V/V) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> karışımı) konulduktan sonra 0.2 ml enzim kaynağından ilave edildi ve vortekslendi. Standart ve kör tüplerine de 3 ml asit karışımı konuldu.

Tüpler ve enzim kaynağı 37°C'lik metabolik su banyosunda 3 dk bekletilerek aynı ısıya gelmeleri sağlandı.

Ardından deney tüplerine 0.2 ml enzim kaynağından konuldu ve vortekslendi ve sallantılı metabolik su banyosunda 37°C'de 15 dk inkübasyona bırakıldı. Bu sürenin sonunda deney tüplerine 3 ml asit karışımı ilave edilerek reaksiyon durduruldu.

Tüm tüplere 2 ml renk ayırıcı (0.0036 M tiyosemikarbazid + 0.0617 M diasetilmonoksim) ilave edildi ve vortekslendi. Tüplerin ağızları kapatılarak 10 dk kaynar su banyosunda tutuldu ve soğutularak 520 nm dalga boyunda köre karşı absorbansları okundu.

Hesaplama; her deney tüpünün absorbansından, kendi sıfır zaman (zero time blank) absorbansı çıkartılarak net absorbans elde edildi. Böylece enzim kaynağındaki endojen ürenin absorbansı hesabın dışında bırakılmış oldu.

Standart absorbansı, standarttaki üre miktarı ve sulandırma katsayılarından ortak bir faktör bulundu. Faktör hesaplanması şu şekilde yapıldı:

$$\text{Faktör} = \frac{(0.2 \mu\text{mol üre/ml}) \times 100 \times 5 \times 4}{0.2 \mu\text{mol üre/ml'nin absorbans}}$$

100: Süpernatantın MnCl<sub>2</sub> sulandırılma katsayısı

5: Süpernatantın inkübasyon ortamındaki sulanma katsayısı

4: İnkübasyon süresinin 1 saate tamamlanma katsayısı

Enzim aktivitesinin hesaplanmasında net örnek absorbansları faktör ile çarpıldı.  $\mu\text{mol üre/mL/saat}$  olarak enzim aktiviteleri bulundu.

### 3.2.7. Ornitin Tayini

Bu yöntem ornitin ninhidrin ile oluşturduğu mor renkli kompleksin spektrofotometrik olarak ölçümüne dayanmaktadır(159).

Çalışılacak serum %10'luk TCA ile 1/1 oranında muamele edildi. Daha sonra 3000 rpm'de 5 dakika santrifüjlendi ve süpernatant alındı.

Deney tüpüne 1 ml süpernatant, kör tüpüne 1 ml distile su ve standart tüpüne de 1 ml 0.18  $\mu\text{mol/ml}$ 'lik ornitin solüsyonu konuldu. Tüplere sırayla 2.5 ml glasiyel asetik asit ve 0.25 ml ninhidrin ayıracı konuldu. Tüm tüpler vortekslenerek karıştırıldıktan sonra 30 dakika kaynar su banyosunda tutuldu. Su banyosundan çıkarılan üpler hızla soğutulularak 515 nm'de absorbansları spektrofotometrede ölçüldü.

Ornitin değerinin hesaplanması için aşağıdaki formül kullanılmıştır.

$$\text{Ornitin } (\mu\text{mol/ml}) = \frac{\text{Deney absorbansı} \times 2 \times (0.18 \mu\text{mol ornitin/ml})}{\text{Standart ornitin absorbans değeri}}$$

2: Homojenatin TCA ile sulandırılma katsayısı

0.18  $\mu\text{mol/ml}$ : Standart ornitin konsantrasyonu

### 3.2.8. Total Antioksidan Kapasite Ölçümü ( TAK)

Klinik Biyokimya Laboratuvarında Rel Assay Diagnostics'in TAK deney kiti kullanılarak, Beckman LX 20 otoanalizöründe ölçüldü.

Çalışma prensibi: Numunedeki antioksidanlar koyu mavi-yeşil renkli 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzathiazoline-6-sülfonic acid) diamonium salt (ABTS) radikal çözeltisini, renksiz ABTS formuna çevirir. 660 nm absorbasındaki değişim total antioksidan miktarıyla ilgilidir. Kitin kalibrasyonu E vitamini benzeri Trolox Equivalent adı verilen stabil antioksidan standartıyla yapılır. Sonuçlar mmol/Trolox Equiv./L olarak verilir(160).

### **3.2.9. Total Oksidan Kapasite Ölçümü ( TOK)**

Klinik Biyokimya Laboratuvarında Rel Assay Diagnostics'in TOK deney kiti kullanılarak, Beckman LX 20 otoanalizöründe ölçüldü.

Çalışma prensibi: Numunedeki oksidanlar ferik iyonla tümleşik ferröz iyonu oksitler. Ferik iyon asidik ortamda kromojen madde ile etkileşerek renkli bir bileşik oluşturur. Spektrometrede ölçülen rengin koyuluğu numunedeki oksidan moleküllerin toplam miktarını verir. Kitin kalibrasyonu hidrojen peroksit ile yapılır. Sonuçlar ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  Equiv./L) olarak verilir(161).

### **3.2.8. Oksidatif Stres İndeksi ( OSİ)**

OSİ total oksidan kapasitesinin total antioksidan kapasiteye bölünmesiyle bulunur.

$$\text{OSİ} = \text{TOS/TAS} \times 100$$

#### 4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Hasta ve kontrol grubunda yer alan bireylere ait çeşitli verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi amacıyla SPSS 14.0 bilgisayar programı kullanılarak verilerin değerlendirilmesinde parametrik test varsayımları yerine getirildiğinde iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi, parametrik test varsayımları yerine getirilemediğinde Mann Whitney U testi uygulanmıştır. Veriler tablolarda aritmetik ortalama  $\pm$  standart sapma şeklinde belirtilip yanılma düzeyi 0,05 olarak alınmıştır.

## 5. BULGULAR

Bu çalışmada kesin tanı konulmuş 36 akciğer kanserli hastanın kan serumları kullanıldı. Kontrol grubu olarak da kanser ve herhangi bir sistemik hastalığı bulunmayan 36 sağlıklı bireyin kan serumları kullanıldı. Yapılan çalışmada kontrol ve hasta grubuna ait demografik bilgiler Çizelge 5.1 ve 5.2’de özetlenmiştir.

**Çizelge 5.1** Kontrol ve Hasta Gruplarının Cinsiyetine Ait Bilgiler ve Değerlendirilmesi

<b>Cinsiyet</b>	<b>Kontrol</b>	<b>Hasta</b>
Erkek N (%)	36 (%100)	36(%100)
Kadın N (%)	0(%0)	0(%0)
<b>Toplam N (%)</b>	<b>36 (% 100)</b>	<b>36 (% 100)</b>

Kontrol grubunun % 100’ ünü erkekler, % 0’ ını kadınlar, hasta grubunun ise % 100’ ünü erkekler, % 0’ ını kadınlar oluşturmaktadır.

**Çizelge 5.2** Kontrol ve Hasta Gruplarının Yaşına Ait Bilgiler ve Değerlendirilmesi

	<b>Yaş (<math>\bar{X} \pm S</math>)</b>
<b>Kontrol (N=36)</b>	57,44 $\pm$ 15,51
<b>Hasta (N=36)</b>	61,72 $\pm$ 9,04
<b>Sonuç</b>	t=1,42; p=0,157; p>0,05

Kontrol grubunda yer alan bireylerin yaşları ortalama  $57,44 \pm 15,51$  hasta grubunda  $61,72 \pm 9,04$  olarak tespit edilmiştir. Hasta ve kontrol grubundaki bireyler yaş dağılımları yönünden karşılaştırıldığında çizelge 5.2’de belirtildiği gibi iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark yoktur ( $t=1,42$ ;  $p=0,157$ ;  $p>0,05$ ).

**Çizelge 5.3** Ölçülen Parametrelerin Hasta ve Kontrol Grubunda Değerlendirilmesi

	Hasta ( N=36 )	Kontrol ( N=36 )	Sonuç
<b>Arjinin Dekarboksilaz</b> (pg/ml) $\bar{X} \pm S$	206,36±109,66	191,01±126,67	P=0,424 P>0,05
<b>Ornitin Dekarboksilaz</b> (pg/ml) $\bar{X} \pm S$	225,47±122,40	130,29±70,42	P=0,001 P<0,05
<b>Agmatinaz</b> (pg/ml) $\bar{X} \pm S$	967,72±769,89	233,70±109,88	P=0,001 P<0,05
<b>Arjinaz</b> ( $\mu$ molüre/mL/saat) $\bar{X} \pm S$	23,88±19,58	7,38±3,91	P=0,001 P<0,05
<b>Ornitin (<math>\mu</math>mol/mL)</b> $\bar{X} \pm S$	0,08±0,02	0,08±0,02	t=0,17 P=0,860 P>0,05
<b>Toplam</b> <b>Antioksidan Kapasite</b>	2,20±0,53	2,57±0,45	t=3,14 P=0,002

(mmol/Trolox Equiv./L)

P<0,05

$\bar{X} \pm S$

**Toplam** 50,93±29,72 28,61±14,61 P=0,001 P<0,05

**Oksidan Kapasite**

( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  Equiv./L)

$\bar{X} \pm S$

**Oksidatif** 22,72±12,32 11,76±9,04 P=0,001 P<0,05

**Stres İndeksi**

$\bar{X} \pm S$

Yapılan analizler sonucunda, çizelge 5.3'de görüleceği üzere **Arjinin Dekarboksilaz** düzeyi ortalamaları hasta grubunda 206,36±109,66pg/ml kontrol grubunda ise 191,01±126,6 pg/ml, **Ornitin Dekarboksilaz** düzeyi ortalamaları hasta grubunda 225,47±122,40pg/ml kontrol grubunda ise 130,29±70,42pg/ml, **Agmatinaz** düzeyi ortalamaları hasta grubunda 967,72±769,89pg/ml kontrol grubunda ise 233,70±109,88pg/ml, **Arjinaz** düzeyi ortalamaları hasta grubunda 23,88±19,58 $\mu\text{mol}/\text{mL}/\text{saat}$  kontrol grubunda ise 7,38±3,91 $\mu\text{mol}/\text{mL}/\text{saat}$ , **Ornitin** düzeyi ortalamaları hasta grubunda 0,08±0,02 $\mu\text{mol}/\text{mL}$  kontrol grubunda ise 0,08±0,02 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ , **Toplam Antioksidan Kapasite** düzeyi ortalamaları hasta grubunda 2,20±0,53 mmol/Trolox Equiv./L kontrol grubunda ise 2,57±0,45mmol/Trolox Equiv./L, **Toplam Oksidan Kapasite** düzeyi ortalamaları hasta grubunda 50,93±29,72 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  Equiv./L kontrol grubunda ise 28,61±14,61 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  Equiv./L, **Oksidatif Stres İndeksi** düzeyi ortalamaları hasta grubunda 22,72±12,32 kontrol grubunda ise

11,76±9,04 olarak saptanmıştır. Hasta ve kontrol grubundaki bireyler Ornitin Dekarboksilaz, Agmatinaz, Arjinaz, Toplam Antioksidan Kapasite, Toplam Oksidan Kapasite, Oksidatif Stres İndeksi düzeyi ortalamaları yönünden karşılaştırıldığında iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı iken (P<0,05), Ornitin, Arjinin Dekarboksilaz düzeyleri bakımından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (P>0,05).

## 6.TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmamızda serum arjinaz enzim aktivitesinin akciğer kanserli hastalarda kontrollere göre artmış olduğunu saptadık. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı ( $P<0,05$ ) idi. Bizim çalışmamızla benzer olarak akciğer kanserli hastalarda yapılan bir çalışmada hastalar ile kontrol grubunun eritrosit arjinaz aktiviteleri ölçülmüş ve akciğer kanserli hastaların arjinaz eritrosit aktivitelerinin artmış olduğu saptanmıştır. Bu çalışmaya küçük hücreli ve küçük hücreli olmayan akciğer kanserli hastalar ile ekstrapulmoner metastazlı akciğer kanserli hastalar ile metastazlı olmayan hastalar dahil edilmiştir. Sonuçlar akciğer kanserinin tipi ve ekstrapulmoner metastazı yönündende karşılaştırılmış ve anlamlı bir ilişki saptanamamıştır(162). Bu çalışmaya benzer olarak bugüne kadar yapılmış birçok çalışmada da farklı kanser tipleri için arjinaz aktivitesinin arttığı bildirilmiştir. Bizim bulgularımız, arjinaz aktivitesinin akciğer kanseri(162), kolektoral kanseri(163), prostat kanseri(164), pankreas kanseri(165), deri(166) ve mide(167) kanserinde arttığı yönündeki çalışmaların sonuçlarını desteklemektedir.

Arjinaz enzim aktivitesinin kanserli hastalarda artmış olduğunu gösteren çalışmaların sonuçları arjinaz enziminin aktivitesi ile malign hücre proliferasyonu arasındaki ilişkiye işaret etmektedir. Kanserli hastalarda tümörün çıkarılmasından sonra arjinaz aktivitesinde düşüş gözlenmesi bu ilişki ihtimalini kuvvetlendirmektedir. Her ne kadar arjinaz aktivitesindeki yüksekliğin kanserin nedeni olup olmadığı net olarak söylenemesede, çalışmalardan elde edilen bulgular bize tümör varlığında yüksek arjinaz aktivitesinin meydana geldiğini göstermektedir.

Arjinaz aktivitesindeki artışın poliamin sentezini arttırabileceği düşünüldüğünde kanser gelişiminin poliamin sentezine bağımlı olabileceği düşünülebilir. Bu düşüncemizi poliaminlerin hücrelerde nükleotit ve protein sentezini uyararak hücre proliferasyonunda artırıcı rol oynaması(113), poliamin konsantrasyonundaki artışın c-myc, c-fos, ve c-jun gibi transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonlarını arttırması aracılığıyla growth uyarıyı arttırması(35-37), poliamin düzeyindeki azalmanın hücre döngüsünün ilerlemesini durdurması, azalan poliamin düzeylerinin belirli büyüme inhibitör genlerinin transkriptlerini(p53, TGF- $\beta$  ve junD) stabilize etmesi(38-40), ökaryotik başlatma faktörü eIF5A'nın fonksiyonu hipusiniyasyona bağlı olduğundan dolayı spermidinin yokluğunda hipusiniyasyon inhibe olması(57) ve hücre büyümesinin



durması(58,59), farklı kanser tipleri için yapılan çalışmalarda kanserli hastalarda poliamin düzeylerinin kontrol grubuna göre yüksek çıkmış olması(168) güçlü bir şekilde desteklemektedir.

Bizim bulgularımızın yanında birçok kanser tipinde arjinaz aktivitesinin arttığı gösterilmesi(169) kanser gelişim sürecinde arjinaz aktivitesinin biyolojik marker olarak kullanılabilmesi ihtimalini akla getirmektedir. Ayrıca tümörler için alternatif bir tedavi yaklaşımı olarak arjinazın aktivitesini inhibe edici ajanlar kullanılabilir ve kullanılan ajanların malign çoğalmayı inhibe etmesi kanserin tedavisinde yararlı olabilir.

Çalışmamızda arjinaz enziminin katalizlediği reaksiyonla oluşan ornitin'in akciğer kanserli hastalar ile kontrollerde düzeyinin aynı olduğu saptandı. Bizim çalışmamızla benzer olarak akciğer kanserli hastaların kan hücrelerinde ornitin düzeyleri ölçülmüş ve kontrol grubuyla karşılaştırıldığında akciğer kanserinde ornitin düzeylerinin değişmediği saptanmıştır(170).

Bu çalışmanın verilerine ve bizim çalışmamızın bulgularına benzer olarak ornitin düzeyinin meme kanseri(171), kolorektal kanserinde(172) değişmediği bildirilmiştir. Bu çalışmaların aksine deri kanserinde(162), boyun tümörlerinde(173), hepatocelüler karsinomada(174) ornitin düzeyinin arttığı bildirilmiştir. Kanserde ornitin düzeylerindeki bu farklılıklar çalışmaların farklı kanser tiplerinde yapılmış olmasından kaynaklanıyor olabilir. Bununla birlikte farklı kanser tipleri için ornitin düzeylerinin farklı bulunması ornitin kanser için bir biyolojik marker olamayacağını göstermektedir.

Ornitin Dekarboksilaz enzim düzeylerinin akciğer kanserli hastalarda kontrollere göre artmış olduğu saptandı. Bu artış istatistiksel olarak önemli ( $P < 0,05$ ) idi. Yapılan bir çalışmada kanserli akciğer dokusu ile normal akciğer dokusunda ornitin dekarboksilaz enziminin ekspresyonuna bakılmış, kanserli akciğer dokusunda ornitin dekarboksilaz enzimin ekspresyonunun arttığı belirlenmiştir(175). Bu çalışmadan elde edilen bulgular bizim bulgularımız ile benzerlik göstermektedir. Ayrıca ornitin dekarboksilaz enziminin prostat kanserli hastaların prostat dokusunda(176), meme kanserinde(177) yemek borusu kanserinde ekspresyonunun arttığı(178) bildirilmiştir. Bunlarla birlikte kolorektal kanserde(179) ve mide kanserinde mukozal aktivitesinin arttığı(180)nın bildirilmesi bulgularımızı desteklemektedir.

Bizim çalışmamızda arjinazın aktivitesindeki yüksekliğe rağmen ornitin düzeyinin değişmemesi ornitin amino asitinin ornitin dekarboksilaz enzimi ile yıkımının artmış olmasından kaynaklanıyor olabilir. Çalışmamızda akciğer kanserli hastalarda ornitin dekarboksilaz enziminin düzeyinde artış geldiği belirlenmiştir. Bu enzim düzeyindeki artış, enzimin aktivitesinde artışa neden olarak ornitinden poliaminlerin öncülü putresin oluşumunu arttırıyor olabilir. Farklı kanser tipleri için yapılan çalışmalarda kanserli hastalarda poliamin düzeylerinin kontrol grubuna göre yüksek çıkmış olması(168,181,182)'da bu görüşümüzü desteklemektedir. Ornitin dekarboksilaz enziminin overeksprese edildiği farelerde yapılan ve iki yıl süren çalışmada farelerde spontan kanser oluşumunun ornitin dekarboksilazın overekspresyonu ile artmadığının saptanması kanserin ornitin dekarboksilazın over ekspresyonundan ve dolaylı olarak poliamin artışından kaynaklanmadığına işaret etmektedir. Çalışmamızın bulgularına göre arjinaz aktivitesindeki ve ornitin dekarboksilaz enziminin düzeyindeki artış malign proliferasyon için gerekli olan poliamin düzeylerini arttırmış olabilir. Bu poliamin düzeyindeki artış kanserin hızlı gelişiminin sağlanması amacıyla kanserin oluşumu sonrasında meydana gelmiş olabilir.

Arjinin Dekarboksilaz enzim düzeyinin akciğer kanserli hastalar ile kontrollerde aynı olduğu saptandı. Literatürde arjinin dekarboksilazın kanser hastalarındaki ekspresyonu veya aktivitesine ait bilgi bulunmamaktadır. Ornitin dekarboksilaz enziminin ekspresyonu hücresel proliferasyon boyunca putresin, spermidin ve spermin sağlamak için arttırılır(183). Oysa arjinin dekarboksilaz enzimin hücre proliferasyonu boyunca ekspresyonu artmaz. Bu sebeple arjinin dekarboksilaz aracılığıyla oluşan agmatinin poliamin üretimi için öncül olmadığı kabul edilmektedir(184). Bu bilgiler akciğer kanserinde arjinin dekarboksilaz enziminin düzeyinin değişmediğini gösteren bulgularımız ile uyum göstermektedir.

Arjininden arjinin dekarboksilaz enzimin katalizlediği reaksiyonla oluşan agmatinin hücredeki fonksiyonel rolü hala açık değildir. Agmatinin hücre büyümesi ve proliferasyonu arttırıcı rolünün olmadığı bildirilmiştir. Hatta agmatinin hücre büyümesi ve proliferasyonu inhibe ettiği saptanmıştır(184,185). Arjinin dekarboksilaz ve ornitin dekarboksilazın farklı doku ve hücre kültürü hatlarındaki farklı ekspresyon düzeyleri iki enzimin farklı fonksiyonlarının olduğuna işaret etmektedir. Gerçektende agmatinin, poliamin sentezinde kilit enzim olan ornitin dekarboksilazın yıkılması esnasında rolü olan antizimin ekspresyonunu arttırarak poliamin sentezini azalttığı belirlenmiştir(184).

Arjinin dekarboksilaz agmatinin sentezinden sorumlu bir enzimdir ve biyolojik önemi agmatinin fonksiyonlarıyla yakından ilişkilidir(186). Çalışmamızın bulgularına göre akciğer kanserli hastalarda arjinin dekarboksilaz enzim düzeylerinin aynı kalmış olması ile yukarıda verilen bilgiler enzimin malign proliferasyonda rolünün olmadığına ve bu enzimin biyolojik rolünün agmatinin fonksiyonuna bağlı olduğuna işaret ediyor gibi görünmektedir.

Agmatinaz düzeylerinin akciğer kanserli hastalarda kontrollere göre artmış olduğu saptandı. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı ( $P<0,05$ ) idi. Bizim çalışmamızın bulgularına göre akciğer kanserli hastalarda arjinin dekarboksilaz düzeyi aynı kalırken agmatinaz düzeyi artmıştır. Artan agmatinaz düzeyi enzimin aktivitesini arttırarak akciğer kanserli hastalarda agmatin düzeyini düşürmüş olabilir.

Yukarıda belirtildiği gibi artan agmatin düzeyi antizim ekspresyonunu artırması aracılığıyla ornitin dekarboksilaz düzeylerini azaltarak poliamin düzeylerinin düşmesine neden olur(184). Bununla birlikte artan agmatin düzeyi poliamin taşıyıcılarının baskılanmasına yol açarak hücre içerisindeki poliamin düzeylerini azaltır(187,188). Ayrıca agmatin spermidin/spermin asetiltransferaz enzimleriyle etkileşime girerek bu enzimlerin aktivitesini artırır. Artan agmatin düzeyiyle birlikte artan spermidin/spermin asetiltransferaz enzim aktivitesi sonucu hücrelerdeki putresin, spermidin ve spermin düzeyleri azalır(189). Poliamin düzeyindeki azalmalar daha önce açıklanan sebeplerden dolayı hücre proliferasyonunun inhibe olmasına neden olur. Bu bilgilere ek olarak agmatinin  $I_2$  reseptörlerine bağlanması aracılığıyla hücre proliferasyonunu inhibe etmesi düşükte olsa ayrı bir olasılıktır(187). Bu nedenlerle artan agmatinaz düzeyi enzimin aktivitesini arttırarak agmatin düzeyinde azalmaya neden olması aracılığıyla malign hücre proliferasyonunu arttırarak kanserin gelişimine katkıda bulunabilir.

Bizim çalışmamızın aksine bir çalışmada böbreklerinde tümör bulunan hastalardan alınan tümör dokularında agmatinaz enziminin ekspresyonunun azaldığı saptanmıştır(190). Bu çalışmayı destekleyen farklı bir çalışmada kolon kanserli hastalardan alınan tümör dokusunda agmatin düzeylerinin arttığı bildirilmiştir(191). Bu çalışmaların sonuçları bizim bulgularımız ile çelişmektedir. Bunun nedeni bu çalışmaların farklı kanser tiplerinde yapılmasından kaynaklanıyor olabilir. Bununla birlikte bu çalışmaların ve bizim çalışmamızın farklı sonuçları kanserde agmatinaz veya agmatinin biyolojik marker olabilme ihtimalini oldukça zayıflatmışlardır.

Çalışmamızda TAK'ın akciğer kanserli hastalarda kontrollere göre azalmış olduğu saptandı. Bu azalış istatistiksel olarak anlamlı ( $P<0,05$ ) idi. Serum TAK canlılarda meydana gelen serbest oksijen radikallerinin yok edilmesi için varolan tüm antioksidan sistemlerin fonksiyonlarının bir göstergesi olarak kullanılmaktadır(160). Çalışmamıza benzer olarak akciğer kanserli hastalarda yapılan çalışmalarda hastaların serumlarında antioksidan molekül düzeylerinin azaldığı saptanmıştır. Bu çalışmaların yanında bu konuda yapılmış diğer araştırmalarda tiroit kanserli ve meme kanserli hastalarını serumlarında TAK'ın azalmış olduğu saptanmıştır(192,193) Akciğer kanseri ve farklı tip kanserde yapılmış bu çalışmaların bulguları bizim çalışmamızın bulgularını desteklemektedir.

Oksijenin kısmi indirgenmesiyle oluşan singlet oksijen, süperoksit radikali, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali gibi aktive olmuş oksijen türleri oldukça reaktiftir ve organlarda toksik etkilere yol açar(194). Serbest oksijen radikalleri hücre membranı proteinlerini yıkararak hücreleri öldürür, membran lipid ve proteinlerini yok ederek hücre membranını sertleştirip hücre fonksiyonunu engeller, çekirdek membranını yararak çekirdekdeki genetik materyale etki edip DNA'yı kırılma ve mutasyonlara açık hale getirir, immün sistemdeki hücreleri yok ederek immün sistemi bozar(195). Bu nedenle hücresel düzeyde ciddi miktarda üretilen serbest oksijen radikallerinin yol açtığı toksik etkiler vücuttaki antioksidan savunma sistemiyle yok edilmeye çalışılır(196). Çalışmamızdan elde ettiğimiz bulgulara dayanarak akciğer kanserli hastalarda azalmış antioksidan kapasite üretilen oksijen radikallerinin toksik etkisini gidermek için yeterli olmayabilir ve bu durumda yukarıda belirtilen nedenler sebebiyle hastalığın prognozunu kötüleştiriyor olabilir.

Çalışmamızda TOS'un akciğer kanserli hastalarda kontrollere göre artmış olduğu saptandı. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı ( $P<0,05$ ) idi. TOS, biyokimyasal olarak canlılardaki toplam oksidan seviyenin bir göstergesi olarak ölçülebilmektedir(161). Tiroit kanserli ve meme kanserli hastaların(192,193) serumlarında TOS değerlerinin arttığı bildirilmiştir. Bu çalışmaların bulguları bizim çalışmamızla uyumludur.

Moleküller, hücresel ve doku düzeyindeki oksijen radikalleri aracılığıyla oluşan hasarın en aza inebilmesi için oksidanlar ve antioksidanlar arasında bir denge sağlanmalıdır. Kan serbest radikallerin zararlı etkilerini engelleyen birçok antioksidan molekül içermektedir. Vitamin C ve E, albümin, bilirubin, ürik asit gibi antioksidan moleküller ve süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimler

hücreleri oksidan ajanların zararlı etkilerinden korumaktadır(196). Fakat bu çalışmamızdaki bulgularımıza göre toplam antioksidan kapasitesinin azalıp toplam oksidan kapasitesinin artması ile denge oksidanlar yönüne kaymıştır. Bu nedenle akciğer kanserli hastalar oksijen radikalleri aracılığıyla oluşan büyük hücresel hasara maruz kalmaktadırlar. Bu durum hastalığın gelişimini hızlandırıyor olabilir.

Çalışmamızda OSI' nin akciğer kanserli hastalarda kontrollere göre artmış olduğu saptandı. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı ( $P<0,05$ ) idi. Akciğer kanserli hastalarda TAS değerlerindeki azalma ve TOS düzeyindeki artış oksidatif stresi meydana getirmiştir. Bizim bulgularımıza benzer olarak akciğer kanserli hastalar ile kontrol grubunun serumlarında yapılan iki çalışmada oksidatif stresin arttığı saptanmıştır(197,198). Bu çalışmaların yanında bu konuda yapılmış diğer araştırmalarda oksidatif stresin kolorektal kanserli(199), prostat kanserli(200), meme kanserli(201), tiroit kanserli(192) hastalarda arttığı bildirilmiştir. Bu çalışmaların sonuçları bulgularımızı desteklemektedir. Kanser tipine bağlı olmaksızın oksidatif stres tüm kanser tiplerinde artmaktadır.

Aerobik organizmalarda oksijen kullanımının doğal sonucu olarak reaktif oksijen metabolitleri meydana gelmektedir. Başta mitokondriyal elektron transportu olmak üzere ksenobiyotik metabolizması, fagositik aktivasyon, çeşitli sentez ve degradasyon reaksiyonlarında reaktif oksijen metabolitleri oluşmakta ve prooksidan/antioksidan dengenin prooksidanlar lehine kayması sonucunda gelişen oksidatif stres, çeşitli mekanizmalar ile biyomoleküllere hasar vermektedir(202,203).

Antioksidan savunmanın yetersiz kaldığı durumlarda ortaya çıkan oksidatif stres, yaşlanma ve kanser gibi birçok hastalığın oluşum sürecinde önemli rol oynar(193,204). Serbest radikallerin DNA üzerinde yaptıkları hasar önemlidir. DNA'nın nükleik asitleri ile reaksiyona giren serbest radikaller, DNA dizininde çatlaklar meydana getirmekte ve bu hücrelerin kanser hücrelerine dönüşmesine yol açmaktadırlar(144,205). Bununla birlikte çalışmamızın bulgularından elde edilen sonuçlara göre akciğer kanserli hastalarda TAS değerlerindeki azalma ve TOS düzeyindeki artma aracılığıyla meydana gelen oksidatif stresin bu hastalarda hastalığın nedeni olup olmadığı konusunda net konuşmak doğru olmayacaktır. Yalnızca hastalığın seyri sırasındaki bu oksidatif stres düzeyindeki yüksekliğin hastalığın prognozunu kötü yönde etkileyebileceği söylenebilir.

Sonuç olarak çalışmamızda arjinaz enziminin aktivitesi ve ornitin dekarboksilaz enziminin düzeylerindeki artış ile ornitin düzeyinin aynı kalması akciğer kanserinde poliamin düzeylerinin yükseldiğine işaret etmektedir. Poliamin düzeylerindeki bu artışın kanserin nedeni mi yoksa kanser oluşuktan sonra meydana gelen bir durum mu olduğu konusunda net bir şey söylemek mümkün olmasada kanser gelişiminin bağımlı olduğu poliamin düzeylerindeki artış hastalığın seyrini kötüleştiriyor ve yaşam süresini azaltıyor olabilir. Arjinaz ve ornitin dekarboksilaz enziminin aktivitesinin inhibe edilmesi aracılığıyla poliamin düzeylerindeki azalış kanserin tedavisine alternatif bir yaklaşım olabilir. Çalışmamızda akciğer kanserinde arjinin dekarboksilaz düzeylerinin aynı kalması ve agmatinaz düzeylerinin artması aracılığıyla enzim aktivitesindeki muhtemel artış agmatin düzeyini düşürmüş olabilir. Bu durumda proferasyonu inhibe edici etkisi olan agmatin düzeyindeki azalışın malign proferasyonu artırması aracılığıyla kanser hastalığının seyri kötüleştiriyor olabilir. Bugüne kadar kanserde pek dile getirilmemiş bir yaklaşım olan agmatinaz enziminin aktivitesinin inhibisyonu kanserin tedavisine önemli bir katkı sağlayabilir.

Akciğer kanserinde azalan TAK değerleri ve artan TOS değerleri aracılığıyla artmış OSİ düzeyinin hastalığın başlangıcını oluşturan faktörler arasında olup olmadığı konusunda bu çalışmamıza dayanarak bir şey söylemek mümkün değildir. Fakat artan oksidatif stresin hastalığın seyrini kötü etkileyeceğinden dolayı oksidatif stresle başa çıkabilecek ek tedavilerin yararlı olabileceğini düşünmekteyiz.

## 7.KAYNAKLAR

1. Michelle, S. and Ginsberg, M.D., (2005). Epidemiology of lung cancer, *Seminars in Roentgenology*, 83–89
2. Tabor, C. W. and Tabor, H., (1984). Polyamines, *Annual Review of Biochemistry*, 53, 749-790
3. Morgan, D.M., (1987). Polyamine, *Essays Biochem.*, 23, 82-115
4. Pegg, A.E., (1986). Recent advances in the biochemistry of polyamines in eukaryotes, *Biochem. J.* 234, 249-62
5. Pegg, A.E. and McCann, P.P., (1982). Polyamine metabolism and function, *Am J. Physiol.* 243, 212-21.
6. Gökmen, S.S., Yıldız, R., Tabakoğlu, E., Altıay, G., Yavuz, E. ve Gülen, Ş., (2005). Akciğer Kanseri Hastalarında Eritrosit Arginaz Aktivitesi, 22, 76-81
7. Onat, T., Emerk, K. ve Sözman, Y. E., (2006). İnsan Biyokimyası, Palme Yayıncılık, Ankara, 749-758
8. Pauk, N., Kubik, A., Zatloukal, P. and Krepela, E., (2005). Lung cancer in women., *Lung Cancer*, 48, 1–9
9. Ruano-Ravina, A., Figueiras, A. and Barros-Dios, J.M., (2003). Lung cancer and related risk factors: an update of the literature, *Public Health*, 117, 149–156
10. Alberg, A.J. and Samet, J.M., (2003). Epidemiology of lung cancer, *Chest*, 123, 21–49
11. Mulshine, J.L., (1999). Reducing Lung Cancer Risk., *Chest*, 116, 493-496
12. Köktürk, N., Öztürk, C. ve Kirişoğlu, C.E, (2003). Sigara ve akciğer kanseri, *Solunum*, 5, 139-145
13. Denissenko, M.F., Pao, A., Tang, M.S. and Pfeifer, G.P., Preferential formation of benzo(a)pyrene adducts at lung cancer mutational hotspots in p53, (1996). *Science*, 274, 430–432
14. Harley, N.H. and Harley, J.H., (1990). Potential Lung Cancer Risk From Indoor Radon Exposure. *Ca, A Cancer Journal for Clinician*, 40, 265-275
15. Doll, R., (1955). Mortality from lung cancer in asbestos workers, *Br. J. Ind. Med.*, 12,81–86

16. Selikoff, I.J., Hammond, E.C. and Seidman, H., (1979). Mortality experience of insulation workers in the United States and Canada 1943–1976, *Ann NY Acad Sci.*, 330,91–116
17. Alberg A.J., Ford J.G. and Samet J.M., (2007). *Epidemiology of lung cancer; ACCP Evidence-based clinical practice guidelines (2nd edition)*, *Chest*, 132, 29-55
18. Smith, J.T., Yang, G., Seril, N.D. and Liao, J., Kim, S., (1998). Inhibition of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-butanone induced lung tumorigenesis by dietary olive oil and squalene, *Carcinogenesis*, 19, 703–706
19. Alkoçlu, A. ve Özkurt, S., (2000) Akciğer kanserini önleyici ilaç tedavisi, *Akciğer kanseri, Özlem Grafik Matbaacılık, İstanbul*, 351–358
20. Hyer, J.D. and Gerard, S., (2000). Diagnosis and staging of lung cancer, *Clinics in chest medicine*, 21, 95-106
21. Matakidou, A., Eisen, T. and Houlston R.S., (2005). Systematic review of the relationship between family history and lung cancer risk, *British Journal of Cancer*, 93, 825 – 833
22. Yang, P., Schwartz A.G., McAllister, A.E, Swanson G.M. and Aston C.E., (1999). Lung Cancer Risk in Families of Nonsmoking Probands: Heterogeneity By Age at Diagnosis, *Genetic Epidemiology* 17., 253–273
23. Moniard, C., Cynober, L., and Bandt J.P., (2005). Polyamines: metabolism and implications in human diseases, *Clinical Nutrition*, 24: 184-197
24. Gerner, E. and Meyskens, F.L., (2004). Polyamines and Cancer: Old Molecules, New Understanding, *Nature Reviews*, 4, 781-792
25. Donald, J.R. and Soundararajan, R., (2000). Is agmatine a novel neurotransmitter in brain, *Tips*, 21, 187-193
26. Igarashi, K., Sakamoto, I., Goto, N., Kashiwagi, K., Honma, R. and Hirose, S., (1982). Interaction between polyamines and nucleic acids or phospholipids. *Arch. Biochem. Biophys.*, 219, 438-443
27. Bachrach. U., (2005). Naturally occurring polyamines: interaction with macromolecules. *Curr. Protein Pept. Sci.*, 6, 559-566
28. Igarashi, K. and Kashiwagi, K., (2000). Polyamines: mysterious modulators of cellular functions, *Biochem. Biophys. Res. Commun*, 271, 559-564



29. Quigley, G.J., Teeter, M.M. and Rich, A., (1978). Structural analysis of spermine and magnesium ion binding to yeast phenylalanine transfer RNA, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 75, 64-68
30. Erdmann, V.A., Thomas, G.A., Norton, J.W. and Herbst, E.J., (1968). The effect of polyamines on the enzymatic degradation of ribosomes. *Biochim. Biophys. Acta.*, 157, 43-51
31. Zillig, W., Krone, W. and Albers, M., (1959). Investigations on the biosynthesis of proteins. III. Contribution to the knowledge of the composition and structure of ribonucleoprotein particles, *Hoppe Seylers Z. Physiol..Chem.*, 317, 131-143
32. Xaplanteri, M.A., Petropoulos, A.D., Dinos, G.P. and Kalpaxis, D.L., (2005). Localization of spermine binding sites in 23S rRNA by photoaffinity labeling: parsing the spermine contribution to ribosomal 50S subunit functions, *Nucleic Acids Res.*, 33, 2792-2805
33. Venkiteswaran, S., Vijayanathan, V., Shirahata, A., Thomas, T. and Thomas, T.J., (2005). Antisense recognition of the HER-2 mRNA: effects of phosphorothioate substitution and polyamines on DNA.RNA, RNA.RNA, and DNA.DNA duplex stability, *Biochemistry*, 44, 303-312
34. Matsufuji, S., Matsufuji, T., Miyazaki, Y., Murakami, Y., Atkins, J.F., Gesteland, R.F. and Hayashi, S., (1995). Autoregulatory frameshifting in decoding mammalian ornithine decarboxylase antizyme, *Cell*, 80, 51-60
35. Wang, J.Y., McCormack, S.A., Viar, M.J., Wang, H., Tzen, C.Y., Scott, R.E. and Johnson, L.R., (1993). Decreased expression of protooncogenes c-fos, c-myc, and c-jun following polyamine depletion in IEC-6 cells, *Am. J. Physiol.* 265, 331-338
36. Li, L., Rao, J.N., Bass, B.L. and Wang, J.Y., (2001). NF-kappaB activation and susceptibility to apoptosis after polyamine depletion in intestinal epithelial cells, *Am. J. Physiol. Gastrointest.Liver Physiol.*, 280, 992-1004
37. Stephenson, A.H., Christian, J.F. and Seidel, E.R., (2004). Polyamines regulate eukaryotic initiation factor 4E binding protein 1 gene transcription, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 323, 204-212
38. Patel, A.R. and Wang, J.Y., (1997). Polyamines modulate transcription but not posttranscription of c myc and cjun in IEC-6 cells, *Am. J. Physiol.*, 273, 1020-1029

39. Li, L., Liu, L., Rao, J.N., Esmaili, A., Strauch, E.D., Bass, B.L. and Wang, J.Y., (2002). JunD stabilization results in inhibition of normal intestinal epithelial cell growth through P21 after polyamine depletion, *Gastroenterology*, 123, 764-779
40. Li, L., Li, J., Rao, J.N., Li, M., Bass, B.L. and Wang, J.Y., (1999). Inhibition of polyamine synthesis induces p53 gene expression but not apoptosis, *Am. J. Physiol.*, 276, 946-954
41. Raspaud, E., Olvera de la Cruz, M., Sikorav, J.L. and Livolant, F., (1998). Precipitation of DNA by polyamines: a polyelectrolyte behavior, *Biophys. J.*, 74, 381-393
42. Saminathan, M., Antony, T., Shirahata, A., Sigal, L.H., Thomas, T. and Thomas, T.J., (1999). Ionic and structural specificity effects of natural and synthetic polyamines on the aggregation and resolubilization of single-, double-, and triple-stranded DNA, *Biochemistry*, 38, 3821-3830
43. Bryson, K. and Greenall, R.J., (2000). Binding sites of the polyamines putrescine, cadaverine, spermidine and spermine on A- and B-DNA located by simulated annealing, *J. Biomol. Struct. Dyn.*, 18, 393-412
44. Hasan, R., Alam, M.K. and Ali, R., (1995). Polyamine induced Z-conformation of native calf thymus DNA, *FEBS Lett.*, 368, 27-30
45. Snyder, R.D., (1989). Polyamine depletion is associated with altered chromatin structure in HeLa cells, *Biochem. J.*, 260, 697-704
46. Snyder, R.D., (1989). Inhibition of X-ray-induced DNA strand break repair in polyamine-depleted HeLa cells, *Int. J. Radiat. Biol.*, 55, 773-782
47. Khan, A.U., Mei, Y.H. and Wilson, T., (1992). A proposed function for spermine and spermidine: protection of replicating DNA against damage by singlet oxygen, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 89, 11426- 11427
48. Pedreno, E., Lopez-Contreras, A.J., Cremades, A. and Penafiel, R., (2005). Protecting or promoting effects of spermine on DNA strand breakage induced by iron or copper ions as a function of metal concentration, *J. Inorg. Biochem.*, 99, 2074-2080
49. Hobbs, C.A., Paul, B.A. and Gilmour, S.K., (2002). Deregulation of polyamine biosynthesis alters intrinsic histone acetyltransferase and deacetylase activities in murine skin and tumors, *Cancer Res.*, 62, 67-74
50. Peng, H.F. and Jackson, V., (2000). In vitro studies on the maintenance of transcription-induced stress by histones and polyamines, *J. Biol. Chem.*, 275, 657-668

51. Thomas, T. and Thomas. T.J., (2001). Polyamines in cell growth and cell death: molecular mechanisms and therapeutic applications, *Cell Mol. Life Sci.*, 58, 244-258
52. Piacentini, M., Martinet, N., Beninati, S. and Folk, J.E., (1988). Free and protein-conjugated polyamines in Mouse epidermal cells Effect of high calcium and retinoic acid, *J. Biol. Chem.*, 263, 3790-3794
53. Folk, J.E., Park, M.H., Chung, S.I., Schrode, J., Lester, E.P. and Cooper, H.L., (1980). Polyamines as physiological substrates for transglutaminases, *J. Biol. Chem.*, 255, 3695-3700.
54. Singh, U.S., Pan, J., Kao, Y.L., Joshi, S., Young, K.L. and Baker, K.M., (2003). Tissue transglutaminase mediates activation of RhoA and MAP kinase pathways during retinoic acid-induced neuronal differentiation of SH-SY5Y cells, *J. Biol. Chem.*, 278, 391-399
55. Rao, J.N., Li, L., Golovina, V.A., Platoshyn, O., Strauch, E.D., Yuan, J.X. and Wang, J.Y., (2001). Ca<sup>2+</sup>-RhoA signaling pathway required for polyamine-dependent intestinal epithelial cell migration, *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.*, 280, 993-1007
56. Ray, R.M., McCormack, S.A., Covington, C., Viar, M.J., Zheng, Y. and Johnson, L.R., (2003). The requirement for polyamines for intestinal epithelial cell migration is mediated through Rac1, *J. Biol. Chem.*, 278, 13039-13046
57. Cooper, H.L., Park, M.H., Folk, J.E., Safer, B. and Braverman, R., (1983). Identification of the hypusine containing protein hy<sup>+</sup> as translation initiation factor eIF-4D, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 80, 1854-1857
58. Schnier, J., Schwelberger, H.G., Smit-McBride, Z., Kang, H.A. and Hershey, J.W., (1991). Translation initiation factor 5A and its hypusine modification are essential for cell viability in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*, *Mol. Cell. Biol.* 11, 3105-3114
59. Zuk, D. and Jacobson, A., (1998). A single amino acid substitution in yeast eIF-5A results in mRNA stabilization, *EMBO J.*, 17, 2914-2925
60. Williams, K., (1997). Modulation and block of ion channels: a new biology of polyamines, *Cell.Signal*, 9, 1-13
61. Lopatin, A.N., Shantz, L.M., Mackintosh, C.A., Nichols, C.G. and Pegg, A.E., (2000). Modulation of potassium channels in the hearts of transgenic and mutant mice with altered polyamine biosynthesis, *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 32, 2007-2024
62. Ransom, R.W. and Deschenes, N.L., (1990). Polyamines regulate glycine interaction with the N-methyl-D-aspartate receptor, *Synapse*, 5, 294-298

63. MacDonald, J.F., Jackson, M.F. and Beazely, M.A., (2007). G protein-coupled receptors control NMDARs and metaplasticity in the hippocampus, *Biochim. Biophys. Acta.*, 1768, 941-951
64. Grosshans, D.R., Clayton, D.A., Coultrap, S.J. and Browning, M.D., (2002). LTP leads to rapid surface expression of NMDA but not AMPA receptors in adult rat CA1, *Nat. Neurosci.*, 5, 27-33
65. Williams, K., Zappia, A.M., Pritchett, D.B., Shen, Y.M. and Molinoff, P.B., (1994). Sensitivity of the N-methyl-D-aspartate receptor to polyamines is controlled by NR2 subunits, *Mol. Pharmacol.*, 45, 803-809
66. Durand, G.M., Bennett, M.V. and Zukin, R.S., (1993). Splice variants of the N-methyl-D-aspartate receptor NR1 identify domains involved in regulation by polyamines and protein kinase C, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 90, 6731-6735
67. Lau, C.G. and Zukin, R.S., (2007). NMDA receptor trafficking in synaptic plasticity and neuropsychiatric disorders, *Nat. Rev. Neurosci.*, 8, 413-426
68. Quinlan, E.M., Philpot, B.D., Huganir, R.L. and Bear, M.F., (1999). Rapid, experience-dependent expression of synaptic NMDA receptors in visual cortex in vivo, *Nat. Neurosci.*, 2, 352-357
69. Ying, Z., Babb, T.L., Comair, Y.G., Bingaman, W., Bushey, M. and Touhalisky, K., (1998). Induced expression of NMDAR2 proteins and differential expression of NMDAR1 splice variants in dysplastic neurons of human epileptic neocortex, *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, 57, 47-62
70. Washbourne, P., Liu, X.B., Jones, E.G. and McAllister, A.K., (2004). Cycling of NMDA receptors during trafficking in neurons before synapse formation, *J. Neurosci.*, 24, 8253-8264
71. Zhong, J., Carrozza, D.P., Williams, K., Pritchett, D.B. and Molinoff, P.B., (1995). Expression of mRNAs encoding subunits of the NMDA receptor in developing rat brain, *J. Neurochem.*, 64, 531-539
72. Bettuzzi, S., Davalli, P., Astancolle, S., Pinna, C., Roncaglia, R., Boraldi, F., Tiozzo, R., Sharrard, M. and Corti, A., (1999). Coordinate changes of polyamine metabolism regulatory proteins during the cell cycle of normal human dermal fibroblasts, *FEBS Lett.*, 446, 18-22

73. Gilmour, S.K., Birchler, M., Smith, M.K., Rayca, K. and Mostochuk, J., (1999). Effect of elevated levels of ornithine decarboxylase on cell cycle progression in skin, *Cell Growth Differ*, 10, 739-748
74. Ray, R.M., Zimmerman, B.J., McCormack, S.A., Patel, T.B. and Johnson, L.R., (1999). Polyamine depletion arrests cell cycle and induces inhibitors p21(Waf1/Cip1), p27(Kip1), and p53 in IEC-6 cells, *Am. J. Physiol.* 276, 684-691
75. Ravanko, K., Jarvinen, K., Paasinen-Sohns, A. and Holtta, E., (2000). Loss of p27Kip1 from cyclin E/cyclindependent kinase (CDK) 2 but not from cyclin D1/CDK4 complexes in cells transformed by polyamine biosynthetic enzymes, *Cancer Res.*, 60, 5244-5253
76. Patel, A.R. and Wang, J.Y., (1999). Polyamine depletion is associated with an increase in JunD/AP-1 activity in small intestinal crypt cells, *Am. J. Physiol.*, 276, 441-450
77. Patel, A.R., Li, J., Bass, B.L. and Wang, J.Y., (1998). Expression of the transforming growth factor-beta gene during growth inhibition following polyamine depletion, *Am. J. Physiol.*, 275, 590-598
78. Alcivar, A.A., Hake, L.E., Mali, P., Kaipia, A., Parvinen, M. and Hecht, N.B., (1989). Developmental and differential expression of the ornithine decarboxylase gene in rodent testis, *Biol. Reprod.*, 41, 1133-1142
79. Qian, Z.U., Tsai, Y.H., Steinberger, A., Lu, M., Greenfield, A.R. and Haddox, M.K., (1985). Localization of ornithine decarboxylase in rat testicular cells and epididymal spermatozoa, *Biol. Reprod.*, 33, 1189-1195
80. Weiner, K.X. and Dias, J.A., (1992). Developmental regulation of ornithine decarboxylase (ODC) in rat testis: comparison of changes in ODC activity with changes in ODC mRNA levels during testicular maturation, *Biol. Reprod.*, 46, 617-622
81. Hoet, P.H., Nemery, B., (2000) Polyamines in the lung: polyamine uptake and polyaminelinked pathological or toxicological contiditions, *American Journal of Physiology Lung Cell Molecular Physiology*, 278(3): 417-433
82. Ray, R.M., Viar, M.J., Yuan, Q. and Johnson, L.R., (2000). Polyamine depletion delays apoptosis of rat intestinal epithelial cells, *American Journal of Physiology Cell Physiology*, 278, 480-489
83. Williams, K., (1997). Interactions of polyamines with ion chanells, *Biochemical Journal*, 325, 289-297

84. Ferioli, M.E., Pirona, L. and Pinotti, O., (2000). Prolactin and polyamine catabolism: specific effect on polyamine catabolism: specific effect on polyamine oxidase activity in rat thymus, *Molecular Cell Endocrinology*, 165, 51-56
85. Shearer JD, Richards JR, Mills CD, (1998). Differential regulation of macrophage arginine metabolism: a proposed role in wound healing, *American Journal of Physiology*, 272, 181-190
86. Kandemir F.M. ve Özdemir, N., (2009). Koyun Dalak Doku Arginazının Bazı Kinetik Özellikleri, *Kafkas Univ., Vet. Fak. Derg.*, 15, 553-559
87. Kandemir, F.M. ve Özdemir, N., (2008). L-Lizin ve L-ornitinin sığır böbrek doku arginaz aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi, *Fırat Üniv. Sağ. Bil. Derg.*, 22, 1-4, 2008.
88. Erbaş, H., Erten, O., Dağlar, A. ve İrfanoğlu, M.E., (2006). Meme kist sıvısı arjinaz aktivitesi, ornitin ve üre düzeyleri. *Turk J. Bioch.*, 31, 129-134
89. Wu, C.W., Wang, S.R., Chang, T.J., Lin, E.C., Chang, K.L., Huang, M.H., Lui, W.Y., P'eng, F.K. and Chi, C.W., (1989). Content of glucocorticoid receptor and arginase in gastric cancer and normal gastric mucosal tissues, *Cancer*, 64, 2552-2556
90. Wu, C.W., Chi, C.W., Tsay, S.H., Lui, W.Y., Peng, F.K., Chang, K.L., Huang, M.H. and Wang, S.R., (1987). The effects of arginase on neoplasm. I. The role of arginase in the immunosuppressive effects of extract from gastric cancer, *Zhonghua Min Guo Wei Sheng Wu Ji Mian Yi Xue Za Zhi*, 20, 279-289
91. Bachetti, T., Comini, L., Francolini, G., Bastianon, D., Valetti, B., Cadei, M., Grigolato, P.G., Suzuki, H., Finazzi, D., Albertini, A., Curello, S. and Ferrari, R., (2004). Arginase pathway in human endothelial cells in pathophysiological conditions, *J. Mol. Cell Cardiol.*, 37, 515-523
92. Cuervo, H., Pineda, M.A., Aoki, M.P., Gea, S., Fresno, M. and Girones, N., (2008). Inducible nitric oxide synthase and arginase expression in heart tissue during acute trypanosoma cruzi infection in mice: arginase I is expressed in infiltrating CD68+ macrophages, *J. Infect Dis*, 197, 1772-1782
93. Mohamed, S.A., Fahmy, A.S., Mohamed, T.M. and Hamdy, S.M., (2005). Urea cycle of *Fasciola gigantica*: Purification and characterization of arginase, *Comp. Biochem. Physiol.*, 142, 308-316
94. Kumar, A.N. and Kalyankar, G.D., (1984). Effect of steroid hormones on age dependent changes in rat arginase isoenzymes, *Exp. Gerontol.*, 19, 191-198

95. Erisir, M., Aydilek, N. and Aksakal, M., (2005). Effect of vitamin E on arginase activity in the liver and kidneys of testosterone-treated and castrated rabbits, *Acta Vet. Brno.*, 74, 527-531
96. Konarska, L., Tomaszewski, L. and Rolezyk, U., (1986). Studies on Larginase in developing rat small intestine, brain and kidney. *Biochem. Med. Metab. Biol.*, 35, 170-178
97. Belik, J., Shehnaz, D., Pan, J. and Grasmann, H., (2008). Developmental changes in arginase expression and activity in the lung, *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, 294, 498-504
98. Maarsingh, H., Pera, T. and Meurs, H., (2008). Arginase and pulmonary diseases, *Naunyn-Schmiedberg's Arch Pharmacol.*, 378, 171-184
99. Li, G., Regunathan, S., Barrow, C.J., Eshraghi, J., Cooper, R. and Reis, D.J., (1994). Agmatine: an endogenous clonidine-displacing substance in the brain, *Science*, 263, 966–969
100. Li, G., Regunathan, S. and Reis, D.J., (1995). Agmatine is synthesized by a mitochondrial arginine decarboxylase in rat brain, *Ann. NY Acad. Sci.*, 763, 325–329
101. Raasch, W., Regunathan, S., Li, G. and Reis, D.J., (1995). Agmatine, the bacterial amine, is widely distributed in mammalian tissues, *Life Sci.*, 56, 2319–2330
102. Regunathan, S., Feinstein, D.L., Raasch, W. and Reis D.J., (1995). Agmatine, the decarboxylated arginine is localized and synthesized in glial cell,. *Neuroreport*, 6, 1897–1900
103. Lortie, M.J., Novotny, W.F., Peterson, O.W., Vallon, V., Malvey, K., Mendonca, M., Satriano, J., Insel, P., Thomson, S.C. and Blantz, R.C., (1996). Agmatine, a bioactive metabolite of arginine, *J. Clin. Invest.*, 97, 413–420
104. Regunathan, S., Youngson, C., Raasch, W., Wang, H. and Reis, D.J., (1996). Imidazoline receptors and agmatine in blood vessels: a novel system inhibiting vascular smooth muscle proliferation, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 276, 1272–1282
105. Sastre, M., Galea, E., Reis, D.J. and Regunathan, S., (1998). Metabolism of agmatine in macrophages: modulation by lipopolysaccharides and inhibitory cytokines, *Biochem. J.*, 330, 1405–1409
106. Gorbatyuk, O.S., Milner, T.A., Wang, G., Reis, D.J. and Regunathan, S., (2002). Localization of agmatine in vasopressin and oxytocin neurons of the rat hypothalamic paraventricular and supraoptic nuclei, *Exp. Neurol.*, 171, 235–245

107. Otake, K., Ruggiero, D.A., Regunathan, S., Wang, H., Milner, T.A. and Reis, D.J., (1998). Regional localization of agmatine in the rat brain: an immunocytochemical study, *Brain Res.*, 787, 1–14
108. Sastre, M. Regunathan, S., Galea, E. and Reis, D.J., (1996). Agmatinase activity in rat brain: a metabolic pathway for the degradation of agmatine, *J. Neurochem.*, 67, 1761–1765
109. Lortie, M.J., Novotny, W.F., Peterson, O.W., Vallon, V., Malvey, K., Mendonca, M., Satriano, J., Insel, P., Thomson, S.C. and Blantz, R.C., (1996). Agmatine, a bioactive metabolite of arginine. Production, degradation, and functional effects in the kidney of the rat, *J. Clin. Invest*, 97, 413–420
110. Demady, D.R., Jianmongkol, S., Vuletich, J.L., Bender, A.T. and Osawa, Y., (2001). Agmatine enhances the NADPH oxidase activity of neuronal NO synthase and leads to oxidative inactivation of the enzyme, *Mol. Pharmacol.*, 59, 24–29
111. Reis, D.J. and Regunathan, S., (2000). Is agmatine a novel neurotransmitter in brain?, *Trends Pharmacol. Sci.*, 21, 187–193
112. Palavan, Ü.Ü., (1990). Hızlı Büyüme ve Kanserde Poliaminler, *Doğa-Tr J of Med. Sci.*, 14, 1-19
113. Rodvell, V.W., (2004). Proteinlerin ve aminoasitlerin metabolizması Harper'ın Biyokimyası, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 307-59.
114. Wallace, H.M., Fraser, A.V. and Hughes, A., (2003). A perspective of polyamine metabolism, *Biochem. J.*, 376, 1–14
115. Gugliucci, A., (2004). Polyamines as clinical laboratory tools, *Clin. Chem. Acta*, 344, 23-35
116. Kuk, G.D. and Casero R.A., (1987). Polyamines in normal and cancer cell, *Adv. Enzyme Regule*, 36, 91-105
117. Russel, D.H., Looney W.B., Kovacs C.J., Hopkins H.A., Daltilo J.W. and Morris H.P., (1976). Changes in serum putrecine and spermidine levels following local radiation to hepatoma 3924A of the rat, *Cancer Research*, 36, 420-423
118. Janne, J., Pöso, H. And Raina, A., (1978). Polyamines in rapid growth and cancer, *Acta. Biochem. Biophys*, 473, 241-293
119. Moulinoux, J.P., Quemener, V. and Khan, N.A., (1991). Biological signifiacnce of circulating polyamines in oncology, *Cellular and Molecular Biology*, 37, 773-783



120. Löser, C., Fölsch, U.R., Papronty, C. and Creutzfeldt, W., (1990). Polyamine concentrations in pancreatic tissue, serum and urine of patients with pancreatic cancer, *Pancreas*, 5, 119-127
121. Löser, C., Fölsch, U.R., Papronty, C. and Creutzfeldt, W., (1990). Polyamines in colorectal cancer, *Cancer*, 65,958-966
122. Horn, Y., Beal, S.L., Walach, N., Lubich, W.P., Spigel, L., Marton, L.J., (1984). Relationship of urinary polyamines to tumor activity and tumor volume in patients, *Cancer Research*, 44, 4675-4678
123. Kubota, S., Yoshimoto, M., Yamasaki, Z., Imahori, K., Takaku, F., Okada, M., Murata, N., Wada, T. and Ohsawa, N., (1985). Urinary polyamines as a tumor marker, *Cancer Detec. Prevent*, 8, 189-192
124. Umeki, S., Umeki, Y., Okumoto, T. and Matsumori T., (1988). Urinary polyamines in malignancies, *medical Laboratory Sciences*, 45, 250-254
125. Indamar, N.A., Redkar, S.L., Mitra, I. and Damle, S.R., (1988). Clinical significance of serum spermine in breast cancer, *Tumor*, 74, 171-176
126. Kingsnorth, A.N., Wallace, H.M., Bundred, N.J. and Dixon, J.M., (1984). Polyamines in breast cancer, *Br. J. Surg.*, 71, 352-356
128. Singh, R., Pervin, S., Karimi, A., Cederbaum, S. and Chaudhuri, G., (2000). Arginase activity in human breast cancer cell lines: N-Hydroxy-L-arginine selectively inhibits cell proliferation and induces apoptosis in MDA-MB-468 cells, *Cancer Research*, 60, 3305–3312
128. Kwang, B.W., T., Waalkes, T.P., Abeloff, M.D., Lenhard, R.E., Gehrke, C.W., and Kuo K.C., (1983). Urinary Polyamines for Evaluating the Course of Disease for Patients With Small Cell Carcinoma of the Lung, *Cancer*, 529, 1684-1690
129. Halliwell, B., (1991). Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease, *The American journal of medicine*, 91, 14-22
130. Akkus, İ., Serbest Radikaller ve Fizyoterapik Etkileri, (1995). MIMOZA Basım, Konya, 1-83
131. Gültekin, F., Delibas, N., Yasar, S. and Kılınç, İ., (2001). In vivo changes in antioxidant systems and protective role of melatonin and a combination of vitamin C and vitamin E on oxidative damage in erythrocytes induced by chlorpyrifos-ethyl in rats, *Arch. Toxicol.*, 75, 88-96

132. Mates, J.M., (2000). Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology, *Toxicology*, 153, 83-10
133. Swierczynski, J., Kochan, Z. and Mayer, D., (1997). Dietary  $\alpha$ -tocopherol prevents dehydroepiandrosterone-induced lipid peroxidation in rat liver microsomes and mitochondria, *Toxicol. Lett.*, 91, 129-136
134. Krajcovicova-Kudlackova, M., Paukova, V., Bacekova, M. and Dusinska, M., (2004). Lipid peroxidation in relation to vitamin C and vitamin E levels, *Cent. Eur. J. Public Health*, 12, 46-48
135. Nagy, I.Z., (1990). Chemistry, toxicology, pharmacology and pharmacokinetics of idebenone : a review, *Arch. Gerontol. Geriat.*, 11, 177-186
136. Bao, Y.P., Williamson, G., Tew, D., Plumb, G.W., Lambert, N., Jones, J.G. and Menon D.K., (1998). Antioxidant effects of propofol in human hepatic microsomes: concentration effects and clinical relevance, *British J. Anaesth*, 81, 584-589
137. Pellegrini, N., Miglio, C. and Del-Rio D., (2009). Effect of domestic cooking methods on the total antioxidant capacity of vegetable,. *Int. J Food Sci. Nutr.*, 60, 12–22
138. Ratnam, D.V., Ankola, D.D. and Bhardwaj, V., (2006). Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective, *J. Control Release*, 113, 189–207
139. Çete, S., Arslan, F. ve Yasar, A., (2005). Aloe Vera ve Nerium Olfander'in Bazı Mikroorganizmalara Karşı Antimikrobiyal Aktivitenin Araştırılması ve bu bitkilerin Siklosporinli karaciğer dokusundaki Ksantin Oksidaz Enzim Aktivitesine Etkilerinin incelenmesi. *G. Ü. Fen Bilimleri Dergisi*, 18, 375- 380
140. Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C., (1999). *Free Radicals in Biology and Medicine*, Oxford University Press. Inc, London, 3rd ed
141. Randerath, K., Zhou, G.D., Monk, S.A. and Randerath, E., (1997). Enhanced levels in neonatal rat liver of 7, 8-dihydro-8-oxo-2'-deoxyguanosine (8-hydroxydeoxyguanosine), a major mutagenic oxidative DNA lesion, *Carcinogenesis*, 18, 1419-1421
142. Cooke, M.S., Evans, M.D., Dizdaroglu, M. and Lunec, J., (2003). Oxidative DNA damage: Mechanisms, mutation, and disease, *FASEB J.*, 17, 1195-1214
143. Evans, M.D. and Cooke, M.S., (2004). Factors contributing to the outcome of oxidative damage to nucleic acids, *BioEssays*, 26, 533-542

144. Dizdaroğlu, M., Laval, J. and Boiteux, S., (1993). Substrate specificity of the *Escherichia coli* endonuclease III: excision of thymine- and cytosine-derived lesions in DNA produced by radiation-generated free radicals, *Biochem.*, 32, 45, 12105-12111
145. Trush, M.A. and Kensler, T.W., (1991). An overview of the relationship between oxidative stress and chemical carcinogenesis, *Free Radic. Biol Medicine*, 10, 201-209
146. Chaudhary, A.K., Nokubo, M., Marnett, L. and Blair, I.A., (1994). Analysis of the malondialdehyde-2'-deoxyguanosine adduct in rat liver DNA by gas chromatography/electron capture negative chemical ionization mass spectrometry, *Biol Mass Spectrom*, 23, 457-464
147. Scholz, W., Schutze, K., Kunz, W. and Schwarz, M., (1990). Phenobarbital enhances the formation of reactive oxygen in neoplastic rat liver nodules, *Cancer Res.*, 50, 7015-7022
148. Stark, A.A., (1991). Oxidative metabolism of glutathione by gamma-glutamyl transpeptidase and peroxisome proliferation: the relevance to hepatocarcinogenesis, A hypothesis, *Mutagenesis*, 6, 241-245
149. Toyokuni, S., Okamoto, K., Yodoi, J. and Hiai, H., (1995). Persistent oxidative stress in cancer, *FEBS Lett.*, 358, 1-3
150. Palozza, P., Agostara, G., Piccioni, E. and Bartoli, G.M., (1994). Different role of lipid peroxidation in oxidative stress-induced lethal injury in normal and tumor thymocytes, *Arch Biochem Biophys.* 312, 88-94
151. Breen, A.P. and Murphy, J.A., (1995). Reactions of oxyl radicals with DNA, *Free Radical Bio. Med.*, 8, 6, 1033-77
152. Chang, C.S., Chen, W.N., Lin, H.H., Wu, C.C. and Wang, C.J., (2004). Increased oxidative DNA damage, inducible nitric oxide synthase, nuclear factor B expression and enhanced antiapoptosis-related proteins in *Helicobacter pylori*-infected non-cardiacgastric adenocarcinoma, *World J. Gastroentero.*, 10, 15, 2232-2240
153. Chuma, M., Hige, S. and Nakanishi, M., (2008). 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine is a risk factor for development of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C virus infection, *J. Gastroen. Hepatol.*, 23, 1431-1436
154. Collier, A.C., Dandge, S.D., Woodrow, J.E. and Pritsos, C.A., (2005). Differences in DNA damage in non smoking men and women exposed to environmental tobacco smoke (ETS), *Toxicol. Lett.*, 158, 10-19

155. Dandona, P., Thusu, K. and Cook, S., (1996). Oxidative damage to DNA in diabetes mellitus, *Lancet.*, 347, 8999, 444-445
156. Dinçer, Y., Erzin, Y., Himmetoğlu, S., Güneş, K.N., Bal, K. and Akçay, T., (2007). Oxidative DNA damage and antioxidant activity in patients with inflammatory Bowel Disease, *Digest Dis. Sci.*, 52, 1639-1641
157. Dirksen, M.L., Blakely, W.F., Holwitt, E. and Dizdaroğlu, M., (1988). Effect of DNA conformation on the hydroxyl radical-induced formation of 8,5'-cyclopurine 2'-deoxyribonucleoside residues in DNA, *Int. J. Radiat. Biol.*, 54, 2, 195-204
158. Geyer, J.W. and Dabich, D., (1986). Rapid Method for Determination of Arginase Activity in Tissue Homogenates, *Analytic Biochem.*, 39, 412-17.
159. Chinard, F.P., (1952). Photometric Estimation of Proline and Ornithine, *J. Biol. Chem.*, 199, 91-95
160. Erel, O., (2004). A novel automated colorimetric method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions, *Clin. Biochem.*, 37, 112-119
161. Erel, O., (2005). A novel automated colorimetric method for measuring total oksidan status, *Clin. Biochem.*, 38, 1103-1111
162. Gökmen, S.S., Yörük, Y., Çakır, E., Yorulmaz, F. and Gülen, Ş., (1999). Arginase and ornithine, as markers in human non-small cell lung carcinoma, *Cancer Biochem. Biophys.*, 17, 125-131
163. Leu, S.Y. and Wang, S.R., (1992). Clinical significance of arginase in colorectal cancer, *Cancer*, 70, 733-736
164. Harris, B.E., Pretlow, T.P., Bradley, E.L.J., Whitehurst, G.B. and Pretlow, T.G., (1983). Arginase activity in prostatic tissue of patients with benign prostatic hyperplasia and prostatic carcinoma, *Cancer Res.*, 43, 3008-3012
165. Loser, C., Folsch, U.R., Paprotny, C. and Creutzfeldt, W., (1990). Polyamine concentrations in pancreatic tissue, serum, and urine of patients with pancreatic cancer, *Pancreas*, 5, 119-127
166. Gökmen S.S., Aygıt A.C., Ayhan M.S., Yorulmaz F. and Gülen Ş., (2001). Significance of arginase and ornithine in malignant tumors of the human skin, *J. Lab. Clin. Med.*, 137, 5, 340-344
167. Wu, C.W., Chi, C.W., Ho, C.K., Chien, S.L., Lui, W.Y. and P'Eng, F.K., (1994). Effect of arginase on splenic killer cell activity in patients with gastric cancer, *Dig. Dis. Sci.*, 39, 1107-1112

168. Horn, Y., Beal, S.L., Walach, N., Lubich, W.P., Spigel, L., Marton, L.J., (1984). Relationship of urinary polyamines to tumor activity and tumor volume in patients, *Cancer Research*, 44, 4675-4678
169. Kaplan, İ., Aydın, Y., Bilen, Y., Genç, F., Keleş, M.S. and Eroğlu, A., (2012). The evaluation of plasma arginine, arginase, and nitric oxide levels in patients with esophageal cancer, *Turk J. Med. Sci.*, 42, 3, 403-409.
170. Proenza, A.M., Oliver, J., Palou, A. and Roca, P., (2003). Breast and lung cancer are associated with a decrease in blood cell amino acid content, *Journal of Nutritional Biochemistry*, 14, 133–138
171. Proenza, A.M., Oliver, J., Palou, A. and Roca, P., (2003). Breast and lung cancer are associated with a decrease in blood cell amino acid content, *Journal of Nutritional Biochemistry*, 14, 133–138
172. Leichtle, A.B., Nuoffer J.M., Ceglarek, U., Kase, J., Conrad T., Witzigmann, H., Thiery, J., Fiedler G.M., (2012). Serum amino acid profiles and their alterations in colorectal cancer, *Metabolomics*, 8, 643–653
173. Wilson E.A., Sprague A.D., Hurst M.E., and Roddick J.W., (1976). Free Serum Amino Acids in Patients with Advanced Cervical Carcinoma, *Gynecologic oncology*, 4, 311-313
174. Hirayama C., Sumaya, K., Horie, Y., Tanimoto, K. and Kato, S., (1987). Plasma Amino Acid Patterns in Hepatocellular Carcinoma, *Biochemical medicine and metabolic biology*, 38, 127-133
175. Tian, Y., Huang, Q., Li, L., Liu, X.X. and Zhang, Y., (2006). Gene Expression of Ornithine Decarboxylase in Lung Cancers and Its Clinical Significance, *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 38, 639–645
176. Mohan, R.R., Challa, A., Gupta, S., Bostwick, D.G, Ahmad, N., Agarwal, R., Marengo, S.R., Amini, S.B., Paras, F., MacLennan, G.T., Resnick, M.I. and Mukhtar, H., (1999). Overexpression of Ornithine Decarboxylase in Prostate Cancer and Prostatic Fluid in Humans, *Clinical Cancer Research*, 5, 143–147
177. Deng, W., Jiang, X., Mei, Y., Sun, J., Rong Ma, Liu, X., Sun, H., Tian, H. and Sun, X., (2008). Role of ornithine decarboxylase in breast cancer, *Acta. Biochim. Biophys. Sin.*, 235-243

178. Yoshida, M., Hayashi, H., Taira M. and Isono, K., (1992). Elevated expression of the ornithine decarboxylase gene in human esophageal cancer, *Cancer Research*, 52, 6671-6675
179. Hixson, L.J., Garewal, H.S., McGee, D.L., Sloan, D., Fennerty, M.B., Sampliner, R.E. and Gerner, E.W., (1993). Ornithine decarboxylase and polyamines in colorectal neoplasia and mucosa, *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, 2, 369-374
180. Okuzumi, J., Yamane, T. and Kitao, Y., (1991). Increased Mucosal Ornithine Decarboxylase Activity in Human Gastric Cancer, *Cancer Res.*, 51, 1448-1451
181. Kalac P., (2014). Health effects and occurrence of dietary polyamines: A review for the period 2005–mid 2013, *Food Chemistry*, 161, 27–39
182. Lee, C.Y., Liu, Y.L., Lin, C.L., Liu, G.Y. and Hung, H.C., (2014). Functional Roles of the Dimer-Interface Residues in Human Ornithine Decarboxylase, *Plos One*, 9, 1-11
183. Ray, R.M., Bhattacharya, S., Bavaria, M.N., Viar, M.J. and Johnson L.R., (2014). Antizyme (AZ) regulates intestinal cell growth independent of polyamines, *Amino Acids*, 1-9
184. Satriano, J., Matsufuji, S., Murakami, Y., Lortie, M.J., Schwartz, D., Kelly, C.J., Hayashi, S. and Blantz, R.C., (1998). Agmatine suppresses proliferation by frameshift induction of antizyme and attenuation of cellular polyamine levels, *J. Biol. Chem.*, 273, 15313–15316
185. Regunathan, S., Youngson, C., Raasch, W., Wang, H. And Reis, D.J., (1996). Imidazoline receptors and agmatine in blood vessels: a novel system inhibiting vascular smooth muscle proliferation, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 276, 1272–1282
186. Zhu, M.Y., Iyo, A., Piletz J.E., Regunathan, S., (2004). Expression of human arginine decarboxylase, the biosynthetic enzyme for agmatine, *Biochimica. et. Biophysica. Acta.*, 1670, 156– 164
187. Berkels, R., Taubert, D., Gründemann, D. and Schömig, E., (2004). Agmatine Signaling: Odds and Thread, *Cardiovascular Drug Reviews*, 22, 1, 7–16
188. Piletz, J.E., Aricioglu, F., Cheng, J.T., Fairbanks, C.A., Gilad, V.H., Haenisch, B., Halaris, A., Hong, S., Lee, J.E., Li, J., Liu, P., Molderings G.J, Rodrigues, A.L.S., Satriano, J., Seong, G.J., Wilcox, G., Wu, N. And Gilad, G.M., (2013). Agmatine: clinical applications after 100 years in translation, *Drug Discovery, Today*, 18, 17/18, 880-893

189. Vargiu, C., Cabella, C., Belliardo, S., Cravanzola, C., Grillo, M.A. and Colombatto, S., (1999). Agmatine modulates polyamine content in hepatocytes by inducing spermidine\_spermine acetyltransferase, *Eur. J. Biochem.*, 259, 933–938
190. Dallmann, K., Junker, H., Balabanov, S., Zimmermann, U., Giebel J. and Walther, R., (2004). Human agmatinase is diminished in the clear cell type of renal cell carcinoma, *Int. J., Cancer*, 108, 342–347
191. Molderings, G.J., Kribben, B., Heinen, A., Schröder, D., Brüss, M. and Göthert, M., (2004). Intestinal Tumor and Agmatine (Decarboxylated Arginine), *Cancer*, 101, 4, 858-868
192. Wang, D., Feng, J.F., Zeng, P., Yang, Y.H., Luo J. and Yang Y.W., (2011). Total oxidant/antioxidant status in sera of patients with thyroid cancers, *Endocrine-Related Cancer*, 18, 773–782
193. Feng, J.F., Lu, L., Zeng, P., Yang, Y.H., Luo, J., Yang Y.W. and Wang, D., (2012). Serum total oxidant/antioxidant status and trace element levels in breast cancer patients, *Int. J. Clin. Oncol.*, 17, 575–583
194. Singal, P.K., Khaper, N. and Palace, V., (1998). The role of oxidative stress in the genesis of heart disease, *Cardiovasc Res.*, 40, 426-432
195. Işık, A. ve Koca, S., (2006). Behçet hastalığında total antioksidan cevap ve oksidatif stres, *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 20, 415-421
196. Demircan, G., Dıraman, E. ve Demircan, S., (2005). Kalp hastalıklarında oksidatif stresin rolü, *Türk Kardiyoloji Derneği Arşivi*, 33, 488- 492
197. Esmе, H., Mustafa Cemek, M., Sezer, M., Sağlam, H., Demir, A., Melek, H. ve Unlü, M., (2008). High levels of oxidative stress in patients with advanced lung cancer, *Respirology*, 13, 1, 112-116
198. Gupta, A., Srivastava, S., Prasad, R., Natu, S.M., Mittal, B., Negi, M.P.S. ve Srivastava, A.N., (2010). Oxidative stress in non-small cell lung cancer patients after chemotherapy: Association with treatment response, *Respirology*, 15, 349–356
199. Chang, D., Wang, F., Zhao, Y.H., and Pan, H.Z., (2008). Evaluation of Oxidative Stress in Colorectal Cancer Patients, *Biomedical and environmental sciences*, 21, 286-289
200. Khandrika, L., Kumar B., Koul, S., Maroni, P. and Koul, H.K., (2009). Oxidative stress in prostate cancer, *Cancer Letters*, 282, 125–136

201. Punnonen, K., Ahotupa, M., Asaishi, K., Hyöty, M., Kudo, R. and Punnonen, R., (1994). Antioxidant enzyme activities and oxidative stress in human breast cancer, *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 120, 374-377
202. Cooke, M.S., Evans, M.D., Dizdaroglu, M. and Lunec, J., (2003). Oxidative DNA damage: Mechanisms, mutation, and disease, *FASEB J.*, 17, 1195-1214
203. Evans, M.D. and Cooke, M.S., (2004). Factors contributing to the outcome of oxidative damage to nucleic acids, *Bio. Essays*, 26, 533-542
204. Glasauer, A. and Navdeep, S., (2014). Chandel Targeting antioxidants for cancer therapy, *Biochemical Pharmacology*, 1-12
205. Stone, W.L., Krishnan, K., Campbell, S.E. and Palau, V.E., (2014). The role of antioxidants and pro-oxidants in colon cancer, *World J. Gastrointest. Oncol.*, 6, 3, 55-66



## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı	Serkan KAPANCIK
Doğum Yeri ve Tarihi	Bursa, 03.03.1986
Medeni Hali	Bekar
Yabancı Dil	İngilizce
Mesleği	Kimya Mühendisi
İletişim Adresi	Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, 58140-SİVAS
Eğitim Durumu	
Lise	Bursa Yıldırım Beyazıt Lisesi
Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği
Yüksek Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı