



**T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**PROSTAT KANSERLİ HASTALARDA
OKSİDAN-ANTİOKSİDAN DURUM VE PARAOKSONAZIN
BU DURUMA ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ
DR. NURİ ORHAN**

DÜZCE-2011



**T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**PROSTAT KANSERLİ HASTALARDA
OKSİDAN-ANTIOKSİDAN DURUM VE PARAOKSONAZIN
BU DURUMA ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Dr. NURİ ORHAN
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. RAMAZAN MEMİŞOĞULLARI**

DÜZCE-2011

ÖNSÖZ

Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda hazırlamış olduğum tıpta uzmanlık tezimin tüm aşamalarında ve uzmanlık eğitimim süresince her türlü yardım ve desteğinden dolayı tez danışmanım Doç. Dr. Ramazan Memişoğulları'na teşekkür ederim. Tıpta uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve yardımlarını esirgemeyen hocalarım Prof. Dr. Özlem Yavuz, Doç. Dr. Abdurrahman Coşkun, Yrd. Doç. Dr. Hilmi Demirin'e teşekkür ederim.

Tez çalışmam sırasında yardım ve desteklerinden dolayı Prof. Dr. Haydar Kamil Çam, Doç. Dr. Handan Ankaralı, Dr. Hayriye Ak Yıldırım, Dr. Taner Uçgun, Dr. Muhammet Engin Özcan, Üroloji Anabilim Dalı'ndaki araştırma görevlisi arkadaşlarım, uzmanlık eğitimim sırasında birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum Merkez Laboratuvarımızda görevli çalışma arkadaşlarım ve Düzce Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri'ne teşekkür ederim.

Son olarak desteklerini her zaman hissettiğim aileme ve eşime teşekkür ederim.

Haziran 2011

Nuri ORHAN

ÖZET

PROSTAT KANSERLİ HASTALARDA OKSİDAN-ANTIOKSİDAN DURUMUN DEĞERLENDİRİLMESİ VE PARAOKSONAZIN BU DURUMA ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Prostat kanseri, kansere bağlı ölümlerin önemli nedenlerinden biridir. Oksidatif DNA hasarı prostat kanseri gelişmesine katkıda bulunabilir. Paraoksonaz (PON), insan vücudundaki endojen antioksidanlardan biridir. Çalışmamızda yeni tanı almış prostat kanserli hastalarda ve sağlıklı kontrollerde serum örneklerinde lipid parametreleri, total oksidan ve antioksidan kapasite (TOK, TAK), oksidatif stres indeksi (OSİ), paraoksonaz (PON1) ve arilesteraz (ARE) aktiviteleri ve PON1 fenotip dağılımı saptanarak iki grup arasında karşılaştırılması amaçlandı.

Çalışma, prostat kanseri grubunda (PK) ve sağlıklı kontrol grubunda prospektif olarak yapıldı. Serum PON1 ve ARE aktiviteleri ile diğer parametreler her iki gruptaki 40 katılımcıda ölçüldü. PON1 fenotip dağılımı PON1/ARE aktivitelerine göre belirlendi. İstatistiksel değerlendirmeler *Student t* testi ve *Pearson* korelasyon analizi ile yapıldı.

TKOL ve LDL-K düzeyleri PK grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptandı ($p=0,044$; $p=0,026$). OSİ değerleri hastalarda kontrollerden yüksekti ($p=0,029$). PON1 ve ARE değerleri hastalarda kontrollerden düşüktü ($p=0,040$; $p=0,027$). PON1 aktivitelerine göre her iki grupta üç fenotip belirlendi. PK grubunda *Hardy-Weinberg* dağılımından sapma olduğu gözlemlendi.

Sonuçlarımız oksidatif stresin lipid peroksidasyonu aracılığıyla prostat kanserinin gelişiminde önemli rol oynayabileceğini ve PON1 ile PON1 fenotiplemesinin prostat kanseri için prediktif değer taşıyabileceğini göstermektedir.

ANAHTAR KELİMELER: Oksidatif stres, lipid peroksidasyonu, paraoksonaz, malondialdehit, prostat kanseri

ABSTRACT

OXIDANT-ANTIOKSIDANT STATUS IN PATIENT WITH PROSTATE CANCER AND INVESTIGATION OF THE EFFECT OF THE PARAOXONASE IN THIS SITUATION

Prostate cancer is the leading cause of cancer-related deaths. Oxidative DNA damage may contribute to the prostate cancer. The paraoxonase (PON1) is an endogenous antioxidant in the human body. The aim of our study was to determine whether lipide parameters, total oxidant capacity (TOC), total antioxidant capacity (TAC), oxidative stres index (OSI), serum paraoxonase (PON1) and arylesterase (ARE) levels and phenotypes distribution alter new diagnosis in patients with prostate cancer and to compare the values with those of healthy controls.

The study was performed prospective which consist of the prostate cancer group (PC) and healthy control group. Serum PON1, ARE activities, and other parameters were measured in 40 subjects in both groups. The PON1 phenotypes are defined according to the ratio of serum PON1/ARE activity. In statistical evaluation of data were performed Student t test and Pearson's correlation analysis. TKOL and LDL-K levels was found to be lower in the patients with compared to controls ($p=0,044$; $p=0,026$). OSI levels in patients higher than the controls ($p=0,029$). PON1 and ARE activities were found the lower in patients with compared to the controls ($p=0,040$; $p=0,027$). PON1 enzyme activity was determined as three different phenotypes in both groups. In PC group, significant deviation of PON1 phenotype frequencies from *Hardy–Weinberg* equilibrium was found.

The results of our study suggest that oxidative stress, through lipid peroxidation may play an important role for the development of prostate cancer and that PON1, and PON1 phenotyping may be predictive for prostate cancer.

KEYWORDS: Oxidative stres, lipide peroxidation, paraoxonase, malondialdehyde, prostate cancer.

İÇİNDEKİLER

Sayfalar

Önsöz.....	i
Özet.....	ii
İngilizce Özet (Abstract).....	iii
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini.....	iv
1. Giriş ve Amaç.....	1
2. Genel Bilgiler.....	3
2.1. Serbest Radikaller.....	3
2.1.1. Reaktif oksijen türleri.....	3
2.1.2. Reaktif nitrojen türleri.....	6
2.2. Antioksidan Savunma Sistemleri.....	6
2.2.1. Enzimatik antioksidanlar.....	8
2.2.2. Enzimatik olmayan antioksidanlar.....	10
2.3. Oksidatif Stres.....	12
2.4. Serbest Radikallerin Biyomoleküller Üzerindeki Etkileri.....	12
2.4.1. Proteinler üzerindeki etkileri.....	13
2.4.2. Karbonhidratlar üzerindeki etkileri.....	13
2.4.3. Lipidler üzerindeki etkileri (lipid peroksidasyonu).....	13
2.4.4. Nükleik asitler üzerindeki etkileri.....	14
2.5. Oksidatif Stres ve Kanser.....	15
2.6. Paraoksonaz ve Klinik Önemi.....	18
2.6.1. Paraoksonaz gen ailesi ve paraoksonaz proteininin yapısı... 19	
2.6.2. Paraoksonazın fonksiyonları.....	21
2.6.3. Paraoksonazın sentez ve sekresyonu.....	23
2.6.4. PON1 Polimorfizmleri.....	23
2.7. Prostat Kanseri, Etyolojisi ve Risk Faktörleri.....	24
2.7.1. Prostat kanseri tanımı.....	24
2.7.2. Etyolojisi ve risk faktörleri.....	26
3. Gereç ve Yöntem.....	30
3.1. Çalışma Grupları.....	30
3.1.1. Denek seçimi.....	30
3.2. Kan Numunelerinin Alınması ve Saklanması.....	31
3.3. Kullanılan Araçlar.....	31
3.4. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	31
3.5. Biyokimyasal Analizler.....	32
3.5.1. Serum TK, HDL-K ve LDL-K ölçümü.....	32
3.5.2. Serum paraoksonaz (PON1) aktivite ölçümü.....	33
3.5.3. Serum arilesteraz aktivitesi ölçümü.....	34
3.5.4. Serum Total Oksidan Kapasite (TOK) ölçümü.....	34
3.5.5. Serum Total Antioksidan Kapasite (TAK) ölçümü.....	35
3.5.6. Serumda MDA ölçümü.....	36
3.5.7. Oksidatif stres indeksi (OSİ) düzeylerinin belirlenmesi.....	37
3.5.8. PON1 fenotiplemesi.....	37
3.5.9. İstatistiksel yöntem.....	38
4. Bulgular.....	39
4.1. Yaş ve Vücut Kitle İndeksi.....	39

4.2. Serum TKOL, HDL-K, LDL-K Düzeyleri.....	39
4.3. Serum TOK, TAK ve OSİ Düzeyleri.....	40
4.4. Serum PON ve ARE Düzeyleri.....	42
4.5. Serum MDA Düzeyleri.....	43
4.6. Kontrol Grubunda Ölçümler Arası Korelasyonlar.....	43
4.7. Hasta Grubunda Ölçümler Arası Korelasyonlar.....	44
4.8. PON ve ARES ile Diğer Değişkenler Arasında Çoklu Lineer Regresyon Modeli.....	45
4.9. PON1 Fenotiplemeesi.....	45
5. Tartışma.....	48
6. Sonuçlar.....	58
7. Kaynaklar.....	59
8. Ekler.....	79

SİMGELER VE KISALTMALAR

ARE	: Arilesteraz
CAT	: Katalaz
GR	: Glutasyon redüktaz
GSH	: Glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
GST	: Glutasyon-S-transferaz
LCAT	: Lesitin-kolesterol açıl transferaz
MDA	: Malondialdehit
OH^{\bullet}	: Hidroksil radikali
OSİ	: Oksidatif stres indeksi
$\text{O}_2^{\bullet -}$: Süperoksit radikali
PAF-AH	: HDL ilişkili trombosit aktive edici faktör asetil hidrolaz)
PON	: Paraoksonaz
ROT	: Reaktif oksijen türleri
SOD	: Süperoksit dismutaz
SOR	: Serbest oksijen radikalleri
TAK	: Total antioksidan kapasite
TBA	: Tiyobarbitürik asit
TOK	: Total oksidan kapasite

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Son yıllarda yapılan çalışmalar, artmış serbest oksijen radikallerinin ve lipid peroksidasyonun birçok hastalığın patogeneğinde rol aldığını göstermektedir (1, 2). Serbest radikaller hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidratlar gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederek yapılarının bozulmasına neden olurlar. Biyolojik sistemlerdeki serbest oksijen radikalleri (SOR) ve diğer serbest radikaller oksidatif stresin en önemli nedenlerinden birini oluştururlar (3). Serbest radikallerin ve oksidatif stresin artması mutasyon ve onkojenik dönüşüm hızını artırıp DNA hasarlanması yaparak tümör gelişimine de neden olabilir (4). Ayrıca hücre proliferasyonu, hücresel remodeling, apoptozis ve yaşlanma gibi hücre fonksiyonlarına da etki ederek kanser ve metastaz gelişimine yol açabilirler (5).

Kanser, vücudun herhangi bir yerindeki bir hücre grubunun kontrolsüz olarak normal hücrelerden daha hızlı çoğalması, bu hücrelerin farklılaşmasının bozulması, çevre dokulara infiltrasyonu ve oluşan kanser hücrelerinin dolaşıma geçerek vücudun farklı bölgelerine metastazı ile karakterize ve bütün dünyada önemi gittikçe artan bir hastalıktır (6,7). Kanserlerin gelişim nedenleri incelendiğinde %5-10 kadarlık kısmı genetik faktörlerle açıklanabilirken %90-95 gibi bir kısım diyet, radyasyon çeşitli kimyasal maddeler ve çevresel faktörlerle genetik faktörlerin birlikteliği sonucu ortaya çıkmaktadır (8).

Kanserin hem başlangıcı hem de gelişiminde rol oynayabilen muhtemel sebeplerinden birisi, DNA ve diğer hücresel moleküllerin SOR tarafından hasarlanmasıdır. Sağlıklı bir organizmada normal metabolizma sırasında da bu radikaller oluşmaktadır. Ancak inflamasyon, sigara içilmesi, bazı ilaçların (bleomisin, asetaminofen v.s.) kullanılması, nitrojen oksit içeren ekzojen kaynaklara ve radyasyona maruz kalınması gibi durumlarda SOR'nin üretimi artmaktadır. Sonuçta lipid ve proteinlerde oksitlenmeler, kanser riskinde artmaya neden olan sinyal transdüksiyon yolunda değişiklikler ve kanserle sonuçlanan mutasyonlar meydana gelebilir (9). Tümör gelişimine yol açan doku hasarında SOR'nin artması yanında antioksidan aktivitenin azalması da önemli rol oynamaktadır. Endojen ve ekzojen antioksidanlar, kansere neden olan SOR'ni nötralize ederek veya etkisini engelleyerek kanser gelişimini önleyebilmektedirler (10).

Paraoksonaz (PON), yüksek dansiteli lipoproteine (HDL) bağlı karaciğerde ve serumda bulunan lipofilik bir antioksidandır (11). PON'un bu antioksidan rolü düşük dansiteli lipoproteini (LDL) oksidasyondan koruyucu etkisinden dolayıdır (12).

Prostat kanseri, özellikle sanayileşmiş ülkelerde yaygın olarak görülen ve dünya çapında insidans oranlarının yüksek olduğu bir sağlık sorunudur (13). Günümüz toplumlarında sanayileşmenin artması ve yaşam sürelerinin uzaması nedeniyle prostat kanserinin giderek daha önemli bir sağlık sorunu olacağı öngörülmektedir. Bu nedenle prostat kanserinin özellikle erken tanısında yardımcı olabilecek ileri testlere ve prognostik belirteçlere ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu çalışmada, prostat kanseri etyolojisinde oksidan ve antioksidan durumdaki değişimlerin etkili olabileceği düşünülerek prostat kanserli hastalarda oksidan ve antioksidan seviyelerinin ölçülmesi, paraoksonazın bu duruma etkisinin araştırılması ve paraoksonaz aktivisini etkileyen PON1 192Q/R polimorfizmi için fenotipleme yapılarak bu işlemin prostat kanseri tanısı için prediktif değeri olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2. 1. Serbest Radikaller

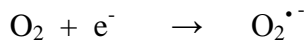
Serbest radikaller, son yörüngelerinde bir veya birden çok ortaklanmamış elektron taşıyan kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve reaktif atom veya moleküller olarak tanımlanır. SOR veya reaktif oksijen türleri (ROT) olarak da adlandırılmaktadır (14). Serbest radikaller, dış yörüngedeki elektronun ortaklanmasını sağlamak için diğer moleküllerle reaksiyona girebilecek şekilde reaktif ve kararsız bir yapı gösterirler (15). SOR, tüm hücreler tarafından endojen ve ekzojen kaynaklı etmenlere bağlı olarak aerobik metabolizma tarafından normal veya patolojik süreçlerle sürekli olarak üretilmektedirler. Aerobik metabolizması olan memelilerde radikaller genellikle oksijenden üretilmekle birlikte organizmada oksijen türevi SOR'lerin dışında karbon ve kükürt merkezli radikaller de oluşmaktadır (16). Psikolojik stres ve yetersiz beslenme (düşük antioksidan ve fazla yağ alımı) gibi çevresel faktörler de SOR üretimini artırmaktadır. Kimyasal maddelere maruz kalma, karbon tetraklorür, parasetamol gibi ilaç toksisiteleri, iyonize ve ultraviyole radyasyon, hava kirliliği yapan fitokimyasal maddeler, sigara dumanı gibi çevresel faktörler, nitrofurantoin, bleomisin, doksorubisin ve adriamisin gibi antineoplastik ajanlar SOR oluşumuna neden olan ekzojen kaynaklı etmenlerdir (17).

Biyolojik sistemlerde serbest radikaller en fazla elektron transferi sonucu meydana gelir ve serbest radikallerin çoğu oksijenin indirgenmesi ile oluşur. Serbest radikaller pozitif yüklü, negatif yüklü veya elektriksel olarak nötral, organik veya inorganik moleküller şeklinde olabilirler. Cu^{+2} , Fe^{+3} , Mn^{+2} ve Mo^{+3} gibi bazı geçiş metalleri de serbest radikal oluşumunda önemli rol oynarlar (18).

2.1.1. Reaktif oksijen türleri

Süperoksit Radikali ($\text{O}_2^{\bullet-}$)

Tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu, süperoksit radikal anyonu meydana gelir.

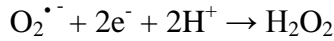
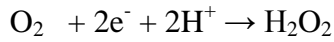


Genellikle hücre mitokondrisinde, elektron transport sisteminde nikotinamid adenin dinükleotid (NADH)'in okside nikotinamid adenin dinükleotid (NAD⁺)'e yükseltgenmesi ile üretilir. Pek çok oksidaz tarafından da üretilmektedir (19).

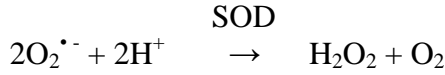
Süperoksit; nötrofillerin antibakteriyel aktivitesi, apopitozis, yangı ve vasküler fonksiyonların regülasyonu gibi yararlı etkilere sahiptir. Süperoksit molekülü kendi başına direkt olarak fazla zarar vermez ancak H₂O₂ kaynağı ve geçiş metal iyonlarının indirgeyicisi olması nedeni ile zararlı etkilere neden olabilmektedir (20).

Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

Moleküler oksijenin iki elektron alması veya süperoksitin bir elektron alması sonucu peroksit molekülü oluşur. Peroksit molekülü iki hidrojen atomu ile birleşerek hidrojen peroksiti meydana getirir.



Biyolojik sistemlerde asıl H₂O₂ üretimi süperoksitin dismutasyonu reaksiyonuyla gerçekleşir. Bu reaksiyon aerobik organizmalarda süperoksit dismutaz (SOD) tarafından katalize edilir (21).



H₂O₂ bir serbest radikal olmadığı halde serbest radikal biyokimyasında önemli rol oynar. Süperoksit ile reaksiyona girerek en reaktif ve zarar verici olan hidroksil radikalini oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir. Katalaz ve peroksidaz enzimleri bu olaylarda görev alırlar (22).

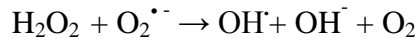
Süperoksit, üretildiği yerde kaldığı halde H₂O₂ üretildiği yerde kalmaz ve membranı geçerek sitozole girer. H₂O₂ çok kuvvetli bir oksitleyici molekül olup hücrede, katalaz (CAT), glutatyon (GSH) ve tiyoredoksin (Trx) aracılığı ile oksijen ve H₂O'ya dönüştürülür. H₂O₂ serbest Fe⁺² ile reaksiyona girerse demir okside olurken hidroksil radikali oluşarak hücre hasarına aracı olmaktadır (20).

Hidroksil Radikali (OH[•])

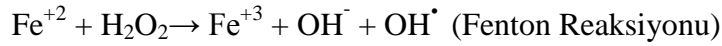
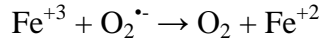
Biyolojik sistemlerde üretilen en güçlü reaktiviteye sahip serbest radikaldır. Aminoasitler, nükleik asitler, organik asitler, fosfolipidler ve şekerler gibi hemen hemen bütün moleküller ile reaksiyona girebilmektedir (23).

Fenton ve Haber Weiss reaksiyonları OH[•] radikalini oluşturan reaksiyonlardandır (24).

H₂O₂ yüksüz bir molekül olduğundan hücre içine kolaylıkla girebilir ve serbest radikallerden en reaktif ve en hasar verici etkili olan OH[•] radikalini oluşturmak için kolaylıkla parçalanabilir (Haber-Weiss reaksiyonu).



Haber-Weiss Reaksiyonunda demir, bakır gibi bazı metal iyonları da rol oynayabilir. Bu reaksiyon için önce Fe⁺³ iyonu süperoksit radikali aracılığıyla Fe⁺² iyonuna indirgenir. Fe⁺² iyonu ise H₂O₂ ile reaksiyona girerek OH[•] radikalini meydana getirir (Fenton Reaksiyonu).

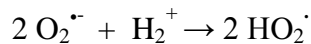


Singlet Oksijen (¹O₂)

Yapısında ortaklanmamış elektron bulunmadığı için gerçek serbest radikal değildir. Serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına neden olması nedeniyle önem kazanmaktadır. Yörüngesindeki elektronlardan birisinin dışarıdan enerji alması sonucunda bulunduğu yörüngenin tersine olacak şekilde yer değiştirmesi ile veya süperoksit radikalinin dismutasyonu ve H₂O₂'nin hipoklorit ile reaksiyonu sonucunda meydana gelebilir (25).

Perhidroksil Radikali (HO₂[•])

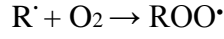
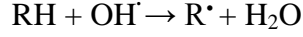
Süperoksit radikali düşük pH değerlerinde bir proton alarak perhidroksil radikalini oluşturur. Ancak bu radikalın oluşma olasılığı fizyolojik pH değerinde %1'den azdır. Oluşan perhidroksil radikali yağ asidi, aminoasit ve α-tokoferolle reaksiyona girer (15).



Peroksil Radikali (ROO[•])

Hidroksil radikali ile yağ asitleri, nükleik asitler, karbohidratlar ve proteinler gibi çeşitli moleküllerden bir proton çıkmasıyla karbon merkezli

radikaller (alkil radikali: R[•]) oluşur. Oluşan bu radikaller hızlı bir şekilde oksijen ile reaksiyona girerek peroksil radikalini (ROO[•]) meydana getirirler. ROO, lipid peroksidasyonunda zincir devam ettirici radikaldir (26).



2.1.2. Reaktif nitrojen türleri

Nitrik Oksit (NO[•]) ve diğer nitrojen oksitleri

Sitozolik bir enzim olan nitrik oksit sentaz (NOS) tarafından oluşturulur. Guanilat siklazı aktive ederek damar tonusunda önemli değişikliklere neden olur (27). Nitrik oksit radikali (NO[•]) ve diğer nitrojen oksitleri (NO₂, NO, N₂O₃, N₂O₄ gibi) güçlü nitroze edici ajanlardır. Primer ve sekonder aminleri nitrozleyerek, nitrozaminleri oluştururlar. Nitrozamin bileşikleri potansiyel karsinojenik maddelerdir. Çünkü bu bileşikler DNA'da nitrozilasyon, deaminasyon yapabilir ve alkil nükleofillerin oluşumuna neden olabilirler. Bu şekilde oluşan mutasyonlar onkojenleri aktifleyerek malign transformasyonlara neden olabilirler (28). Yine NO[•]'in lipidler üzerine olan etkisiyle lipid peroksidasyonu başlatılır ve çeşitli peroksitler üretilebilir (29).

2.2. Antioksidan Savunma Sistemleri

Organizmada SOR oluşurken eşzamanlı olarak serbest radikallerin zararlı etkilerini önlemek için antioksidan savunma mekanizmaları gelişmektedir. Antioksidanlar, okside olabilen substratların oksidasyonunu önleyen veya oksidasyon derecesini azaltan moleküllerdir. Bu sayede antioksidanlar antikarsinojen olarak etki göstererek, hücreleri oksidatif hasardan korurlar ve karsinojenezisin her üç safhasına da baskılayıcı etki yapabilirler (30). Antioksidanların normal hücreleri uzun ve kısa dönemde serbest radikallere bağlı hasarlanmadan koruduğu gibi, tümör hücrelerini de kanser tedavisi sonucu oluşan hasarlanmaya karşı aynı oranda koruduğu ileri sürülmektedir (31).

Antioksidanlar, doğal (endojen kaynaklı) ve ekzojen kaynaklı olmak üzere başlıca iki ana gruba ayrılabilirdiği gibi serbest radikallerin meydana gelişini önleyenler ve mevcut olanları etkisiz hale getirenler şeklinde de sınıflandırılırlar.

Antioksidanlar, oksidan maddelerin etkilerini dört mekanizma ile ortadan kaldırırlar (32):

1. Scavenging (temizleme) etkisi: Oksidanları zayıf bir moleküle çevirme şeklinde olan bu etki antioksidan enzimler tarafından yapılır.

2. Quencher (baskılama) etkisi: Oksidanlara bir hidrojen aktararak etkisiz hale getirme şeklinde olan bu etki vitaminler ve flavonoidler tarafından yapılır.

3. Onarma etkisi: Nükleik asitler gibi SOR ile yıkılmış biyomolekülleri onarırlar. DNA onarım enzimleri ve metiyonin sülfoksit redüktaz bu gruba dâhil edilir.

4. Zincir koparma etkisi: Oksidanları bağlayarak fonksiyonlarını engelleme şeklinde olan bu etki hemoglobin, seruloplazmin ve E vitamini tarafından yapılır.

Antioksidan maddeler endojen, ekzojen ve gıda kaynaklı antioksidanlar olarak 3 grupta toplanırlar (33).

I-Endojen Antioksidanlar

A-Enzim Yapıda Olanlar

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

B-Enzim Yapıda Olmayanlar

1. Lipid Fazda Bulunanlar

α -Tokoferol (E vitamini), β - Karoten

2. Sıvı Fazda (Sitozol veya kan plazmasında) bulunanlar

Askorbik asit, Ürat, Melatonin, Sistein, Seruloplazmin, Transferrin, Laktoferrin, Metionin, Myoglobin, Hemoglobin, Ferritin, Albumin, Bilirubin, Glutatyon, Selenyum

II-Ekzojen Antioksidanlar

1. Ksantin-oksidad İnhibitörleri: Allopurinol, Oksipurinol, Folik Asit

2. NADPH Oksidaz inhibitörleri: Adenozin, Lokal anestetikler
3. Rekombinant Süperoksid Dismutaz
4. Endojen Antioksidan Aktiviteyi Arttıranlar: Ebselen, Asetilsistein
5. Diğer Nonenzimatik Serbest Radikal Toplayıcıları: Mannitol, Albumin
6. Demir Redoks Döngüsünün inhibitörleri: Desferroksamin, Seruloplazmin
7. Sitokinler: Tümör Nekroz Faktör (TNF) ve IL-1
8. Demir Şelatörleri

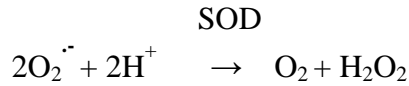
III-Gıda antioksidanları

1. Butile Hidroksitoluen
2. Butile Hidroksianizon
3. Sodyum Benzoat
4. Fe-Süperoksid Dismutaz

2.2.1. Enzimatik antioksidanlar

Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksitin hidrojen peroksite dismutasyonunu katalize eden metallo enzimdir.



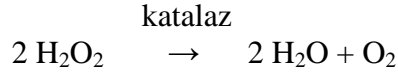
SOD tarafından oluşturulan H₂O₂ toksik bir ajandır. Ancak bu reaksiyon reaktif oksijen türlerinin detoksifikasyonunda ilk basamağı oluşturur.

Üç tip süperoksit dismutaz bulunmaktadır. Birincisi mitokondride lokalize Mn-SOD, ikicisi sitozolde lokalize CuZn-SOD ve üçüncüsü de Cu içeren ve plazmadaki süperoksit radikallerini metabolize eden vasküler endotele bağlı Cu-SOD'dır (34).

Katalaz

Peroksizomlarda lokalize, yapısında Fe⁺³ bulunduran her biri prostetik grup olan 4 hem grubundan oluşmuş bir hemoproteindir (35).

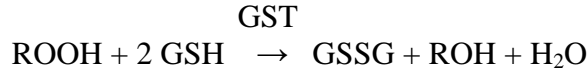
Katalaz, SOD'ın oluşturduğu H₂O₂'yi peroksidazlarla beraber oksijen ve suya parçalar.



Katalazın H_2O_2 'e karşı K_m 'i glutatyon peroksidaza göre daha yüksek olduğundan düşük konsantrasyonlarda H_2O_2 'i glutatyon peroksidaz parçalarken, yüksek konsantrasyonlarda ise katalaz devreye girer.

Glutatyon S-transferaz (GST)

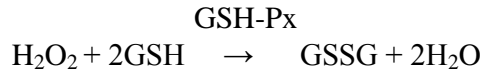
GST, glutatyon ile toksik metabolitlerin konjugasyonunu katalizleyerek detoksifikasyonlarını sağlar (36).



GST'lar başta araşidonik asit ve lineloat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksitlerine karşı selenyum bağımsız glutatyon peroksidaz aktivitesi göstererek bir savunma mekanizması oluştururlar. Detoksifikasyon görevlerinin yanında hücre içi bağlayıcı ve taşıyıcı görevleri de vardır. Metabolize edilmeyen lipofilik veya hidrofilik pek çok bileşiği bağlayarak bu bileşikler için depo ve taşıma görevi üstlenirler. GST'lerin kanserojenler, mutajenler ve diğer zararlı kimyasalların detoksifikasyonunda rol oynadığını gösterilmiştir (37).

Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)

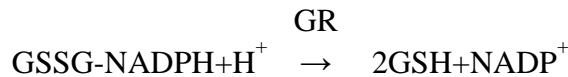
Her birinde Selenosistein bulunan 4 alt birimden oluşur. Glutatyon Peroksidaz eritrositlerdeki en güçlü antioksidandır ve E vitamini eksikliğinde eritrositleri membran hasarına karşı korur (38).



Reaksiyon sayesinde redükte glutatyon yükseltgenirken H_2O_2 suya çevrilir. Böylece membran lipidleri ve hemoglobin oksidan strese karşı korunur.

Glutatyon Redüktaz (GR)

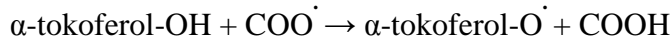
İki alt birimden oluşan dimer yapısında olan bu enzim her bir alt birimi NADPH bağlayan alan, FAD bağlayan alan ve ara yüz alan olmak üzere 3 tane yapısal alan içerir. GR, glutatyonun indirgenme reaksiyonunda rol oynar. Bu reaksiyon sırasında elektronlar sıklıkla NADPH'dan FAD'ye transfer edilir. Daha sonra alt birimlerdeki iki sistein arasında bulunan disülfid köprüsüne transfer edilerek okside glutatyonla aktarılır (38).



2.2.2. Enzimatik olmayan antioksidanlar

E Vitamini (Alfa-Tokoferol)

Yağda çözünen vitamin olduğu için hem sellüler hem de subsellüler membranlarda ve lipoproteinlerde bulunur. Zincir kırıcı bir antioksidan olan E vitamini, membranlarda oksijen radikallerinin ana temizleyicisidir. Kolayca membran fosfolipitlerine diffüze olur ve doymamış yağ asitlerini indirgeyerek serbest radikallerin membranlarda oluşturabileceği lipid peroksidasyonunu önlemektedir (39).



Oluşan tekoferoksil radikali membran yüzeyinde askorbik asit (C vitamini) ile reaksiyona girerek tekrar tokoferole dönüşebilir (40).

A Vitamini (Beta-Karoten)

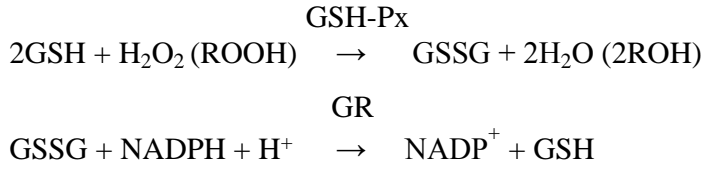
A vitamininin metabolik ön maddesi olan β -karoten, radikal yakalayıcı olarak görev yapan bir antioksidandır. *Singlet* oksijeni baskılayarak, süperoksit radikalini temizler ve düşük oksijen basıncında peroksi serbest radikallerinin dokulara hapsedilmesi yoluyla antioksidan etki gösterir. α -tokoferol ile karşılaştırıldığında oldukça zayıf bir antioksidandır ve α -tokoferol bittikten sonra kullanılır (41).

C Vitamini (Askorbik Asit)

Moleküler oksijen, nitrat, sitokrom a ve sitokrom c gibi bileşiklerin indirgenmesine neden olan ve sulu ortamlarda serbest radikallerle reaksiyona girebilme kabiliyetinde olan suda eriyen bir vitamindir. Plazmada oksidan ajanlara karşı ilk antioksidan defansı oluşturur. Birçok reaktif oksijen ve reaktif nitrojen türlerini toplayıcı etkiye sahiptir (42).

Glutasyon (GSH)

Glutamik asit, sistein ve glisinden oluşan tripeptittir. Antioksidan ve hücre içi indirgeyici ajandır. Glutasyon redüktazın katalizlediği reaksiyon sayesinde hücre içinde indirgenmiş formda bulunur. Kendisi de okside olarak endojen peroksitlerin redükte hale gelmelerini ve oksidasyona karşı korunmalarını sağlar. Bu işlevini yaparken glutasyon peroksidazı katalizör olarak kullanır (43).



Melatonin

Pineal bez tarafından üretilen indolamin bileşigidir. OH[·] radikallerini temizler ve GSH salınımını yüksek oranda artıran çok güçlü bir antioksidandır. Ayrıca SOD, GSH-Px ve GR enzimlerinin aktivitelerini de artırmaktadır (44). Etkili bir antikanseröz olduğuna inanılmaktadır (45).

Seruloplazmin

Plazmada major bakır içeren proteindir. Akut faz reaktanıdır ve yangısal olaylarda seviyesi artar. Ferro-oksidad aktivitesi ile Fe⁺²'yi Fe⁺³'e okside eder. Bu sayede Fenton reaksiyonunu ve serbest radikal oluşumunu inhibe eder. Demir ve bakır bağımlı lipid peroksidasyonunu önler (38).

Selenyum

Antioksidan savunma sistemlerinde önemli bir rolü olan GSH-Px'in aktivitesi için gerekli olan bir elementtir. Selenyumun SOD ile GR aktivitesini ve GSH miktarını arttırarak hücrelerin antioksidan kapasitesini geliştirdiği belirtilmektedir (46).

Ferritin, Transferrin ve Laktoferrin

Ferritin dokulardaki, transferrin dolaşımdaki, laktoferrin lökositlerdeki serbest demiri bağlar ve serbest radikal oluşumunu önler (38).

Haptoglobin ve Hemopeksin

Hemoglobin, dekompozisyona uğrayıp ortama demir vererek veya doğrudan peroksitlerle etkileşerek lipid peroksidasyonunu uyarabilir. Haptoglobulin hemoglobini, hemopeksin de hem grubunu bağlayarak demir bileşiklerinin lipid peroksidasyonunu uyarmasını engeller (47).

Flavonoidler

Çay, şarap ile birçok meyve ve sebzelerde bulunan flavonoidler polifenolik antioksidanlardır. 4000'den fazla çeşidi bulunan flavonoidler; flavonoller (quersetin, kaimferol), flavanoller (kateşinler), flavonlar (apigenin) ve izoflavonlara (genistein) ayrılmışlardır. Farklı mekanizmalarla lipid peroksidasyonunu önledikleri bilinmektedir ve koroner kalp hastalıkları gibi kronik

hastalıkların insidansını azalttıkları gözlenmiştir (47). Antiinflamatuvar ve antikanserojenik etkileri de bulunmaktadır. Kanserli hücrelerde apoptozis direncini düşürücü ve tümör büyümesini azaltıcı etkileri de saptanmıştır (48).

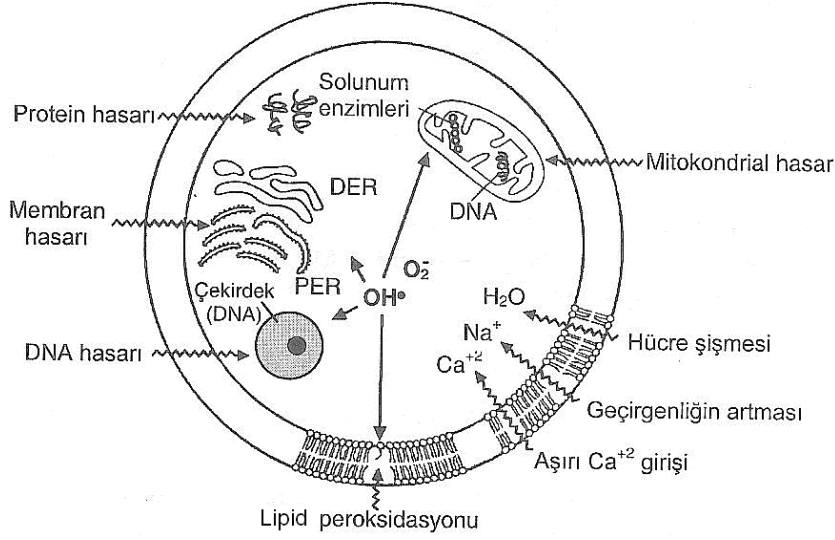
2.3. Oksidatif Stres

SOR üretimi ile antioksidan savunma sistemleri arasındaki dengenin SOR üretiminin artması yönünde bozulması ile meydana gelir (49). Normal hücre metabolizması sürecinde veya patolojik birtakım durumlara bağlı olarak aşırı SOR üretildiğinde ya da antioksidan savunmada belirgin bir azalma olduğunda oksidatif stres meydana gelir. Oksidatif stres birçok doku ve organda harabiyete neden olmasının yanında karsinogenezisin başlatılmasında kritik rol oynayan DNA hasarına, kromozomal sapmalara, tümör süpresör genlerde mutasyonlara, kontrol edilemeyen hücre bölünmelerine ve genomik istikrarsızlıklara neden olmaktadır. Bu durum tümör oluşumu ve büyümesine yol açmaktadır (50).

Organizmadaki oksidan-antioksidan denge birçok faktöre bağlıdır. Bunlar endojen ve ekzojen faktörler olmak üzere iki bölümde incelenebilir. Endojen faktörler, sedanter yaşam, yaşlılık, doku hasarı ve kronik hastalıklar gibi durumlardan oluşurken ekzojen faktörler ise diyetsetel (doymamış yağ asitleriyle beslenme, fazla kalorili beslenme, alkol alımı gibi), çevresel (sigara dumanı, hava kirliliği, radyasyon, diğer kirleticiler), ve ilaçlardan (antikanser ilaçlar, asetaminofen gibi glutatyon tüketen ilaçlar gibi) oluşmaktadır. Bu faktörler genellikle birlikte etkilidir (51).

2.4. Serbest Radikallerin Biyomoleküller Üzerindeki Etkileri

SOR hücrelerin lipid, protein, karbonhidrat, DNA, enzim gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler. Hücre duvarı hasarı, DNA hasarı, kollojen yıkımı, lipidlerin depolimerizasyonu ve lipid peroksidasyonuna neden oldukları bilinmektedir (52). Sonuçta membran bütünlüğü kaybolur, trans-membran iyonik gradientleri olumsuz etkilenir ve kalıcı hasar meydana gelir (Şekil 1).



Şekil 1. Serbest radikallerin yol açtığı hücre hasarı (53)

DER: Degranüle endoplazmik retikulum, PER: Peroksizom.

2.4.1. Proteinler üzerindeki etkileri

Doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikaller ile reaksiyona girme potansiyelleri çok yüksek olduğundan fenilalanin, tirozin, triptofan, histidin, metionin, arjinin, lizin, prolin gibi aminoasitlere sahip proteinler serbest radikal hasarına karşı daha duyarlıdırlar. Serbest radikallerin proteinler üzerinde meydana getirdiği hasar sonucu sülfür radikalleri ve karbon merkezli radikaller meydana gelir. Sonuçta enzim aktivitesinde azalma, protein fonksiyonlarının ve proteaz inhibitör aktivitenin kaybı, protein agregasyonu, proteolize artmış ya da azalmış yatkınlık, reseptör aracılı endositozun bozulması, gen transkripsiyonunda değişimler, immunojen aktivitede artış meydana gelir (54).

2.4.2. Karbonhidratlar üzerindeki etkileri

Serbest radikallerin etkisiyle monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, çeşitli peroksitler ve oksoaldehitler oluşmaktadır. Süperoksit ve hidrojen peroksitin invitro olarak hyaluronik asidi parçaladıkları gösterilmiştir (55).

2.4.3. Lipidler üzerindeki etkileri (Lipid peroksidasyonu)

Serbest radikallerin etkilerine karşı en duyarlı olan ve en çok maruz kalan moleküller lipidlerdir. Serbest radikallerin lipidler üzerine en önemli etkisi uzun zincirli doymamış yağ asitlerinin oksidasyonudur. Çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı “lipid peroksidasyonu” olarak bilinir (56). SOR, lipid peroksidasyonunu indükleyerek fonksiyonel ve yapısal hücre hasarına neden olur. Lipid peroksidasyonu hücre membranlarının bütünlüğünü tehlikeye sokar ve hücre membranının akışkanlığını artırır (Şekil 1). Membrana bağlı reseptör ve enzimleri inaktive olmasına neden olur (57).

Lipid peroksidasyonu, lipid moleküllerindeki iki ansatüre bağ arasında yerleşmiş metilen grubundan bir hidrojen atomunun çıkması ile başlatılan karmaşık bir fenomendir. Sonuçta yeni bir karbon merkezli lipid serbest radikali oluşur. Oksijen varlığında bu yeni lipid serbest radikalinden lipid peroksitleri veya hidroperoksitleri meydana gelir. Bu ürünler nispeten daha stabil bir son ürün olan ve lipid peroksidasyonunun belirteci olarak kullanılabilen malondialdehite (MDA) dönüşür (58). Membran komponentlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmalarına neden olan MDA; deformabilite, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzeyindeki determinantların agregasyonu gibi etkileriyle iç membranın bazı özelliklerini değiştirmektedir. Ayrıca, nükleusa diffüze olabildiğinden DNA'nın nitrojen bazlarıyla da reaksiyona girmektedir. MDA, bu özelliklerinden dolayı mutajenik, genotoksik ve karsinojenik bir bileşiktir (59).

2.4.4. Nükleik asitler üzerindeki etkileri

Serbest radikallerin en önemli etkilerinden birisi de DNA hasarına yol açmalarıdır (60). Serbest radikaller DNA'nın nükleik asitleri ile reaksiyona girerek DNA dizinlerinde çatlaklar meydana getirmekte ve bu hücrelerin kanser hücrelerine dönüşmesine yol açmaktadırlar (61). Nükleik asitlerde baz modifikasyonları, tek veya çift dal kırıkları, çapraz bağlanmalar yaparak mutasyonlara neden olabilirler (62). Serbest radikallerin meydana getirdiği endojen DNA hasarı, DNA bazları veya deoksiriboz kalıntıları üzerinde olmakta ve sonuçta DNA zincirlerinde kırılmalar ve bazlarda hasar meydana gelmektedir. Örneğin *singlet* oksijen guanini kolayca oksitleyebilmektedir.

Okside DNA bazlarının oluşumu için OH[·] radikalinin önemi büyüktür. OH[·] radikali pürin, pirimidin bazlarına ve deoksiriboz iskeletine hasar verir. Peroksinitrit ve NO[·], DNA hasarı yapabilirler. Peroksinitrit, guanin bazı ile reaksiyona girerek 8-nitroguanin oluşturur ve sonuçta G:C ile T:A yer değiştirmesine neden olabilir. DNA'daki bu lezyonun stabilitesi kısa sürelidir ancak RNA'da uzundur. Buna rağmen 8-nitroguanin ile karsinogenez süreci arasındaki bağlantı tam olarak bilinmemektedir.

Reaktif klorin türleri de DNA'da değişikliklere yol açabilmektedir (63). Diğer önemli oksidan peroksinitrittir. Nitrik oksit ve süperoksitin bağlanması sonucu oluşan bu oksidan oldukça güçlü olup hücrelerin içine doğru yayılma kapasitesine sahiptir. DNA'yı okside edebilme yeteneği oksidasyon ve mutasyon arasındaki ilişkiyle açıklanmaktadır (64).

Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan ara ürünler de DNA ile reaksiyona girebilmekte ve meydana gelen endojen DNA lezyonları genotoksik etki göstermektedir (65).

2.5. Oksidatif Stres ve Kanser

Kanser gelişimi karmaşık ve çoklu adımlardan meydana gelen bir süreçtir. Reaktif türlerin ana hedefinin DNA olması nedeniyle bunlar yaşlanma ve kanserle ilişkilidir. Oksidatif stres tarafından kanser oluşumu için iki mekanizma ileri sürülmektedir. Birincisi genomik DNA üzerinde direkt hasar meydana getirerek mutajenik değişikliklere yol açmaları ve hücrelerde neoplastik dönüşümün artmasına neden olmalarıdır. İkinci mekanizma ise hücre çoğalması ve hücre ölümü arasındaki dengeyi hücre çoğalması lehine bozmalarıdır. Oksidatif stres gibi karsinogen etkenlerin en önemli etkileri gen ifadesi ve hücre büyüme parametreleri üzerindeki değişiklikler olmaktadır (66).

Hücre proliferasyonu; reaktif türlerin tipi ve düzeyi, maruz kalınma süresi, bunları ortadan kaldıracak antioksidanların düzeyi ve oksidatif hasarı düzeltecek olan tamir mekanizmasının aktivitesine bağlı olarak etkilenir. Bunun sonucunda hücre proliferasyonunda artış, hücre döngüsünde durma, yaşlılık, apoptozis ve nekroz görülebilir. Reaktif türler başlangıç ve ilerleme aşamalarında kanser

oluşumuna katılır ve bunların etkisiyle hücre döngüsü, gen ifadesi, doğrudan veya dolaylı DNA hasarı, apoptozis ve diğer hücre ölümü tipleri görülür (67).

İmmün sistem, tümör büyümesine karşı major savunma mekanizmasıdır. Sitotoksik doğal katil (DK) hücreleri tümör başlangıcı ve metastazlara karşı immün savunmada ana komponenttir. Aşırı oksidatif stres DK hücre sitotoksitesinde azalmaya neden olarak immünitede belirgin değişiklikler meydana getirir (68).

Çok basamaklı karsinogenezin basitçe başlama, gelişme ve ilerleme olmak üzere üç evresi bulunur. SOR'nin kanser gelişiminin her üç basamağında da önemli rol oynadığı gösterilmiştir (69). Karsinogenezin ilk basamağı olan başlama evresinde hücre genotipinde kalıcı değişiklikler meydana gelmektedir. Başlama evresi için kısa süreli tek bir karsinojenin etkisi yeterlidir (70). Başlatıcı ve/veya tümör promotörü olarak etki gösteren SOR; DNA hasarı, prokarsinojenleri aktive etme etkileri yanında ve hücresel antioksidan savunma sisteminde değişiklikler de yapabilmektedir (71). SOR, aynı zamanda polisiklik aromatik hidrokarbonlar gibi prokarsinojenleri de aktive etmektedir (72).

Tümör baskılayıcı gen ürünü olan p53 proteini hücre bölünmesini durduran transkripsiyon faktörüdür. Normal seviyedeki p53; MnSOD, GSH-Px gibi antioksidan enzimlerin miktarını artıran genlerin transkripsiyonunu artırarak antioksidan savunmada rol oynar. SOR, p53 aktivitesini artırarak zarar görmüş hücrelerin apoptozunda da rol oynar (73). Oksidatif strese maruz kalan hücrelerde mutagenizde artmayla beraber p53 tümör süpresör geninde mutasyon tespit edilmiştir (74). p53 gen fonksiyonunda meydana gelen bir bozukluk kontrol edilemeyen hücre bölünmelerine neden olmaktadır. Bu durumda DNA hasarlarının ileri kuşaklara aktarılması mümkün olabilmektedir (75).

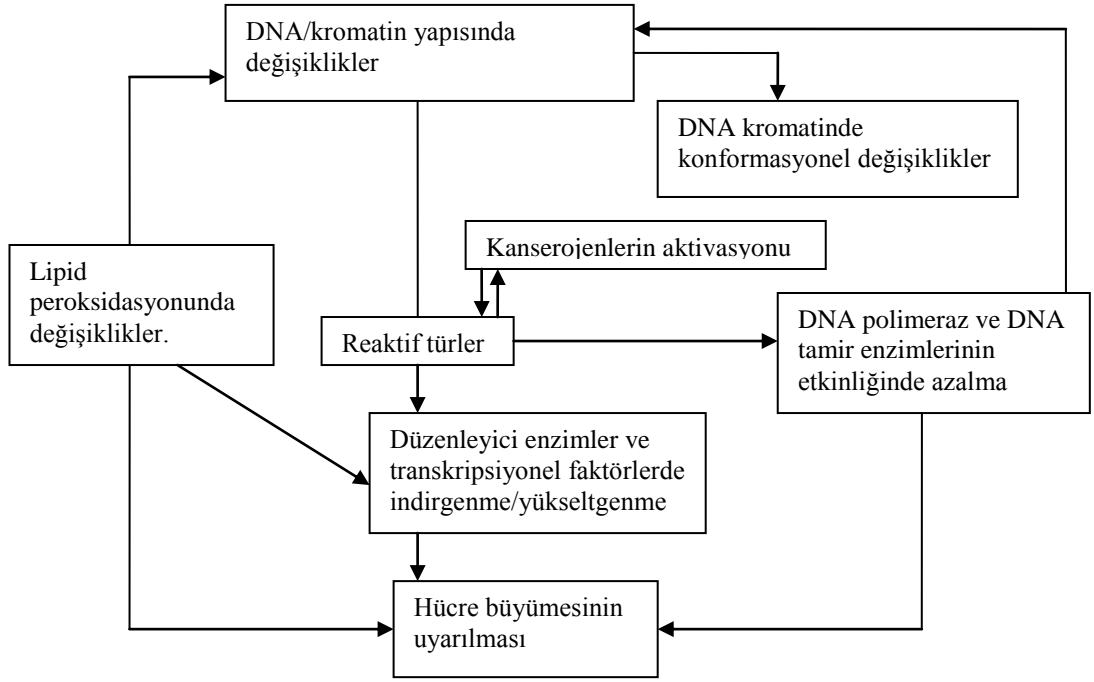
Kanser gelişimi tek hücrede meydana gelen olayların birikimi ile meydana gelir ve çok aşamalı bir süreçtir. Başlangıç, yükselme ve ilerleme olmak üzere üç aşamadan oluşur. SOR karsinogenezin bütün basamaklarında etkindir. Başlangıç evresinde ölümcül olmayan DNA mutasyonları vardır. Yükselme evresinde hücre çoğalması uyarılır ve/veya hücre büyümesi inhibe olur. Düşük düzeydeki oksidatif stres yükselme evresinde hücre bölünmesini uyarır ve böylece tümör büyümesini destekler. Yüksek derecede oksidatif stres ise sitotoksiktir ve apoptoz ve nekroz

süreçlerinin başlamasını da engeller. İlerleme evresinde preneoplastik durumdan neoplazi durumuna geçiş söz konusudur ve bu evre geri dönüşümsüzdür (76).

Reaktif oksijen türleriyle birlikte reaktif nitrojen türlerinin artması ve birbirleriyle reaksiyonları sonucu ONOO⁻ gibi daha reaktif türler oluşur ve bunlar mitokondriyal DNA, RNA, lipid ve proteinlerde nitrasyon, oksidasyon ve halojenasyon reaksiyonları aracılığıyla mutasyon oluşumunda artışa yol açarlar. Bununla birlikte reaktif oksijen ve nitrojen türleri direkt olarak DNA'da modifikasyonlara neden olmaktadır. Bu radikaller lipid peroksidasyonu oluşturarak dolaylı olarak DNA'ya saldırıda bulunurlar. Reaktif türler kromatin proteinleri, DNA tamir enzimleri ve DNA polimerazlar gibi proteinlerin hasarına neden olarak replikasyon hatası görülme oranını arttırabilirler (77) (Şekil 2). Ayrıca SOR oluşumunun kanser hücrelerinin anjiogenezi ve motiltesini de arttırabileceği bildirilmiştir (78).

Kanserin gelişme evresinde, başlama evresinde hücrelerde başlayan genotipik değişiklikler devam eder. Tümör promotörleri genetik değişikliklere neden olarak hücre proliferasyonuna neden olurlar (79). Serbest oksijen radikalleri aracılığıyla tümör promotörleri hücre proliferasyona ve hücre değişikliklerin meydana gelmesine aracılık ederler. Örneğin peroksizomlarda proliferen olan potent bir tümör promotörü olan *12-0-tetradecanoilforbol-13 asetat*, antioksidan enzim sistemini inhibe ederek hidroperoksit oluşunu artırır. Bu durumun karsinogenezde önemli rol oynadığı ileri sürülmektedir (80).

Kanser oluşumunun son evresi olan ilerleme evresinde hücreler diğer evreleri takiben klonal olarak büyür ve bu süreç malignite ile sonuçlanır (81). SOR, DNA'da zincir kırıkları ve kromozomal anomalilere neden olarak progresyonda hızlanmaya da neden olabilir (82).



Şekil 2. Reaktif türlerin kanser gelişimini kolaylaştırmasına neden olan bazı yollar (77)

2.6. Paraoksonaz ve Klinik Önemi

Paraoksonaz enzimi (PON) karaciğerde sentezlenen kalsiyum bağımlı bir ester hidrolazdır (83). Arildialkil fosfataz, kalsiyum bağımlı organofosfataz isimleri de eş anlamlı olarak kullanılmaktadır. Karaciğer, böbrek, ince bağırsak başta olmak üzere birçok dokunun endotelial tabakasında ve serumda bulunur (84).

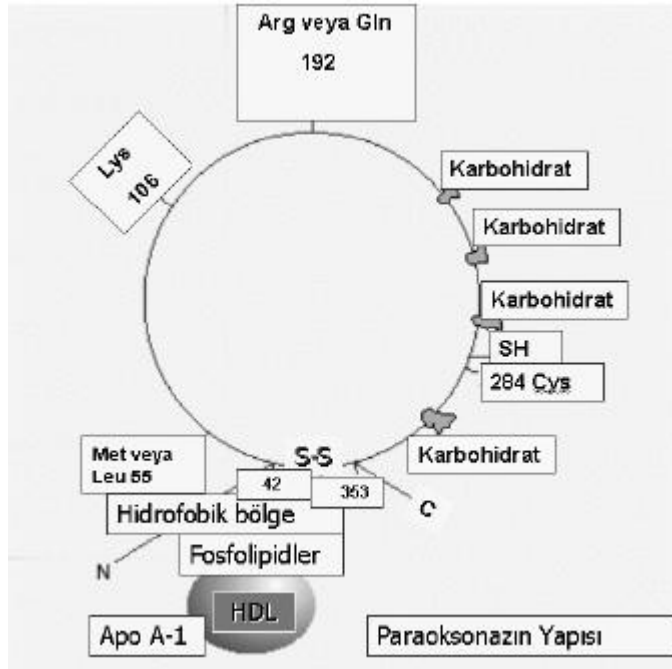
Paraoksonaz, organik fosforlu bir insektisit olan parationun aktif metaboliti olan paraoksonu hidroliz edebilme özelliğinden dolayı bu adı almıştır. Paration dışında organik fosforlu insektisitlerle aynı gruptan olan sarin, tabun gibi sinir gazlarının, çeşitli karbamatların, birçok aromatik karboksilik asit esterlerinin hidrolizinde de katalizör görevi yapar (85).

Paraoksonaz enzimi insan serumunda ilk olarak 1961 yılında tespit edilmiştir (86). Daha sonra yapılan çalışmalarda enzimin lipidlerle ilişkili olduğu saptanmış ve insan serumunun ultrasantrifüjlenmesiyle enzimin HDL yapısında taşındığı ortaya konulmuştur (87). Yapılan immunoafinite kromatografi çalışmalarıyla da insan serum PON1'inin apo A1 ve apo J içeren HDL'in tipleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (88).

2.6.1. Paraoksonaz gen ailesi ve paraoksonaz proteininin yapısı

İnsitu hibridizasyon çalışmalarında insanlarda paraoksonaz geninin 7. kromozomun uzun kolunda q21–q22 lokusunda lokalize olduğu gösterilmiştir (89). Paraoksonaz gen ailesinin PON1, PON2 ve PON3 olmak üzere üç üyesi vardır. Birbirine bitişik olarak konumlanan bu üç gen, bir prekürsörden gen duplikasyonu sonucunda oluşmuştur ve aminoasit dizilişleri birbirleriyle yaklaşık %53 homoloji göstermektedir (90).

İnsan serum paraoksonazı (PON1), 43 kDA molekül ağırlığına sahip 354 aminoasitlik bir glikozile proteindir (Şekil 3). Her bir molekül 3 şeker bağı içerir ve molekülün toplam ağırlığının yaklaşık %15,8'ini karbonhidratlar oluşturmaktadır. Proteinin izoelektrik noktası 5,1'dir. Protein yapısında 3 sistein rezidüsü bulunur ve bu sistein rezidüleri paraoksonaz aktivitesi için gerekli bileşenlerdir. Protein, aminoasit dizilişinde yüksek lösin içeriği dışında bir özellik taşımaz (91).

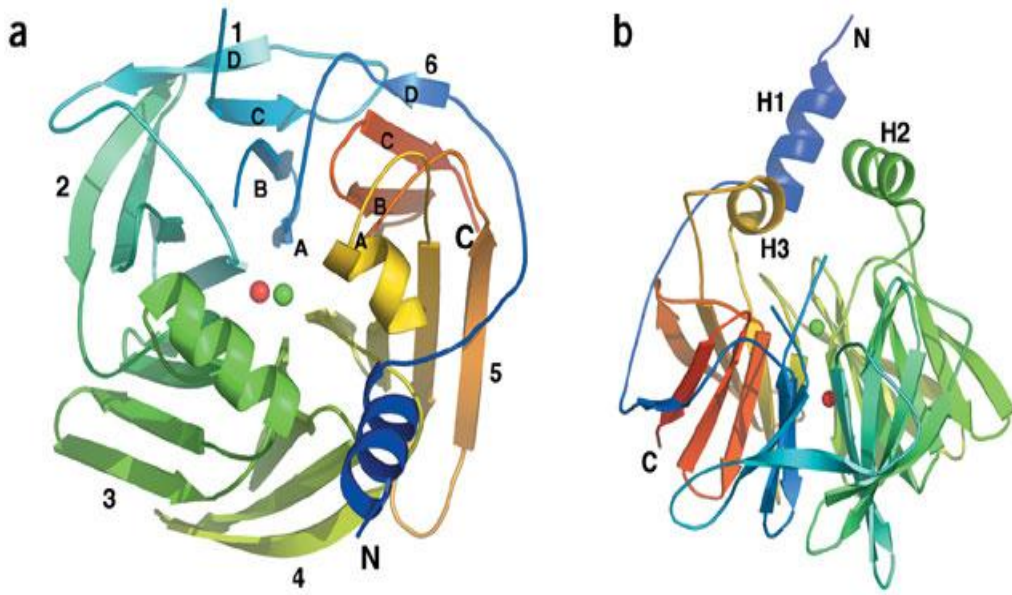


Şekil 3. İnsan paraoksonaz (PON1) enziminin yapısı (92)

PON1'in glikozile bir protein olmasının katalitik aktivitesi için önemi yoktur, ancak enzim yapısında bulunan karbonhidrat molekülerinin hücre

membranlarına bağlanma, moleküler kararlılık ve çözünürlüğü artırmada önemli olduğu düşünülmektedir (93).

PON1 proteini (Şekil 3), her biri 4 sıradan oluşan 6 adet β tabakadan meydana gelir (94). Yapısındaki 3 sistein aminoasitinden 284. pozisyondaki serbest iken diğer ikisi arasında (Cys;42-352) disülfid bağı bulunur. Serbest halde bulunan sistein, substratın tanınıp bağlanmasında görev alır. 284. pozisyondaki sistein ise LDL kolesterolü oksidasyondan korumada önemli bir fonksiyona sahip olmasına karşın organofosfatların hidrolizinde bir etkisi gözlenmemektedir (94).



Şekil 4. PON1 proteininin üç boyutlu yapısı (95)

a) 6'lı β tabakaların üstten görünümü. N terminali, C terminali ve merkezde 2 adet kalsiyum iyonu (yeşil ve kırmızı). **b)** 6'lı β tabakaların yandan görünümü. H1, H2, H3 heliksler ve ortada 2 adet kalsiyum iyonu.

PON1 yapısında H1, H2 ve H3 olmak üzere üç hidrofobik heliks vardır (Şekil 4). H2 ve H3 heliksler enzimin aktif bölgesinde bulunmaktadır. Bunlar enzimin aktif bölgesinin yapısını belirleyerek HDL ile bağlanmasında önemli role sahiptir (96).

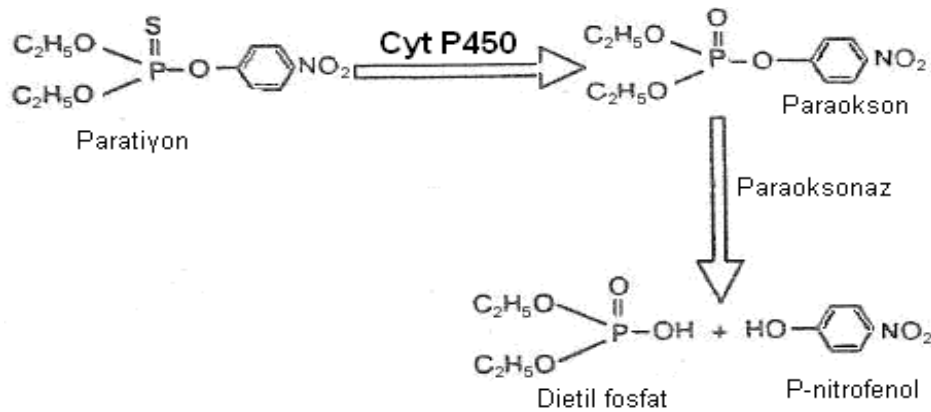
Paraoksonaz, maksimum aktivite göstermek için kalsiyuma ihtiyaç duyar. Paraoksonaz proteini, üç boyutlu yapısında iki adet kalsiyum iyonu içermektedir. β tabakaların merkezinde bulunan bu iki adet kalsiyum iyonu paroksonazı Co^{+2} ,

Mn²⁺, Mg²⁺ kullanan diğer esteraz enzimlerinden ayırır. Yapısındaki kalsiyum iyonlarından birisi yapısal özellik taşıdığından enzim yapısından uzaklaştırılması proteinin geri dönüşümsüz denatürasyonuna yol açar. Diğer kalsiyum iyonu ise katalitik aktivite için gereklidir. Katalitik aktivitede görev alan kalsiyum iyonu bir su molekülü varlığında fosfat iyonunun oksijeni ile etkileşip paraoksonun P=O bağı polarize ederek dietilfosfatın aktif alandan ayrılmasını kolaylaştırır (93). PON1'in organofosfat substratlarına karşı hidrolitik aktivitesi kalsiyuma bağımlı iken lipid peroksidlerinin birikimini önlemede kalsiyumun gerekli olmadığı bildirilmiştir (96).

Karaciğerde sentezlenerek dolaşıma salınan PON1' in HDL yapısında yer aldığı bilinmektedir. Paraoksonaz, N-terminal bölgesi aracılığıyla HDL'deki fosfolipidlere bağlanır (Şekil 3). PON1'in fosfolipidlere bağlanması ve stabilizasyonunda Apo-A1 rol oynar (97).

2.6.2. Paraoksonazın fonksiyonları

PON1' in en iyi bilinen koruyucu fonksiyonu organofosfat sinir ajanlarını, aromatik karboksilik asit esterlerini ve insektisitleri hidrolize etmesidir. İnsektisit olarak yaygın kullanılan paration, klorpiroposokson gibi organofosfat bileşikleri ile somon ve sarin gibi sinir gazları, PON1'in başlıca substratlarıdır (98). PON1, parationun oksidatif desülfirasyonu ile oluşan paraoksonu hidroliz ederek p-nitrofenol ve dietilfosfat oluşumuna yol açar (Şekil 5).

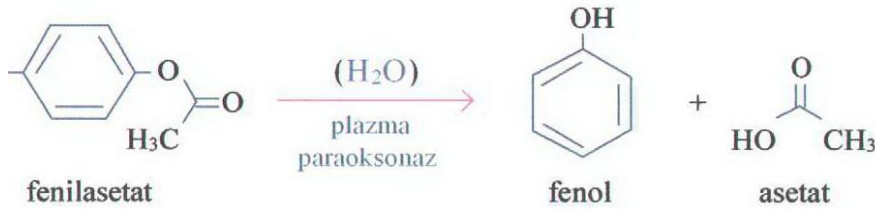


Şekil 5. Paraoksonun enzimatik hidrolizi (99)

Memelilerde bulunan PON1'in substratlara karşı affinitesi düşük olduğundan tarımsal alanlarda çalışanlarda organofosfat zehirlenmelerine sık rastlanır. Kronik olarak düşük dozda organofosfatlara maruz kalanlarda PON1'in daha etkili olduğu bildirilmiştir (100).

Arilesteraz aktivitesi

PON1'in fenilasetatı substrat olarak kullandığı arilesteraz aktivitesi de bulunmaktadır. PON1'in arilesteraz aktivitesi fenilasetatı hidroliz etme aktivitesi ölçülerek bulunan aktivitedir (Şekil 6). Aromatik karboksilik asit esterlerinden fenil asetat, enziminin arilesteraz aktivitesinin tayininde sıklıkla kullanılmaktadır.



Şekil 6. PON1'in arilesteraz aktivitesi (101)

Paraoksonaz'ın LDL ve HDL oksidasyonunu engellemesi

Mackness ve ark. 1991' de serum PON'un ateroskleroz sürecinin başlangıç evresi olan LDL fosfolipidlerinin oksidasyona karşı korunmasında önemli olduğunu ilk gösteren araştırmacılarıdır (102). Sonraki araştırmalarda, HDL'nin LDL'de bakırla indüklenen lipid peroksit oluşumunu % 90 oranında inhibe ettiği, HDL'den saflaştırılan PON1'in tiyobarbitürik asit ile reaksiyona giren maddelerin (TBARS) düzeylerini ve lipid hidroperoksit oluşumunu önlediği gösterilmiştir (103).

Oksidatif strese maruz kalındığında lipid peroksidasyonu sadece LDL'de değil HDL'deki lipidlerde de meydana gelmektedir (104). PON1'in hem HDL hem de LDL'yi oksidasyona karşı koruduğu bildirilmiştir (105). HDL'nin Oksi LDL'deki kolesteril linoleat hidroperoksitleri indirgemesi peroksidaz benzeri aktivitesi ile ilişkilidir. HDL'ye bağımlı PON1'in uzun zincirli okside fosfolipidleri hidroliz edebilme yeteneğinden dolayı HDL'nin LDL üzerindeki koruyucu etkisinin PON1'den kaynaklandığı düşünülmektedir (105, 106). HDL'deki PAF-AH (HDL ilişkili trombosit aktive edici faktör asetil hidrolaz),

LCAT (lesitin-kolesterol açıl transferaz) gibi diğer enzimlere göre PON'un lipid peroksidleri hidroliz etmede daha güçlü olduğu kanıtlanmıştır (107).

PON1 sadece lipoproteinlerle ilişkili peroksidlere değil aynı zamanda H₂O₂ üzerine de etkilidir. H₂O₂ oksidatif stres sırasında daha potent radikallere dönüşerek LDL oksidasyonuna neden olmaktadır. HDL ile ilişkili PON1'in H₂O₂'yi hidroliz edebilmesi sayesinde oksidan maddelerin eliminasyonunu sağlayabileceği bildirilmiştir (108).

2.6.3. Paraoksonazın sentez ve sekresyonu

İnsanlarda PON sentezi ve sekresyonu karaciğerde yapılmaktadır. İmmunohistokimyasal yöntemle PON1'in karaciğer ve plazmada, PON2'nin karaciğer, beyin, kalp, böbrek, aortik düz kas hücreleri, testis dokularının endotel tabakasında, PON3'ün ise karaciğer ve plazmada buldukları gösterilmiştir (109).

Yeni doğanlarda ve prematüre bebeklerde serum PON1 aktivitesi yetişkin düzeyinin yaklaşık yarısı kadardır. Erişkin düzeyine doğumdan yaklaşık bir yıl sonra ulaşır. Erişkinlerde hayat boyu değişmeden aynı düzeyde kaldığını öne süren çalışmalarla birlikte (110), yaşla düzeylerinin azaldığını belirten çalışmalar da bulunmaktadır (111).

PON1 sentezlenmesi ve serum PON1 aktivitesi birçok çevresel faktörlerden etkilenir. Antiaterojenik ve antioksidan beslenme (112), E ve C vitamini (113), ılımlı alkol kullanımı (114), simvastatin (115), hormon replasman tedavisi (116) PON1 aktivitesini artırmaktadır. Sigara kullanımı ise PON1 enzimidaki serbest tiyol gruplarını modifikasyona uğratarak enzim aktivitesini azaltmaktadır (117). Yüksek serum kolesterol düzeyi ve insülin direnci de PON1 aktivitesini azaltmaktadır (118).

2.6.4. PON1 Polimorfizmleri

Serum PON1 düzeyi ve aktivitesinin bireyler arasında çok değişkenlik göstermesinin nedenlerinden birisi de PON1 geninin kodlama ve promotor bölgelerinde çeşitli polimorfizmler göstermesidir (119). PON1 polimorfizmleri ilk olarak 1973'te Mallinckrodt ve ark. tarafından saptanmış ve enzimin genetik polimorfizm sergilediği, enzim aktivitesinin trimodal dağılım gösterdiği

bildirilmiştir (88). Bu polimorfizmlerin en önemlilerinden ikisi 55. ve 192. pozisyonlardaki aminoasitlerin değişimi ile ortaya çıkar. 192. pozisyondaki glutaminin (A veya Q alleli) arginin (B veya R aleli) ile yer değiştirmesiyle birinci polimorfizm; 55. pozisyondaki metioninin (M alleli) lösin (L alleli) ile yer değiştirmesiyle 2. polimorfizm oluşur. Bunlardan PON1 Q192R polimorfizmi en sık görülen polimorfizmdir. 192. pozisyonda glutamin aminoasitinin bulunduğu A veya Q izoenzimi olarak adlandırılan izoenzimin paraoksona affinitesi 192. pozisyonda arjinin aminoasitini bulunduran B veya R izoenzimi olarak adlandırılan izoenzime göre 6 kata kadar daha düşük bulunmuştur (120). Her iki enzim izoformunun frekansları *Hardy-Weinberg* dengesindedir. Böylece 3 fenotip ve trimodal dağılım oluşmaktadır. Bunlardan en yaygın olanı düşük aktiviteli homozigot-AA (QQ), ikinci yaygın olanı orta aktiviteli heterozigot-AB (QR) ve en az yaygın olanı yüksek aktiviteli homozigot-BB (RR)'dir (121). Polimorfizm arilesteraz aktivitesini etkilemez. Bu nedenle arilesteraz aktivitesi PON1 aktivitesindeki değişikliklerden bağımsız olarak asıl protein konsantrasyonunun göstergesi olarak kabul edilir (122).

Polimorfizmler substrat bağımlı olduklarından paraokson Q ve R izoenzimeri için ayırt edici konumundadır. Tuza yanıt veren R fenotipi paraoksona karşı daha yüksek enzim aktivitesine sahiptir. Paraoksonaz aktivitesi 1M NaCl ile stimüle edildiğinde düşük aktiviteli form (Q) inhibe olur. Fakat yüksek aktiviteli form (R) inhibe olmaz, aksine aktivitesi maksimuma çıkar (123).

İkinci en sık görülen polimorfizm olan L55M polimorfizminin önceki çalışmalarda PON1 aktivitesini etkilemediği bulunmuştur. Ancak sonraki çalışmalarda bu polimorfizmin serum PON1 düzeylerinin düşmesine yol açarak enzim aktivitesini etkileyebileceği gösterilmiştir (124). Ayrıca promotor bölgedeki (-107)T/C, (-907)G/C gibi polimorfizmlerle kodlayıcı bölgelerdeki M54L, I110V gibi polimorfizmlerin insanlardaki PON1 ekspresyonunu etkilediği çeşitli çalışmalarla açıkça gösterilmiş ve hayvan deneyleriyle desteklenmiştir (125).

2.7. Prostat Kanseri, Etyolojisi ve Risk Faktörleri

2.7.1. Prostat kanseri tanımı

Prostat kanseri son yıllarda çok sık tanı konulan, multifokal özellik taşıyan glandüler orijinli solid bir tümör türüdür. Diyet, çevresel karsinojenler, inflamatuvar hastalıklar, patogenezinde önemli rol oynarlar. Hastalığın oluşumunda ve diferansiyasyonunda androjenler önemli bir role sahiptir. Hastalığın tedavisinde de androjen yoksunluğu oluşturulması geleneksel bir tedavi yöntemidir. Ancak ileri evre kanserlerde bu tedavi işe yaramamaktadır. Çünkü agresif prostat kanseri fenotipi olan bireylerde androjenlerin yokluğunda bile hücre proliferasyonu gerçekleşebilmektedir. Bu doğrultuda androjenden bağımsız bazı mekanizmaların prostat kanseri patogenezinde rol aldığı bilinmektedir. Fakat bu mekanizmalar henüz tam olarak anlaşılammıştır. Androjenden bağımsız olarak gelişen prostat kanserinde meydana gelen genetik değişiklikler ile büyüme faktörleri ve sitokinlerin parakrin düzenlemeden otokrin düzenlemeye doğru yöneldiği bilinmektedir (126).

Bireyin sağlıklı bir bütünlük içinde olabilmesi için hücrelerin büyüme ve çoğalmasının sıkı bir kontrol altında olması gerekmektedir. Bazı durumlarda hücreler kontrolü kaybederek büyüme ve çoğalma denetimsiz bir şekilde gerçekleşebilir. Bu hücrelere “transforme olmuş hücre” denilmektedir. Mutasyona uğrayan hücreler diğer hücrelere göre daha hızlı bölünüp mutant bir klon oluştururlar. Kanser de klonal hücre çoğalmasının bir sunucudur. Kısaca kanser, aşırı bölünme, yayılma ve yayıldığı bölgelerde klonlaşma özelliklerine sahiptir (127).

Kanser, giderek artan bir sağlık ve yaşam sorunu durumundadır. Ölüm sebepleri arasında kalp ve damar hastalıklarının ardından ikinci sırada gelmekte, toplum ve insan sağlığı açısından giderek daha ciddi bir sorun oluşturmaktadır (127).

Prostat kanseri son yıllarda özellikle sanayileşmiş ve insan ömrünün uzadığı toplumlarda erkek populasyon için önemli bir sağlık sorunu olarak ortaya çıkmaktadır. Gelişmiş ülkelerin verilerine göre, prostat kanseri tüm erkek kanserlerinin %11’ini ve kansere bağlı erkek ölümlerinin %9’ unu oluşturmaktadır (128). Prostat kanseri ABD’de ve Avrupa’da 50 yaş üstü erkeklerde en sık görülen

kanser türüdür (129). 50 yaşın üzerindeki yapılan otopsi çalışmalarında prostat kanseri görülme sıklığı %30 oranında bulunmuştur (130). 80'li yıllardan sonra PSA gibi tarama testleri ve diğer tanı yöntemlerinin geliştirilip yaygınlaşmasıyla birlikte hastalığın insidansı da artmaktadır. PSA testinin yaygınlaşmasıyla bölgesel hastalık insidansı artarken metastatik hastalık insidansı azalmaktadır (131).

2.7.2. Etyoloji ve risk faktörleri

Etyolojisi tam olarak bilinmese de yapılan araştırmalarda prostat kanserinin gelişiminde etnik özellikler, çevresel özellikler, kişinin hayat tarzı, genetik özellikler, ileri yaş, androjen metabolizmasının düzensiz çalışması gibi çeşitli risk faktörleri belirlenmiştir. Ayrıca viral ve bakteriyel enfeksiyonların da prostat kanseri gelişimine yol açabileceği düşünülmektedir (132).

Son yıllarda yapıp kabul görmüş deneysel, epidemiyolojik ve klinik çalışmalar prostat kanserinin oluşumu ve ilerlemesinde oksidatif stresin rolü olduğunu kanıtlamıştır (133). ROS'un prostat kanseri oluşumundaki rolü hakkında bilinen birçok teori vardır. Antioksidan defans yetmezliği, mitokondriyal DNA (mtDNA) mutasyonları, kronik inflamasyon, DNA tamir mekanizmasının bozulmasıyla ve apoptozisin yanı sıra androjen dengesizliği, diyetle yağ alımı ile prostat intraepitelyal neoplazi oluşumu gibi faktörler bu süreçte etkili olabilmektedir (134). Prostat kanserinde DNA hasarına neden olan ajanlar yanında, SOR düzeyinin orta derecede yükselmesi ile aktive olan sekonder mesajcı moleküller de patogeneizde rol oynayabilir. Çeşitli sinyal yollarını kontrol eden HIF-1 α , Snail, Ets gibi transkripsiyon faktörleri onkojenik fenotipin meydana gelmesinde önemli rol oynarlar. Bu sinyal yollarının anlaşılması prostat kanserinin gelecekteki tedavisi yeni seçenekler sunabilir (134).

Prostat Kanserinin Genetik Temeli

Prostat kanserinde genetik geçişin önemli olduğu kabul edilmektedir (135). Ailede prostat kanseri öyküsü olması hastalığın gelişimi için en önemli risk faktörü olarak kabul edilir ve genetik yatkınlık açısından tüm kanserler arasında en yüksek riskin prostat kanserinde olduğu bildirilmiştir (136). Tüm prostat kanserlerinin yaklaşık %9'u genetik temele sahiptir. Birinci dereceden akrabalarında prostat

kanseri olanlarda genel populasyonla karşılaştırıldığında 2,1-2,8 kat fazla kanser tespit edilmektedir (137).

Prostat kanserlerinin sadece küçük bir bölümünde açık bir herediter faktör bulunmaktadır. Herediter kanser için *germ-line* mutasyona uğrayan bazı genler saptanmıştır. Herediter prostat kanseriyle ilişkili mutasyonlar esas olarak diziliş düzeyinde iken sporadik kanserle ilişkili mutasyonlar hem dizilişte hem de kopyalama sayısındaki mutasyonları içerir (138).

Herediter prostat kanserinin gelişiminde önemli olan genleri bünyesinde bulunduran loküsler olan 1q24-25 (HPC1), 17p11 (HPC2), 8p22-23, Xq27-28 (HPCX), 1p36 (CAPB), 20q13 (HPC20) ve 1q42-43 (PCAP)'ü tanımlamak için *linkage* analizleri kullanılmıştır (139). Bu loküslerden 3'ü; 17p11' de lokalize ELAC2 (140), 1q24-25'de lokalize RNASEL (141) ve 8p22-23'de lokalize MSR1, (142) aday tümör baskılayıcı genler olarak tanımlanmışlardır.

Prostat kanserinin genetik geçiş göstermesinden sorumlu olduğu düşünülen genlerden herediter prostat kanseri geni (HPC1), 1q24-25 bölgesinde bulunur. Bu genin bazı ailelerde etkili olabileceği ve bu gene sahip kişilerde prostat kanserinin erken yaşlarda ortaya çıkma eğiliminde olduğu düşünülmektedir (143).

Prostat kanserinin X'e bağlı geçiş gösterdiği düşünülerek yapılan araştırmalarda HPCX geninin (Xq27-28) ailesel prostat kanserlerinin %16'sından sorumlu olabileceği ifade edilmiştir (144).

Ailesel (herediter) prostat kanseri

Prostat kanser olgularının yaklaşık %9-10'u kalıtsal prostat kanseri sınıfı içinde değerlendirilir. Kalıtsal prostat kanserinden sorumlu olan genler RNASEL, MSR1, AR, CYP17, SRD5A2'dir (145).

Sporadik (kalıtsal olmayan) prostat kanseri

Prostat kanseri vakalarının %90'dan fazlasının herediter olmayan prostat kanseri sınıfında yer aldığı düşünülmektedir. Prostat kanser hücrelerinde birçok somatik mutasyonlar, gen delesyonları, gen amplifikasyonları, kromozomal yeniden düzenlemeler ve DNA metilasyonunda değişiklikler meydana gelir. Bu değişimler yıllar geçtikçe çoğalarak birikir (146). Çoğunlukla 7p, 7q, 8q ve Xq'da artma ve 8p,10q, 13q ve 16q'da kayıplar şeklinde kromozomal anormalliklerin ortaya çıktığı bildirilmiştir. Prostat kanserinde en sık rastlanan 8. kromozomun

uzun kolunda bulunan “myc” geninde amplifikasyon olup bu artış metastaz riskini de arttırmaktadır (147).

Çevresel Risk Faktörleri

Sigara: Sigara içiminin prostat kanseri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (148). Özellikle sigarayı çaysız içenlerde çay içme alışkanlığı olanlara göre riskin daha fazla arttığı belirtilmiştir (149). Genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimini araştıran bir çalışmada hassas ve kolay etkilenebilir genotipleri (p53cd72, CYP1A1 ve GSTM1) taşıyan ve sigara içen bir grupta sigara içmeyenler karşılaştırılmış ve sigara içen grupta prostat kanseri riskinin anlamlı olarak yüksek olduğu saptanmıştır (150). Sigaranın özellikle detoksifiye edici genlerde (GSTM1) delesyon, DNA hasarı, CpG hipermetilasyonu ile birlikteliğinde prostat kanserinin artmış riskinden bahsedilebilir (151).

Alkol: Epidemiyolojik çalışmaların çoğunluğunda alkol tüketimi ile prostat kanseri gelişimi arasında bir ilişki olmadığı ileri sürülmektedir (152).

Besin Maddeleri: Hayvansal yağ tüketimi, kırmızı et tüketimi (etlerin yüksek ısıda pişirilmesiyle heterosiklik aminler oluşur) (153), süt (154) ve kalsiyum alımı (155) ile prostat kanseri riskinin arttığı gösterilmiştir. Ayrıca yağlı besinlerle beslenme sonucunda oksidatif hasarın artacağı ve bunun prostat kanser etyolojisinde görev alabileceği yönünde görüşler mevcuttur (156). Bazı çalışmalar, isoflavonoidlerin diyetle yüksek miktarda alınımının ya da soya ürünlerinin sıkça tüketiminin prostat kanseri riskiyle ters orantılı olduğunu bildirmişlerdir (157).

Birçok biyokimyasal analiz sonucunda yeşil çay içerisinde antioksidan etkileri olan polifenol tarzı bileşiklerin bulunduğu gösterilmiştir. E vitamini ve C’den daha güçlü bir antioksidan olan *Epigallocatechin-gallate* (EGCG) yeşil çayda saptanan temel kateşindir. Invitro çalışmalarda EGCG’nin prostat kanser hücre kültürlerinde antiproliferatif etkisi olduğu gösterilmiştir (158). Domateste bulunan antioksidan beta-karotenoid olan likopenin zengin beslenenlerde prostat kanserinin %16 daha az görüldüğü ayrıca antioksidan etkisi olan selenyum alanlarda prostat kanserinin %66 daha az ortaya çıktığı ve E vitamininin oksidatif DNA hasarını engelleyerek prostat kanseri gelişimini %40 oranında azalttığı bildirilmiştir (159). Norveç’te yapılan büyük bir çalışmada 25-OH Vitamin D’nin fazla olduğu yaz ve ilkbahar aylarında akciğer, prostat ve kolorektal kanser tanısı

almış hastalarda prognozun daha iyi olduğu ileri sürülmüştür (160). A vitamini veya retinol tek başına zayıf antioksidan özelliğe sahiptir ancak α -tokoferol, selenyum gibi diğer antioksidan maddelerin doku düzeylerini etkileyerek antioksidan etkiye katkıda bulunabilmektedir (161).

İnsan prostat kanser hücrelerinde COX-2'nin aşırı ekspresyonu gösterilmiştir (162). NSAID grubu ilaçların prostoglandin sentezinde rol oynayan siklooksijenaz (COX) enziminin inhibisyonu yoluyla prostat kanser hücre proliferasyonunu inhibe ettiği, apoptozisi indüklediği ve prostat kanseri metastazını azalttığı gösterilmiştir (163).

Meslek: Böcek ilaçlarına maruz kalan çiftçilerde ve petrol endüstrisinde çalışanlarda prostat kanseri riskinde artış bildirilmiştir (164). Ayrıca yüksek elektromanyetik alanlarda çalışan işçilerde artmış prostat kanseri mortalitesi saptanmıştır (165).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmadaki tüm analizler Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı ve Araştırma Uygulama Hastanesi Biyokimya Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Çalışmamız, Düzce Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir (Proje no: 2011.04.01.064).

3.1. Çalışma Grupları

Çalışmaya Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi İnvaziv Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Komitesi tarafından 28.05.2010 tarih ve 2010/10 karar no'lu araştırma başvuru onayı alındıktan sonra başlandı. Prospektif olarak yapılan çalışmaya Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi Üroloji Anabilim Dalı'na başvuran prostat kanseri tanısı almış 40 erkek hasta ile benzer yaştaki sağlıklı 40 erkek birey dâhil edildi. Hem hasta grubu hem de kontrol grubundaki katılımcılara aydınlatılmış (bilgilendirilmiş) onam formu örneği imzalatıldı ve formun bir kopyası kendilerine verildi.

3.1.1. Denek seçimi

Hasta ve kontrol grubuna aşağıdaki şartlara uyan erkek bireyler dâhil edildi.

A- Prostat Kanseri grubu:

1. Histopatolojik olarak prostat kanseri tanısı almış olması,
2. Yeni tanı almış olması,
3. Cerrahi tedavi, kemoterapi, radyoterapi almamış olması,
4. Sistemik ve kronik başka bir hastalığı bulunmaması,
5. Serum analizlerini etkileyecek diyet uygulaması ve ilaç kullanımının olmaması,

6. Sigara ve alkol kullanmaması.

B- Kontrol grubu:

1. Hasta grubuyla aynı yaş ve cinsiyette sağlıklı bireyler olması,
2. Sistemik ve kronik bir hastalığı bulunmaması,
3. Serum analizlerini etkileyecek diyet uygulaması ve ilaç kullanımının olmaması,
4. Sigara ve alkol kullanmaması.

Çalışmaya alınan bireylerin adı, soyadı, yaşı, boy ve kilosu, patolojik tanısı, tanı aldığı tarih, metastaz varlığı, cerrahi, kemoterapi veya radyoterapi görüp görmediği, sigara ve alkol kullanıp kullanmadığı, sistemik ve kronik hastalığı olup olmadığı, ilaç kullanımı, operasyon öyküsünü içeren çalışma formları dolduruldu.

3.2. Kan numunelerinin alınması ve saklanması

Çalışmaya dâhil edilen katılımcılardan en az 12 saatlik açlık sonrası sabah 9:00 ile 11:00 saatleri arasında Total Kolesterol (TKOL), HDL kolesterol (HDL-K), LDL kolesterol (LDL-K), paraoksonaz, arilesteraz, total oksidan kapasite (TOK), total antioksidan kapasite (TAK), malondialdehit (MDA) düzeyleri çalışılmak üzere oturur pozisyonda venöz (antekübital ven) kan örnekleri alındı. Serum analizleri için alınan kan örnekleri pıhtı aktivatörü içeren jel seperatörlü kuru biyokimya tüplerlerine hemoliz oluşturmada boşaltıldı. Biyokimya tüplerine alınan kanlar pıhtılaşması için oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek serum örnekleri ayrıldı. Elde edilen serum örnekleri bekletilmeden porsiyonlanarak -80 °C'de analiz yapılincaya kadar saklandı. Analizden hemen önce dondurulmuş örnekler aşamalı olarak çözdürüldü. Biyokimyasal analizler için Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı ve Araştırma Uygulama Hastanesi Biyokimya Laboratuvarında bulunan cihaz ve malzemeler kullanıldı.

3.3. Kullanılan Araçlar

- Santrifüj (Nüve, NF800, Türkiye)
- Spektrofotometre (Shmadzu UV1240, Japan)
- Terazi (AND, HR-120, Japan)
- Vorteks (Nüve, NM110, Türkiye)

3.4. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- 1.1.3.3. tetraetoksipropan (Merck Schuchardt OHG, Hohenbrunn, Germany)
- Tiyobarbitürik asit (TBA) (Sigma Chemical Co, St. Louis, USA)
- Triklorasetik asit (RdH Laborchemikalien GmbH&Ko)
- n-butanol (Sigma Aldrich Laborchemikalien GmbH)

3.5. Biyokimyasal Analizler

3.5.1. Serum TK, HDL-K ve LDL-K ölçümü

Serumda TK, HDL-K ve LDL-K ölçümleri ticari kitler kullanılarak (Roche Diagnostics, Germany), Cobas 600 c501 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) klinik kimya analiz cihazında ölçüldü.

Serumda TK düzeyleri enzimatik kolorimetrik yöntemle ölçüldü. Bu yöntemde kolesterol esterleri kolesterol esterazın etkisiyle bölünür ve serbest kolesterol ile yağ asitleri ortaya çıkar. Kolesterol oksidaz daha sonra kolesterolün kolest-4-en-3-on ve hidrojen peroksida oksidasyonunu katalize eder. Peroksidaz bulunan ortamda, oluşan hidrojen peroksit, fenol 4-aminofenazonun oksidatif bağlanmasını etkileyerek kırmızı renkli kuinon-imin boya oluşturur. Oluşan rengin absorbansı spektrofotometrede 700/505 nm dalga boyunda ölçülür. Absorbans ile numunedeki TKOL konsantrasyonu doğru orantılıdır. Kit kataloğunda yöntemin ölçüm aralığı 3,86-800 mg/dL olarak verilmiştir. Kitin CV değerleri günler arası normal serum havuzunda %0,48, patolojik serum havuzunda %0,5; gün içi normal serum havuzunda %0,4 olarak bulunmuştur.

Serumda HDL-K ölçümünde homojen enzimatik-kolorimetrik yöntem kullanıldı. HDL-K ölçüm yönteminde önce Mg iyonları varlığında dekstran sülfat, PEG (polietilen glikol) ile modifiye edilmiş enzimlere karşı direnç gösteren LDL, VLDL ve şilomikronlar ile seçici olarak suda çözünür kompleksler meydana getirir. HDL kolesteroldeki kolesterol konsantrasyonu amino gruplarına PEG bağlanmış kolesterol esteraz ve kolesterol oksidaz ile enzimatik olarak tayin edilir. Kolesterol esterleri, kolesterol esteraz aracılığıyla serbest kolesterol ve yağ asitlerine kantitatif olarak parçalanır. Oluşan rengin absorbansı spektrofotometrede 700/600 nm dalga boyunda ölçülür. Absorbans ile numunedeki HDL-K konsantrasyonu doğru

orantılıdır. Kit kataloğunda yöntemin ölçüm aralığı 2-750 mg/dL olarak verilmiştir. Kitin CV değerleri günler arası %1, gün içi %0,59 olarak bulunmuştur.

Serumda LDL-K ölçümünde homojen enzimatik-kolorimetrik yöntem kullanıldı. LDL-K ölçüm yönteminde de kolesterol esterleri, kolesterol esteraz aracılığıyla serbest kolesterol ve yağ asitlerine kantitatif olarak parçalanır. Serbest kolesterol, oksijen bulunan ortamda kolesterol oksidaz aracılığıyla Δ^4 -kolestenon ve hidrojen peroksit oksitlenir. Peroksidaz bulunan ortamda, oluşturulmuş hidrojen peroksit 4-aminoantipirin ve HSDA ile reaksiyona girerek mor-mavi bir boya oluşturur. Oluşan rengin absorbansı spektrofotometre ile 700/600 nm dalga boyunda ölçülür. Absorbans ile numunedeki LDL-K konsantrasyonu doğru orantılıdır. Yöntemin ölçüm aralığı 3,86-548 mg/dL olarak verilmiştir. CV değerleri günler arası %0,58, gün içi %0,55 olarak bulunmuştur.

3.5.2. Serum paraoksonaz (PON1) aktivitesi ölçümü

Serumda paraoksonaz (PON1) aktivitesi ölçümü Rel Assay Diagnostics paraoksonaz aktivitesi ölçüm kiti (Katalog no: RL0031, Gaziantep/Türkiye) kullanılarak ölçülmüştür. Kit, Cobas 600 c501 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) klinik kimya analiz cihazına applike edilmiştir. Ölçümün gün içi CV değerleri üretici firma tarafından yüksek, orta ve düşük aktiviteli serum havuzlarında sırasıyla %4,1, %1,7 ve %1,5 olarak verilmiştir.

Ölçüm prensibi:

Metodun prensibi, substrat olarak kullanılan paraoksonun enzimatik hidrolizi sonucu oluşan p-nitrofenolün oluşturduğu absorbansın kinetik yöntemle fotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanır.

Ölçüm için kullanılan birinci reaktif kiti; Tris-HCl tamponu (100 mM, pH: 8,0) ve CaCl_2 (2 mM); ikinci reaktif kiti ise; substrat solüsyonu (paraokson, 5 mM) içermektedir. Birinci reaktiften 270 μL , ikinci reaktiften 20 μL ve serumdan 15 μL pipetlenip karıştırıldığında paraoksonun hidrolizinden meydana gelen p-nitrofenolün 415 nm dalga boyunda oluşturduğu absorbans kinetik yöntemle ölçülmüştür. Tuzla uyarılmış PON1 aktivitesi için 1M NaCl ile aktivite ölçümü yapılmıştır. P-nitrofenolün molar absorpsiyon katsayısı $\epsilon_{415}=18,290 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ olarak alınmıştır. Paraoksonaz aktivitesinin bir ünitesi, 37°C'de bir dakikada bir μmol paraoksonu

hidroliz eden enzim miktarı olarak tanımlanmış ve enzim aktivitesi U/L olarak ifade edilmiştir.

3.5.3. Serum Arilesteraz aktivitesi ölçümü

Serumda arilesteraz aktivitesi ölçümü Rel Assay Diagnostics arilesteraz aktivitesi ölçüm kiti (Katalog no: RL0055, Gaziantep/Türkiye) kullanılarak ölçülmüştür. Kit, Cobas 600 c501 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) klinik kimya analiz cihazına applike edilmiştir. Ölçümün gün içi CV değerleri üretici firma tarafından yüksek, orta ve düşük aktiviteli serum havuzlarında sırasıyla %4, %3,3 ve %3,1 olarak verilmiştir.

Ölçüm prensibi:

Metodun prensibi substrat olarak kullanılan fenilasetatın enzimatik hidrolizi sonucu oluşan fenolün fotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanır.

Ölçüm için kullanılan birinci reaktif distile sudur. İkinci reaktif kiti; fenilasetat (2 mmol/L), Tris-HCl tamponu (100mM, pH:8), dilüsyon solüsyonu, üçüncü reaktif kiti ise; CaCl₂ (2mmol/L) içermektedir. Reaktif 1 20 µL, reaktif 2 20 µL, reaktif 3 80 µL ve diluent solüsyonuyla 1/50 seyreltilen serum 5 µL pipetlenip karıştırıldığında fenilasetatın enzimatik hidrolizi sonucu oluşan fenolün 548 ve 700 nm dalga boyunda oluşturduğu absorbans kolorimetrik olarak ölçülmüştür. Fenol için molar absorbtivite katsayısı $\epsilon_{548} = 4000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ olarak alınmıştır. Arilesteraz aktivitesinin bir ünitesi, bu ölçüm koşullarında dakikada bir µmol fenilasetatı hidroliz eden enzim miktarı olarak tanımlanmış ve enzim aktivitesi U/L olarak ifade edilmiştir

3.5.4. Serum Total Oksidan Kapasite (TOK) ölçümü

Serumda total oksidan kapasite (TOK) ölçümü Rel Assay Diagnostics total oksidan kapasite ölçüm kiti (Katalog no: RL0024, Gaziantep /Türkiye) kullanılarak ölçülmüştür. Kit, Cobas 600 c501 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) klinik kimya analiz cihazına applike edilmiştir.

Ölçüm prensibi:

Metodun prensibi numunedeki oksidanların ferröz iyon şelatör kompleksini ferrik iyonuna dönüştürmesi ve asidik ortamda kromojen ile oluşan rengin absorbansının fotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanır.

Ölçüm için kullanılan reaktiflerden birincisi tampon solüsyonu (pH=5,8, asetat tamponu) iken ikinci reaktif prokromojen solüsyondur. Standart solüsyonu ise 800mM H₂O₂ Eq/L TOK solüsyonudur. Raktif 1 225 µL ve numune 35 µL pipetlenip karıştırılıp 37°C’de 10 dakika inkübe edildiğinde ferröz iyon şelatör kompleksi ferrik iyonuna dönüşür. Sonra reaktif 2 22 µL ilave edildikten sonra ferrik iyonları ortamda bulunan kromojen solüsyonu ile asidik pH’da renkli kompleks oluşturur. Oluşan rengin yoğunluğu 530 nm’de fotometrik olarak ölçülmüş ve absorbans değişimi aşağıdaki formülle hesaplanarak oksidan moleküllerin miktarı µmol H₂O₂ Eq/L olarak verilmiştir.

$$\text{Sonuç (}\mu\text{mol H}_2\text{O}_2\text{Eq./L)} = (\Delta\text{Abs}_{\text{örnek}} / \Delta\text{Abs}_{\text{standart}}) \times 20 \text{ (standart değeri)}$$

$$\Delta\text{Abs}_{\text{örnek}} = (\text{ikinci Abs}_{\text{örnek}} - \text{birinci Abs}_{\text{örnek}})$$

$$\Delta\text{Abs}_{\text{standart}} = (\text{ikinci Abs}_{\text{standart}} - \text{birinci Abs}_{\text{standart}})$$

Standart değeri: 20 µmol H₂O₂Eq./L (1/40 seyreltilmiştir)

3. 5. 5. Serum Total Antioksidan Kapasite (TAK) ölçümü:

Serumda total antioksidan kapasite (TAK) ölçümü Rel Assay Diagnostics total antioksidan kapasite ölçüm kiti (Katalog no: RL0017, Gaziantep /Türkiye) kullanılarak ölçülmüştür. Kit, Cobas 600 c501 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) klinik kimya analiz cihazına apliance edilmiştir.

Ölçüm prensibi:

Metodun prensibi örnekte bulunan antioksidanların mavi-yeşil renkli ABTS⁺ [2, 2’-azino-bis(3-etilbenz-tiazolin-6-sulfonik asit)] radikalini renksiz ABTS formuna dönüştürmesi esasına dayanır.

Ölçüm için kullanılan reaktiflerden birincisi tampon solüsyonu iken ikincisi renkli ABTS radikal solüsyonudur. Standart 1 solüsyonu 0,0 mmolTrolox Eq/L, standart 2 solüsyonu ise 1,5 mmolTrolox Eq/L TAK solüsyonudur. Raktif 1 267 µL ve numune 20 µL pipetlenip karıştırılarak 37°C’de 5 dakika inkübe edildikten sonra 20 µL reaktif 2 ilave edildiğinde örnekte bulunan antioksidanlar mavi-yeşil renkli ABTS⁺ solüsyonunu renksiz ABTS formuna dönüştürür. 660 nm dalga boyunda

fotometrik okuma yapıldığında oluşan absorbands değişimi aşağıdaki formüle göre hesaplanarak sonuçlar mmolTroloxEq/L olarak verilmiştir.

$$\text{Sonuç (mmolTrolox Eq/L)} = [(\Delta\text{Abs}_{\text{Standart1}}) - (\Delta\text{Abs}_{\text{örnek}})] / [(\Delta\text{Abs}_{\text{Standart1}}) - (\Delta\text{Abs}_{\text{Standart2}})]$$

$$\Delta\text{Abs}_{\text{standart1}} = (\text{ikinci Abs}_{\text{standart1}} - \text{birinci Abs}_{\text{standart1}})$$

$$\Delta\text{Abs}_{\text{standart2}} = (\text{ikinci Abs}_{\text{standart2}} - \text{birinci Abs}_{\text{standart2}})$$

$$\Delta\text{Abs}_{\text{örnek}} = (\text{ikinci Abs}_{\text{örnek}}) - (\text{birinci Abs}_{\text{örnek}})$$

3.5.6. Serumda MDA ölçümü

Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA düzeyi serum örneklerinde 1.1.3.3-tetraethoksiopropanın standart olarak kullanıldığı tiyobarbitürik asit (TBA) testi ile belirlenmiştir. Metodun prensibi MDA'nın TBA ile reaksiyona girerek 520 nm'de maksimum absorbands veren renkli bir kompleks oluşturması esasına dayanır. Serumda MDA düzeyi Yoshioka ve ark. tarafından geliştirilen yöntemle manuel olarak ölçülmüştür (166).

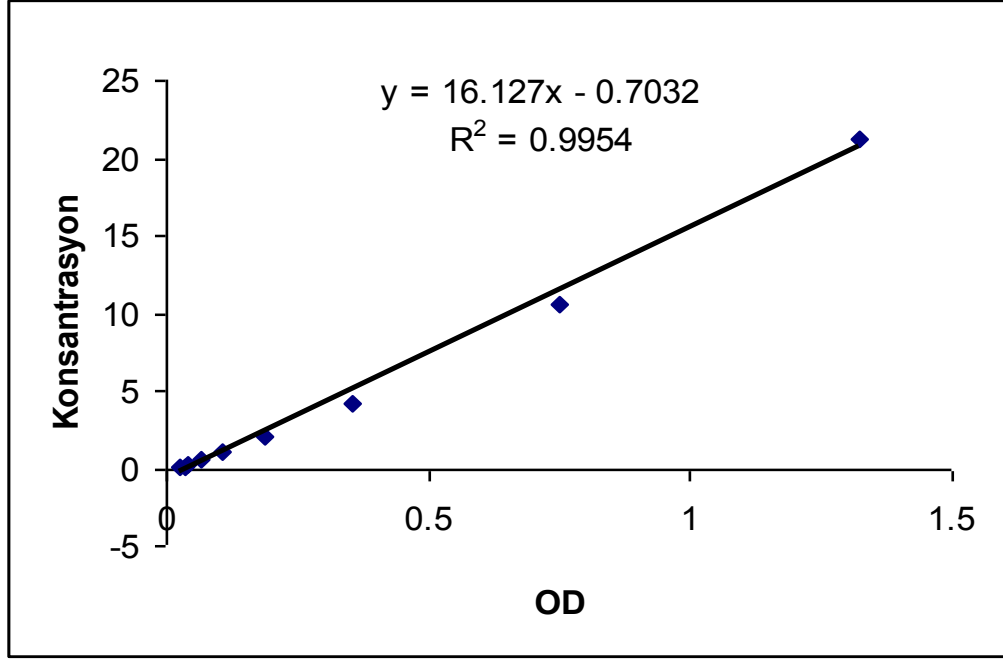
a) Reaktifler:

- 1. 1. 3. 3. tetraetoksiopropan
- Triklorasetikasit(%20)
- TBA: %0.06
- n-butanol

b) Deneyin yapılışı

- 0,5 mL serum 2,5 mL triklorasetikasit ve 1 mL TBA solüsyonu ile karıştırıldıktan sonra 30 dk. kaynar su banyosunda tutulmuştur.
- Tüpler hızla soğutulduktan sonra 4 mL n-butanol eklenmiş ve organik faz 3000 rpm'de 5 dk. santrifüj edilerek ayrılmıştır.
- Süpernatanın absorbands değeri spektrofotometrede distile su körüne karşı 532 nm dalga boyunda ölçülmüştür.
- Standart olarak 1. 1. 3. 3. tetraetoksiopropan kullanılarak 0,5, 1, 10, 20, 50, 100 nmol/mL konsantrasyonlarında hazırlanan standart serilerin

absorbanslarından serum örnekleri için standart eğrileri çizilmiş (Şekil 7) ve MDA düzeyi hesaplanmıştır. Sonuçlar nmol/mL olarak verilmiştir.



Şekil 7. Serum MDA standart eğrisi

3.5.7. Oksidatif stres indeksi (OSİ) düzeylerinin belirlenmesi

Hasta ve kontrol grubundaki oksidatif stres indeksi (OSİ) düzeyleri aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (167).

$$OSİ = [TOK (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eq/L}) / TAK (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eq/L})] \times 100$$

3.5.8. PON1 fenotiplenmesi

Kontrol ve hasta gruplarında PON1 fenotiplenmesi *Echerson* ve ark.'nın belirlediği yöntemle *dual substrat* metoduna göre belirlenmiştir (168).

Kontrol ve hasta gruplarında tuzla uyarılmış PON1/ARE oranları saptanarak her iki grupta da bu oranların dağılımları belirlenmiştir. Kontrol ve hasta gruplarının her ikisinde de PON1/ARE oranlarına göre oluşan fenotipler için *cut-off* değerleri 1,00 ve 2,5 olarak belirlenmiştir. Bu durumda 0,50-1,00 arasında olanlar AA, 1,00-2,50 arasında olanlar AB, 2,5-3,5 arasında olanlar BB fenotipi olarak kabul

edilmiştir. Her iki gruptaki bu dağılımların *Hardy-Weinberg* dağılımına uyup uymadıkları istatistiksel yöntemle araştırılmıştır.

3.5.9. İstatistiksel yöntem

Elde edilen ölçümlere ait tanımlayıcı istatistikler ortalama \pm SD olarak verilmiştir. Ölçümlerin normallik testinde *Kolmogorov-Smirnov* testi kullanılmış ve her iki grupta da dağılımların normal dağılım olduğu belirlenmiştir. Bu sonuca göre yapılan ölçümler bakımından iki grubun karşılaştırılmasında bağımsız iki grup örnek ortalamasının karşılaştırmasına ait t-testi (*Student t* testi) kullanılmıştır. Ayrıca değişkenler arası korelasyonlar her iki grupta ayrı ayrı *Pearson* Korelasyon Analizi ve çoklu doğrusal regresyon modeli ile de incelenmiştir. Hesaplamalarda PASW (SPSS ver. 18) programı kullanılmış ve istatistik anlamlılık düzeyi olarak $P \leq 0.05$ kabul edilmiştir. Gruplara ait PON1 fenotiplemesinde *Hardy-Weinberg* dağılımına uygunluk değerlendirmesi yapılmıştır.

4. BULGULAR

Çalışmaya alınan hasta ve kontrol grubuna dâhil erkek bireylerin TKOL, LDL-K, HDL-K, TOK, TAK, PON, ARE, MDA, OSİ düzeylerinin ortalama standart sapma sonuçları hesaplanarak gruplar arasında bu değerler karşılaştırıldı (Tablo 1).

Tablo 1. Kontrol ve hasta grubunun VKİ ve biyokimyasal parametrelerin düzeyleri

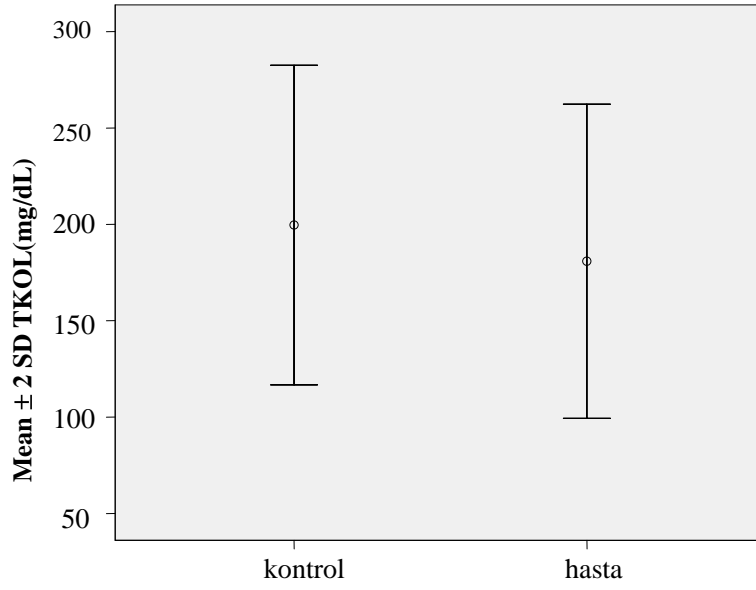
	Kontrol (n=40)	Hasta (n=40)	p
	ortalama±SD	ortalama±SD	
Yaş	68,7±8,522	68,1±8,045	0,757
VKİ (kg/m²)	26,71±3,10	26,33±3,15	0,590
TK (mg/dL)	199,65±41,47	180,87±40,73	0,044
LDL-K (mg/dL)	129,25 ±38,01	110,10±36,37	0,026
HDL-K (mg/dL)	42,67±12,75	43,22±17,34	0,872
TOS (µmol H₂O₂ Eq/L)	14,43±1,74	16,19±6,60	0,110
TAS (mmolTrolox Eq/L)	1,87±0,16	1,81±0,14	0,081
OSİ	0,77±0,11	0,885±0,30	0,029
PON (U/L)	565,65±310,86	424,67±262,23	0,040
ARE (U/L)	351,85±74,04	314,15±75,93	0,027
MDA (nmol/mL)	1,49±0,48	1,62±0,59	0,282

4.1. Yaş ve vücut kitle indeksi

Tablo 1’de görüldüğü gibi yaş ve VKİ arasında iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (sırasıyla p=0,757 ve p=0,590).

4.2. Serum TKOL, HDL-K, LDL-K düzeyleri

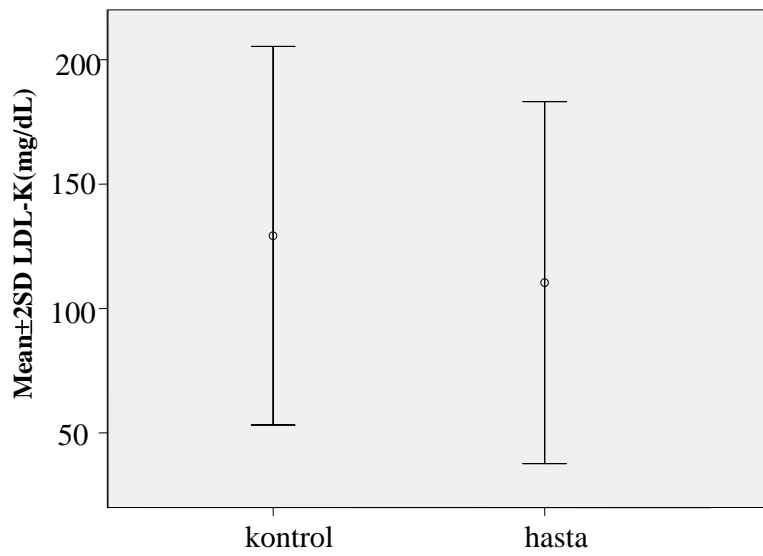
Serum TKOL düzeyleri kontrol grubunda (199,65±41,47 mg/dL), hasta grubundan (180,87±40,73 mg/dL) istatistiksel olarak anlamlı yüksekti (p<0,05, Şekil 8).



Şekil 8. Kontrol ve hasta gruplarında serum TKOL düzeylerinin karşılaştırılması

Serum HDL-K düzeylerinde ise kontrol grubu ($42,67 \pm 12,75$ mg/dL) ile hasta grubu ($43,22 \pm 17,34$ mg/dL) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,872$).

Serum LDL-K düzeyleri kontrol grubunda ($129,25 \pm 38,01$ mg/dL), hasta grubundan ($110,10 \pm 36,37$ mg/dL) istatistiksel olarak anlamlı yüksekti ($p < 0,05$, Şekil 9).



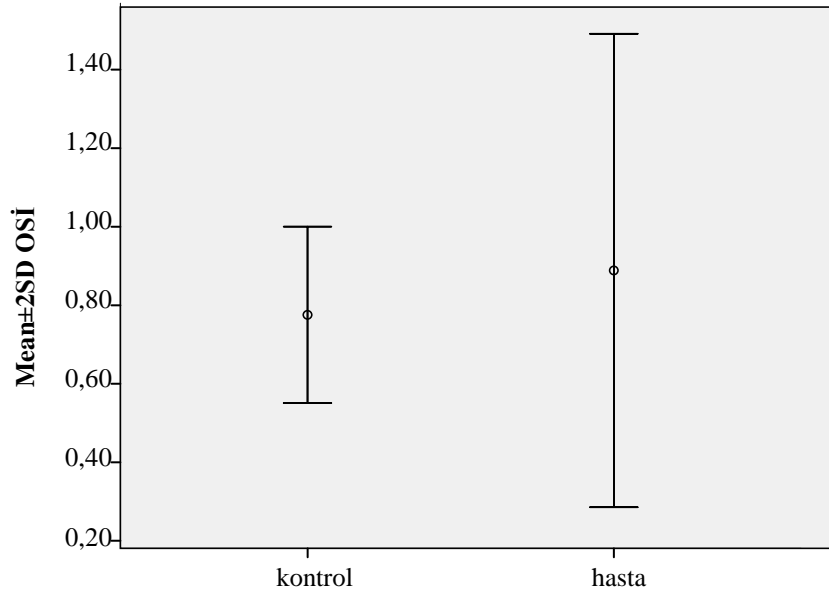
Şekil 9. Kontrol ve hasta gruplarında serum LDL-K düzeylerinin karşılaştırılması

4.3. Serum TOK, TAK ve OSİ düzeyleri

Serum TOK düzeyleri açısından kontrol grubu ($14,43 \pm 1,74 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eq/L}$) ve hasta grubu ($16,19 \pm 6,60 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eq/L}$) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p=0,110$). Ancak hasta grubunda kontrol grubuna göre biraz daha yüksek olduğu gözlemlendi.

Serum TAK düzeyleri ise kontrol grubunda ($1,87 \pm 0,16 \text{ mmol Trolox Eq/L}$), hasta grubuna ($1,81 \pm 0,14 \text{ mmol Trolox Eq/L}$) göre daha yüksek bulunsa da iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p=0,081$).

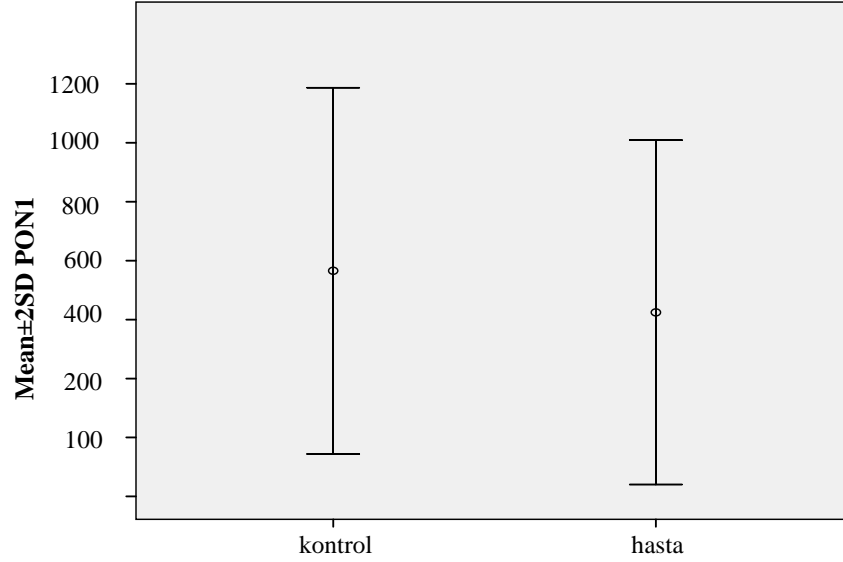
Serum TOK ve TAK düzeyleri açısından istatistiksel fark olmamasına rağmen, OSİ düzeyleri kontrol grubunda ($0,77 \pm 0,11$) hasta grubundan ($0,885 \pm 0,30$) istatistiksel anlamlı olarak daha düşüktü ($p=0,029$, Şekil 10).



Şekil 10. Kontrol ve hasta gruplarında OSİ düzeylerinin karşılaştırılması

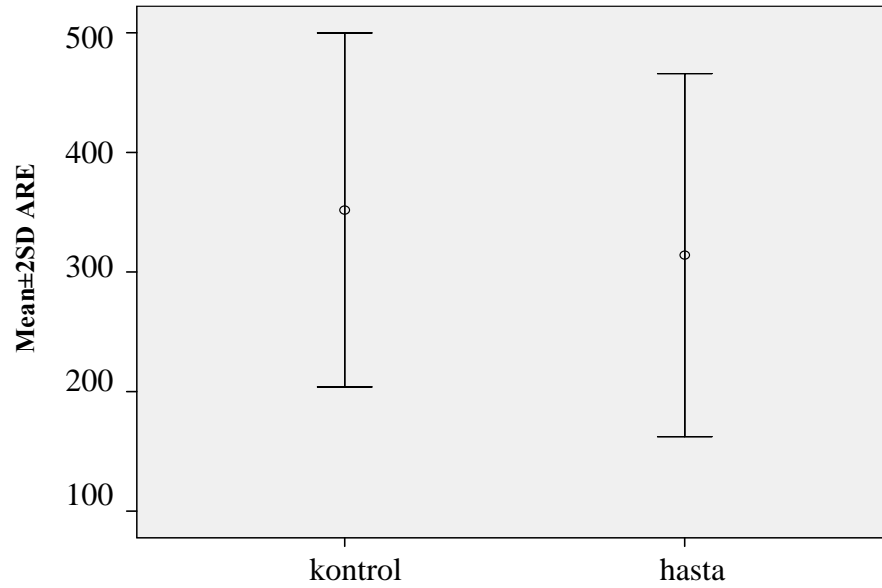
4.4. Serum PON1 ve ARE düzeyleri

Serum PON düzeyleri kontrol grubunda ($565,65 \pm 310,86$ U/L), hasta grubuna ($424,67 \pm 262,23$ U/L) göre istatistiksel olarak anlamlı yüksekti ($p=0,040$, Şekil 11).



Şekil 11. Kontrol ve hasta gruplarında PON1 düzeylerinin karşılaştırılması

Serum ARE düzeyleri kontrol grubunda ($351,85 \pm 74,04$ U/L), hasta grubuna ($314,15 \pm 75,93$ U/L) göre istatistiksel olarak anlamlı yüksekti ($p=0,027$, Şekil 12).



Şekil 12. Kontrol ve hasta gruplarında serum ARE düzeylerinin karşılaştırılması

4.5. Serum MDA düzeyleri

Serum MDA düzeyleri kontrol grubunda $1,49 \pm 0,48$ nmol/mL, hasta grubunda $1,62 \pm 0,59$ nmol/mL bulunmuştur. Serum MDA düzeyleri hasta grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek bulunsada iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p=0,282$).

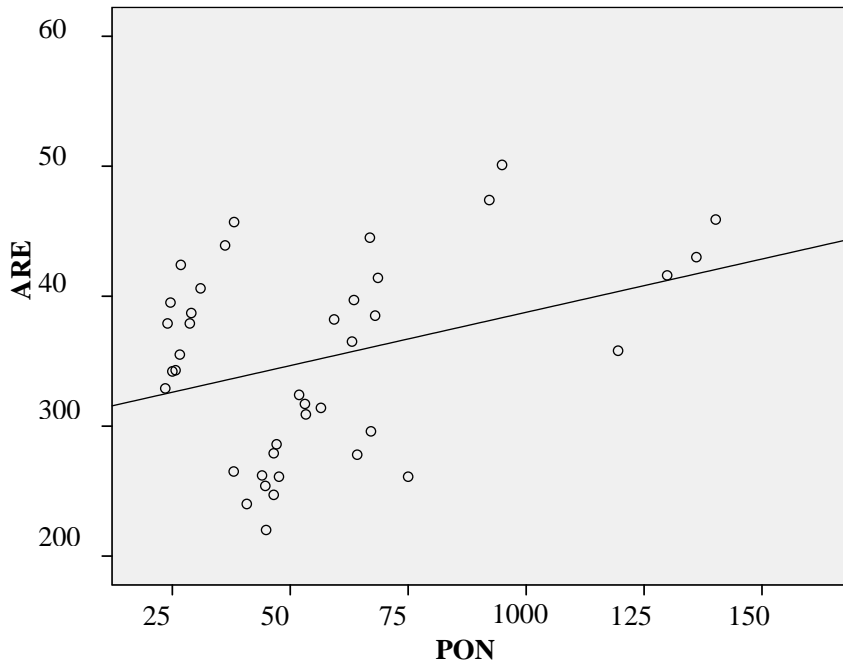
4.6. Kontrol grubunda ölçümler arası korelasyonlar

Çalışmaya alınan kontrol grubuna dâhil sağlıklı erkek bireylerin TKOL, LDL-K, HDL-K, TOS, TAS, PON, ARES, MDA, OSİ düzeylerinin birbirleriyle ilişkileri değerlendirilmiştir.

Serum TKOL ve LDL-K düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon saptanmıştır ($p<0,0001$, $r=0,868$). Bunun dışında serum lipid parametrelerinin birbirleri arasında ve diğer parametrelerle başka istatistiksel anlamlı ilişki saptanamamıştır.

Serum TOS, TAS, OSİ düzeyleri ile diğer parametreler arasında istatistiksel anlamlı korelasyon saptanamamıştır.

Serum PON1 düzeyleri ile ARE düzeyleri arasında istatistiksel anlamlı pozitif korelasyon saptanmıştır ($p<0,05$, $r=0,344$) (Şekil 13).



Şekil 13. Kontrol grubunda serum PON1 ve ARE ilişkisi

Serum PON1 ve ARE düzeyleri ile diğer parametreler arasında, serum MDA düzeyleri ile diğer parametreler arasında ve OSİ düzeyleri ile diğer tüm parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyonlar saptanamamıştır.

4.7. Hasta grubunda ölçümler arası korelasyonlar

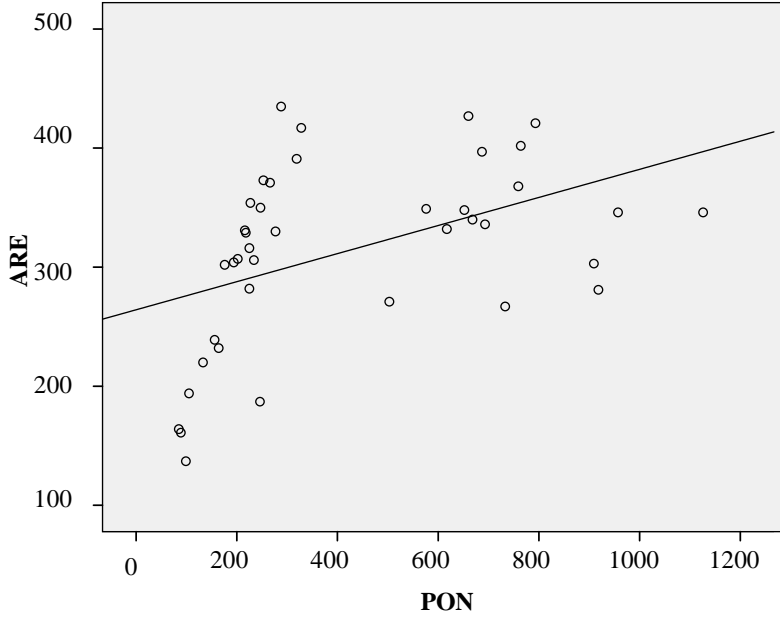
Çalışmaya alınan hasta grubuna dâhil erkek bireylerin TKOL, LDL-K, HDL-K, TOK, TAK, PON, ARE, MDA, OSİ düzeylerinin birbirleriyle ilişkileri değerlendirilmiştir.

Serum TKOL ve LDL-K düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon saptanmıştır ($p<0,0001$, $r=0,924$). Bunun dışında serum lipid parametrelerinin birbirleri arasında ve diğer parametrelerle başka istatistiksel anlamlı ilişki saptanamamıştır.

Serum TOS ve TAS düzeyleri ile diğer parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanamamıştır.

Serum PON1 düzeyleri ile serum ARE düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon saptanmıştır ($p<0,05$, $r=0,453$) (Şekil 14). Serum PON düzeyleri ile diğer parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanamamıştır.

OSİ düzeyleri ile diğer parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanamamıştır.



Şekil 14. Hasta grubunda serum PON1 ve ARE ilişkisi

4.8. PON ve ARE ile diğer değişkenler arasında çoklu lineer regresyon modeli

PON ile HDL, MDA, LDL, TKOL, TOS, OSİ ve TAS ilişkileri çoklu doğrusal regresyon analizi ile incelenmiş ancak hem sağlıklı kontrollerde hem de hastalarda istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p>0,05$).

ARE ile HDL, MDA, LDL, TKOL, TOS, OSİ ve TAS ilişkileri çoklu doğrusal regresyon analizi ile incelenmiş ancak hem sağlıklı kontrol bireylerinde hem de hastalarda anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p>0,05$).

4.9. PON1 Fenotiplemesi

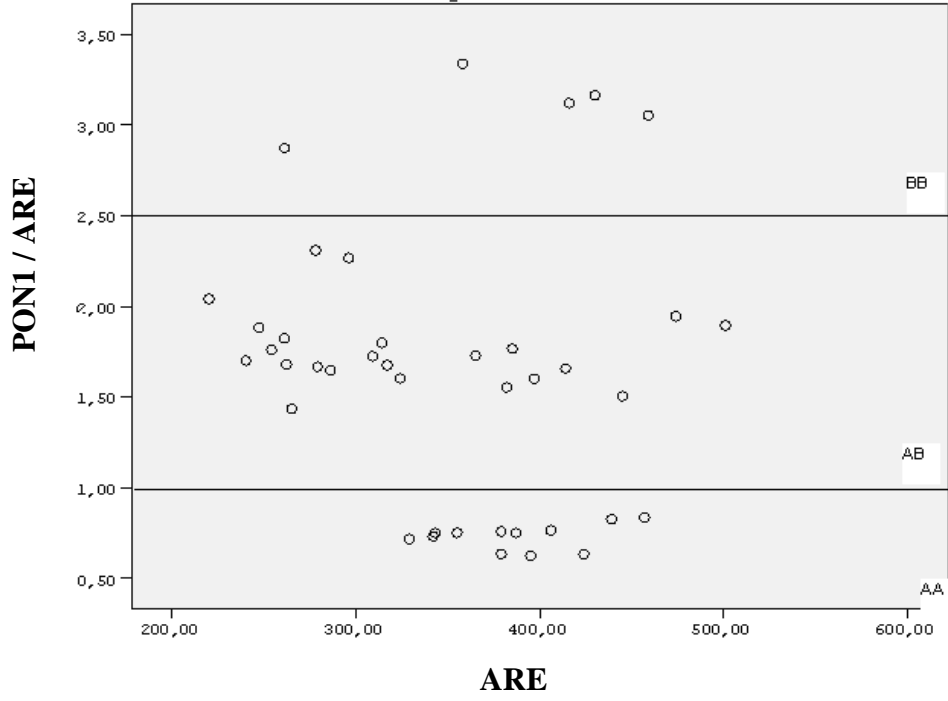
Dual substrat metodu ile kontrol ve hasta gruplarında PON1/ARE oranları saptandığında her iki grupta da bu oranların trimodal dağılıma sahip olduğu belirlenmiştir. Bu dağılıma göre PON1'in 192Q/R polimorfizmi için fenotipleme yapıldığında her iki grupta da homozigot AA (düşük aktivite), heterozigot AB (orta düzey aktivite), homozigot BB (yüksek aktivite) olmak üzere üç farklı fenotip belirlenmiştir ve fenotiplerin dağılımı ile frekansları Tablo 2'de verilmiştir. Kontrol

ve hasta gruplarının her ikisinde de PON1/ARE oranları 0,50-1,00 arasında olanlar AA; 1,00-2,50 arasında olanlar AB; 2,5-3,5 arasında olanlar BB fenotipi olarak belirlenmiştir (Şekil 15, Şekil 16).

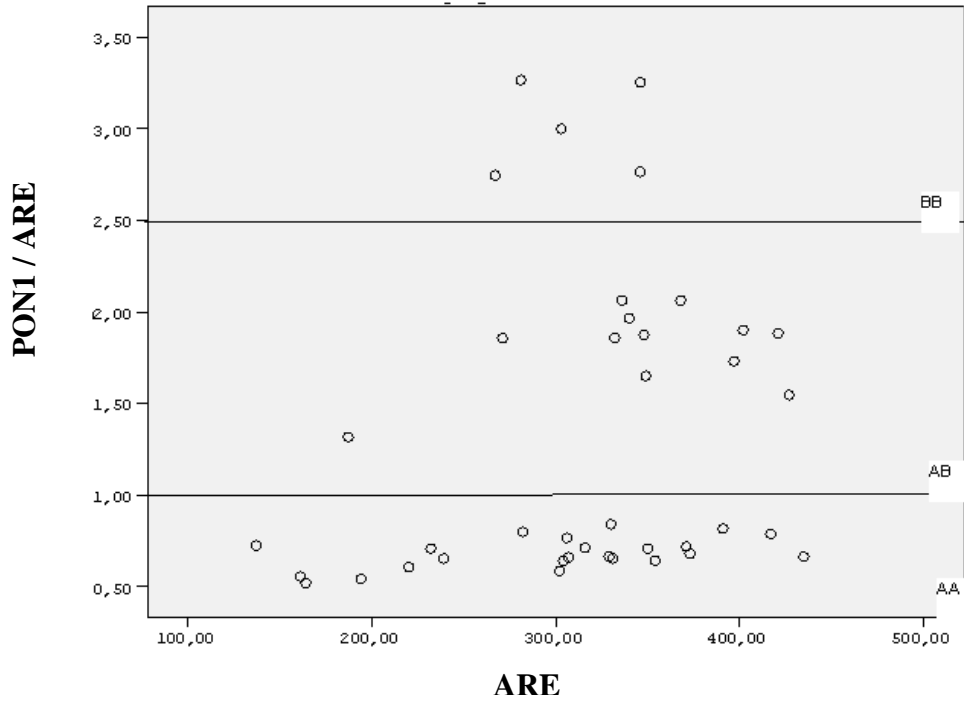
Tablo 2. Kontrol ve hasta gruplarında PON1 fenotiplerinin dağılımı ve fenotip frekansları

FENOTİPLER	KONTROL		HASTA	
	Sayı	%	Sayı	%
AA (düşük aktivite)	12	30	23	57,5
AB (heterozigot aktivite)	23	57,5	12	30
BB (yüksek aktivite)	5	12,5	5	12,5

Kontrol grubuna dâhil bireylerin fenotip dağılımı %30 AA, %57,5 AB, %12,5 BB şeklindedir ve bu dağılım *Hardy-Weinberg* dengesine uygun olarak bulunmuştur ($p=0,067$). Hasta grubundaki bireylerin fenotip dağılımı %57,5 AA, %30 AB, % 12,5 BB şeklindedir ve bu dağılım *Hardy-Weinberg* dengesine uygun değildir ($p<0,001$). Hasta grubunda Homozigot AA düşük aktivite fenotipine sahip bireylerin frekansı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fazladır.



Şekil 15. Kontrol grubundaki bireylerde PON1 fenotiplerinin dağılımı



Şekil 16. Hasta grubundaki bireylerde PON1 fenotiplerinin dağılımı

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada serum TOK düzeyleri hasta grubunda kontrol grubuna göre yüksek, TAK düzeyleri ise düşük bulunsa da her iki parametre açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p=0,110$ ve $p=0,081$). Ancak hasta grubunun OSİ oranları kontrol grubundakilerden istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek olduğu görüldü ($p=0,029$). Bu sonuçlar oksidan ve antioksidan parametrelerin tek başına etkilerinden çok, bunların beraber değerlendirilmesinin daha doğru olduğunu göstermektedir. OSİ'nin hasta grubunda istatistiksel anlamlı olarak yüksek olması, prostat kanserinde oksidatif stresin rolü olabileceğini göstermektedir.

Prostat kanseri patogenezinde oksidatif stresin yeri ile ilgili pek çok çalışma mevcuttur. Farklı ölçüm yöntemleriyle alınan homojen olmayan sonuçlar ve çalışmalarda farklı deneysel yöntemlerin kullanılması ölçülen parametrelerde geniş bir dağılım oluşturmaktadır (169). Pace G ve ark. (170) tarafından prostat kanserli hastalarda yapılan bir çalışmada oksi-LDL ve SOD açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunmamakla birlikte peroksit konsantrasyonu hasta grubunda anlamlı olarak fazla, TAK düzeyleri ise hasta grubunda anlamlı olarak düşük bulunmuştur. SOD ve oksi-LDL sonuçları açısından gruplar arasında anlamlı fark olmaması oksidatif hasarın endotel fonksiyonunu bozma yönündeki etkisi hakkındaki bilginin halen yetersiz olması ile açıklanmıştır. Çalışmada aynı zamanda hasta grubunda peroksit konsantrasyonu ile TAK düzeyleri arasında anlamlı pozitif korelasyon saptanmış, bunun nedeni olarak da hasta gruplarının erken evre prostat kanserli hastalardan oluşması gösterilmiştir. Erken evre prostat kanserli hastalarda antioksidan defansın oksidatif hasarı nötralize edebilmesi ve peroksit seviyesinin düşük olmasıyla beraber TAK'ın düşük düzeylerde hala savunma yapabildiği, ileri evre kanserlerde ise antioksidan enzimlerin tükenmesine bağlı olarak TAK'ın düştüğü belirtilmiştir. Araştırmacılar, deneysel ve klinik verilerin halen tartışmalı olmasına rağmen serbest radikallerin prostat hiperplazisinde ve karsinogenezin erken fazında etkili olduğu sonucuna varmışlardır. Bizim çalışmamızdaki hastalar da yeni tanı konulmuş erken evre prostat kanseri tanısı almış hastalardı. Ancak biz lipid peroksidasyonu ürünleriyle TOK ve TAK arasında bir korelasyon bulamadık.

Prostat kanserinde oksidatif ve nitrozatif stres durumu ve antioksidan enzim aktivitesinin araştırıldığı başka bir çalışmada prostat kanserli hastalardan oluşan grupta kontrol grubuna göre eritrosit MDA ve plazma $\text{NO}_2^- / \text{NO}_3^-$ seviyeleri anlamlı olarak yüksek bulunmuşken eritrosit GPx, eritrosit CuZn-SOD antioksidan enzimleri kontrol grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p < 0,001$). Araştırmacılar bu çalışma sonucunda oksidan-antioksidan durumun ve nitrozatif stresin lipid peroksitlerin meydana getirdiği DNA hasarına ikincil olarak prostat kanseri gelişimindeki önemine dikkat çekmişler (171).

Bulgularımıza göre serum MDA düzeyleri hasta grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Hasta grubunda oksidatif stresin daha yüksek bulunmasına rağmen bu sonuca ulaşılması çalışmamızın limitasyonlarına bağlı olabilir. Prostat dokusu hacminin küçük olması nedeniyle sirkülasyondan nispeten az etkilenen bir organdır. Bu yüzden ileriki çalışmalarda MDA'nın dokuda kümelenmesini araştırmak için deneysel çalışmalarla doku MDA bakılabileceği gibi çalışmamıza benzer şekilde yapılacak çalışmalarda eritrosit MDA ve plazma MDA düzeylerinin de çalışılması uygun olabilir.

Srivastava D ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada hasta grubunda serum MDA düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuşken ($p < 0,001$) antioksidan enzimlerden GSH ve GPx, kontrol grubunda hasta grubundan anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ($p < 0,001$ ve $p < 0,005$). Bu çalışmada oksidatif stresin artışına bağlı olarak meydana gelen MDA'nın prostat kanseri gelişimi için önemli olduğu vurgulanmıştır (172). Son yıllarda yapılmış başka bir çalışmada da plazma TBARS (tiyobarbitürik asit reaktif maddesi) düzeyleri hastalarda kontrollere göre anlamlı olarak yüksek bulunmuşken ($p < 0,01$); plazma GSH, GPx ve CAT düzeyleri kontrol grubunda hastalara göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p < 0,01$). E ve C vitamini seviyeleri açısından iki grup arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Bu çalışmada prostat kanserinde meydana gelen inflamatuvar süreçte SOR'nin aşırı üretiminin antioksidan defans sisteminde hasara neden olabileceği sonucuna varılmıştır (173). Prostat adenokarsinomlu hastalarda eritrosit SOD, eritrosit CAT, plazma seruloplazmin, plazma MDA düzeylerinin bakıldığı bir çalışmada plazma SOD ve CAT düzeyleri kontrol grubunda anlamlı olarak yüksek

($p < 0,0001$ ve $p < 0,01$) iken plazma seruloplazmin ve MDA düzeyleri hasta grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p < 0,001$ ve $p < 0,0001$) (174).

Reaktif oksijen türleri çok reaktif moleküllerdir ve hemen hemen tüm hücre komponentlerine saldırarak dokularda ileri derecede hasara yol açarlar. Süperoksit anyonu, hidroksil radikalleri ve hidrojen peroksit gibi serbest radikallerin üretimi sonucunda protein ve DNA hasarı, lipid peroksidasyonu ve buna bağlı olarak doku hasarlanması meydana gelmektedir. Biyolojik sistemlerde sürekli olarak üretilen serbest radikallerin etkileri C vitamini, glutatyon, E vitamini, glutatyon peroksidaz, katalaz, süperoksit dismutaz gibi enzimatik ve nonenzimatik antioksidan savunma sistemleri ile ortadan kaldırılmaktadır. Antioksidan savunma sisteminde ve onarım kapasitesinde azalma sonucu SOR üretimi artmakta ve buna bağlı olarak doku hasarı meydana gelmektedir (164). SOR üretimi ile antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin SOR üretimi yönünde artması ile meydana gelen oksidatif stres; ateroskleroz, diyabet ve komplikasyonları, neoplastik hastalıklar, deri yaşlanması, gastrointestinal sistemin kronik inflamatuvar hastalıkları, Alzheimer hastalığı ve diğer nörolojik bozuklukları kapsayan birçok patolojik durum ile ilişkilidir (165).

Oksidatif stres ve SOR artışının çeşitli kanser türlerin riskinin artmasıyla ilişkili olduğu bilinmektedir (65). Deneysel ve epidemiyolojik çalışmalarda karsinogenez oluşumunda serbest oksijen radikallerinin önemli rol oynadığı kanıtlanmıştır. Serbest oksijen radikalleri özellikle metal iyonlarının varlığında hücrede lipid, proteinler ve DNA ile reaksiyona girerek oksidatif hasara neden olmaktadır. DNA, SOR'den çok kolay etkilenen önemli bir hedeftir. SOR tarafından DNA'nın hasara uğratılması hücrede mutasyonlara ve ölüme yol açar ve DNA hasarının artması karsinogeneze neden olur (65).

Önceki çalışmalarda rat ve insan prostat dokularında oksidan-antioksidan dengedeki değişiklikler araştırılmış ve bu antagonist mekanizmalar arasındaki dengesizliğin prostat kanserinin başlangıcında major rol oynadığı vurgulanmıştır. Ancak bu dengesizliğin nedeni hakkında çok az fikir vardır. Androjenler, androjen durumu ile redoks dengesi arasında ilişki halen aydınlatılamasa da prostat dokusunda SOR dengesini düzenleyen en güçlü aday olarak kabul edilmektedir (175). Tam ve ark. kastrasyon oluşturulan ratlarda androjen replasmanı yaparak NADPH oksidazın

azaltılarak tekrar düzenlenmesi ve antioksidan enzimlerin artışı sayesinde ventral prostat dokularında oksidatif stres düzeylerinin azaldığını rapor etmişlerdir (176).

Hücrede redoks dengesinin korunmasına katkıda bulunan bir diğer önemli bileşen glutatyon oksidasyon-redüksiyon sistemidir. Nelson ve ark. tarafından yapılan çalışmada Glutatyon-S transferaz geninde inaktivasyona neden olan somatik mutasyonlar neredeyse tüm prostat kanserli olgularda tespit edilmiştir (177).

SOR'lerinin üretiminde mitokondriler major role sahiptir. Bu nedenle mtDNA'da meydana gelen mutasyonların prostat kanseri gelişimi için altta yatan önemli bir neden olması şaşırtıcı değildir. mtDNA mutasyonlarına kanser oluşumunda çok sık rastlanır. Bu mutasyonlar mitokondriyal disfonksiyona neden olarak ve metabolizmayı değiştirerek tümör oluşumuna katkıda bulunabilirler. Prostat dokusunda mtDNA mutasyonu meydana geldiğinde yeterli enerji üretebilmek için oksijenli solunum hızı artırılacağından daha fazla SOR üretilmekte ve kanser oluşumuna zemin hazırlanmaktadır. Bu yüzden mtDNA, prostat kanseri gelişiminde önemli bir role sahiptir (178).

Metallotioneinler üzerinde yapılan son çalışmalarda "metallo-bağlayan sisteinden zengin protein ailesi"nin oksidatif hasarın oluşmasında rol oynadığı ve prostat dokusunda oksidatif stresin aracılık ettiği prostat kanseri gelişiminde olası rol oynayabileceği belirtilmiştir (179).

Kronik inflamasyon, dokularda mutajenik SOR düzeylerini artırarak meme adenokarsinomu da dâhil olmak üzere birçok tümörden sorumlu tutulabilir (180). Bu doğrultuda prostatitlerin de prostat kanseri riskini küçük de olsa artırdığı bilinmektedir (181). Bakteriyel veya bakteriyel olmayan etkenlerle meydana gelen kronik prostatitlerde devreye giren nonspesifik immün defans sayesinde inflamatuvar hücrelerin uyarılması da prostat dokusunda hidroksil radikalleri, süperoksit radikalleri ve peroksitlerin oluşumu arttıran durumlardan biridir (182). Prostat dokusunun sürekli olarak inflamasyona maruz kalmasıyla oluşan SOR düzeyindeki dramatik artış protein yapı ve fonksiyonlarında değişikliklere, somatik genetik değişikliklere ve posttranslasyonel DNA modifikasyonlarına neden olur. Meydana gelen doku hasarını telafi etmek için epitel hücre proliferasyonu daha da artar ve böylece doku hasarı ilerleyerek prostatik neoplaziyle sonuçlanabilir (183). Ayrıca

kronik prostatitli hastalarda PSA düzeylerinde meydana gelen artışların prostat kanseri riskini artırdığına atıf yapan çalışmalar bulunmaktadır (181)

SOR prostat kanserinde sadece malign transformasyonda değil hastalığın ilerlemesinde ve agresif fenotipin meydana gelmesi için de önemlidir. Bu nedenle SOR'ne bağlı sinyal mekanizmalarının anlaşılması, prostat kanserinin önlenmesi ve yeni tedavilerin geliştirilmesi açısından umut vericidir.

SOR'nin önemli etkilerinden biri de lipid peroksidasyonudur. Çoklu doymamış yağ asitlerinin zincirleme bir radikal reaksiyonu olan lipid peroksidasyonu sırasında karbon bağlarının kopması ile aldehit yapısında yıkım ürünleri ortaya çıkar. Sitotoksik özellik gösteren bu metabolitler MDA gibi alkaneller ve 4-hidroksinonenal gibi hidroksialkanellerdir. Malondialdehit lipid peroksidasyonunun son ürünüdür ve oksidatif hasarın in vivo göstergesi olarak en sık kullanılan belirteçtir. MDA gibi reaktif aldehitler oluştukları bölgeden uzağa diffüze olabildikleri için uzak bölgelerde de doku hasarına sebep olabilirler (77). MDA en çok linoleik asit, araşidonik asit, dokosaheksaenoik asit gibi ikiden fazla çift bağ içeren doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu ile oluşur. Bazen eikozonoidlerin enzimatik metabolizması sırasında da ortaya çıkabilir. Malondialdehit pH değişikliklerine bağlı olarak değişik izoformlarda bulunabilir. Fizyolojik pH'da serbest enolat formunda bulunan MDA, amino gruplarına karşı düşük reaktivite gösterirken düşük pH'da reaktivitesi artar ve proteinlere saldırır. MDA özellikle lizin kalıntıları olmak üzere birçok kalıntıda modifikasyonlara, molekül içi ve moleküller arası çapraz bağların oluşumuna neden olur. MDA'nın hücre membranlarının geçirgenliğini arttırdığı, membranların iyon alışverişine etki ederek hücre içi iyon dengesini bozduğu, enzim aktivitelerinin bozulmasına, DNA'nın yapısında kırılmalara ve baz değişimlerine neden olduğu bildirilmektedir (77).

Özellikle kardiyovasküler hastalıkların oluşumu için başlatıcı faktörlerden biri olan hiperkolesterolemi özellikle LDL'nin oksidasyona (okside LDL) karşı duyarlılığı ile ilişkilidir (184). HDL ise antiaterojenik olarak bilinmektedir ve PON1'e bağlı güçlü antioksidan ve antikanserojenik özellikleri de bulunmaktadır. PON1, serumda özellikle HDL'ye bağlı olarak bulunur ve hem HDL hem de LDL'yi serbest radikallerden kaynaklanan oksidasyona karşı korur. Bu koruyucu aktivitesi

büyük olasılıkla aktive fosfolipidleri ve/veya lipid peroksidleri hidrolize edebilme özelliğine bağlıdır.

Aviram ve ark. PON1 aktivitesinin, lipid peroksidlerin varlığında okside lipidlerin enzimin serbest sülfidril gruplarını etkilemesiyle inhibe olduğunu vurgulamaktadırlar (185). Önceki çalışmaların sonuçlarına göre serum kolesterolü arttığında LDL'nin oksidasyona meyilinin arttığı ve aynı zamanda PON1 aktivitesinin de azalabileceği belirtilmiştir (186). Biz, çalışmamızda TKOL ve LDL-K düzeylerini kontrol grubunda hasta grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulduk ($p=0,044$ ve $p=0,026$). Bununla beraber hasta ve kontrol grubunda TKOL ve LDL-K ile TOK ve OSİ arasında anlamlı korelasyon bulamadık. TKOL ve LDL-K düzeylerinin kontrol grubunda anlamlı fazla olması kolesterolün yüksek seviyelerinin PON1 aktivitesini azaltabilmesinden dolayı PON1 aktivitesi açısından grupları birbirine yaklaştırmış olabilir. Bu durum ayrıca kontrol grubundaki MDA seviyelerinin hasta grubundaki seviyelere yaklaşp iki grup arasındaki farkın anlamlı olarak saptanmasına engel olmuş olabilir. Yapılan çalışmalarda PON1 aktivitesi akciğer, pankreas, mide, özofagus, over kanseri gibi çeşitli kanser türlerinde sağlıklı kontrollere göre düşük bulunmuştur (187, 188, 189, 190, 191).

Elkiran ve ark. nın yaptıkları bir çalışmada Akciğer kanserli hastalarda PON1 ve ARE düzeyleri hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı düşük bulmuşlardır ($p=0,001$ ve $p=0,018$). Bu çalışmada lipid parametreleri açısından iki grup arasında anlamlı fark bulunamamış, ancak hasta ve kontrollerde PON1 ve HDL düzeyleri arasında pozitif anlamlı korelasyon bulunmuştur ($r=0,496$; $p=0,001$ ve $r=0,415$; $p=0,009$). Bu çalışmada paraoksonaz aktivitesindeki düşüşün nedeninin tam olarak anlaşılammakla birlikte lipid peroksidasyonunun artarak bu enzimin aktivitesini inhibe etmesi ile açıklanabileceği sonucuna varılmıştır (187).

Over kanseri olan hastalarda yapılan bir çalışmada -SH düzeyleri kontrollerde anlamlı yüksek bulunmuşken, LOOH düzeyleri hastalarda anlamlı yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte PON1 ve ARE düzeyleri hastalarda kontrollere göre anlamlı düşük bulunmuş, ayrıca PON1 düzeyleri -SH ile anlamlı pozitif korele, LOOH ile anlamlı negatif korele bulunmuştur. Çalışmada LOOH artışının lipid peroksidasyonunun arttığını gösterdiği ve artışın antioksidanların azalmasına neden olduğu belirtilmiştir. Araştırmacılar ayrıca düşük PON1

aktivitesinin lipid peroksidasyonunun artması yoluyla over kanseri patogenezi etkileyebileceğini bildirmişlerdir. Çalışmada ayrıca total kolesterol ve HDL kolesterol düzeyleri hastalarda kontrollere göre anlamlı olarak düşük bulunmuş ve bu durumun kolesterolün tümör hücreleri tarafından kullanılmasına bağlı olabileceği belirtilmiştir (188). Gerçekten de bazı çalışmalarda çeşitli kolesterol formlarının malign tümör hücreleri tarafından alınıp kullanıldığını gösterilmiştir (192-193). Bizim çalışmamızda hasta grubundaki TKOL ve LDL-K sonuçlarını kontrol grubuna göre anlamlı düşük bulmamız bu mekanizmayla açıklanabilir.

Başka çalışmalarda Akçay ve ark. pankreatik ve gastrik kanserlerde PON1, HDL, LDL, VLDL düzeylerini araştırmışlar (189-190). Bu çalışmalarda serum PON1 düzeyleri her iki kanser türü için de hastalarda kontrollere göre anlamlı olarak düşük bulunmuş. Serum HDL düzeyleri her iki kanser türü için hastalarda anlamlı düşük bulunmuşken serum VLDL düzeyleri sadece gastrik kanserli hastalarda daha düşük bulunmuştur. Serum LDL düzeyleri iki kanser türünde de gruplar arasında anlamlı farklı bulunmamışken serum PON1 düzeyleri ve HDL düzeyleri arasında anlamlı pozitif korelasyon bulunmuştur. Bu çalışmalarda, ileri çalışmalara gerek duyulmakla birlikte PON1'in kanser gelişim riski için bir prediktif faktör olabileceğine dikkat çekilmiştir.

Biz, çalışmamızda serum PON1 ve ARE düzeylerini hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı düşük bulduk ($p= 0,040$ ve $0,027$). Bu sonuçlar paraoksonaz-kanser ilişkisini araştıran birçok çalışma ile paralellik göstermektedir. İki grup arasındaki bu fark gruplar arasında HDL-K seviyeleri anlamlı farklı olmadığı için HDL kolesterol düzeylerine bağlanamaz. Çalışmamızda ayrıca PON1 ile TAK, TOK, OSİ, MDA arasında anlamlı korelasyon bulamadık. Literatürde prostat kanserinde PON1 ile bu parametrelerin birlikte çalışıldığı ve aralarındaki ilişkinin araştırıldığı başka bir çalışma bulamadık. Ayrıca PON1 ile HDL-K seviyeleri arasında da anlamlı korelasyon saptamadık. Bahsettiğimiz gibi Elkiran ve ark. (187) ile Akçay ve ark. (189, 190) çeşitli kanser türlerinde bu parametreler açısından anlamlı pozitif korelasyon bulmuşlar. Prostat kanserli hastalarda PON1 düşüklüğünün nedeni bu enzimin aktivitesinin çok fazla varyasyon göstermesi ve regülasyonunun karmaşık olmasından dolayı tam olarak anlaşılamamıştır. Ancak muhtemel neden oksidatif strese bağlı lipid peroksidasyonunun artması ve bu lipid peroksidatörlerin PON1'in

serbest sülfidril gruplarına bağlanarak enzimin aktivitesini inhibe etmesi olabilir. Bir diğer mekanizma ise süperoksit anyon radikalinin PON1'in protein yapısını değiştirmek suretiyle onun inaktivasyonuna yol açması olabilir (194). Başka bir mekanizma IL-1, TNF- α gibi mediatörler tarafından PON1 aktivitesinin azaltılmasıdır (195). IL-1 ve TNF- α düzeylerinin kanserli hastalarda arttığı bazı çalışmalarda gösterilmiştir (196). Bir diğer mekanizma kanserli hastalardaki inflamatuvar yanıtı bağılı olarak PON1 aktivitesinin düşmesidir. Van Lenten ve ark. akut faz yanıtı sürecinde HDL'deki PON1 aktivitesinin kaybına bağılı olarak HDL'nin proinflamatuvar hale geldiğini bildirmişler (197). Feingold ve ark. ise lipopolisakkarit enjekte edilerek akut faz yanıtı indüklenen ratlarda PON1 aktivitesi ve hepatic PON1 mRNA ekspresyonunun azaldığını gözlemlemişlerdir (198). PON1 aktivitesinin azalmasına neden olabilecek bir diğer mekanizma genetik bir defekt nedeniyle PON sentezinin baskılanması olabilir (199, 200, 201). Stevens ve ark. PON1 192Q/R ve L55M polimorfizmleri ile prostat kanseri riski arasındaki ilişkiyi araştırmışlar. Bu çalışmada her iki polimorfizm açısından varyant allellerin agresif prostat kanseri gelişim riskiyle anlamlı ilişkili olduğu gözlenmiş ve bu polimorfizmlerin muhtemelen PON1 aktivitesini düşürerek bu etkiye neden olabileceği sonucuna varılmıştır (200). Finlandiya popülasyonunda prostat kanserli bireyler ve sağlıklı kontrollerde PON1 I-102-V polimorfizminin araştırıldığı bir çalışmada PON1 I-102-V allelinde RR fenotipinin 6 kat daha fazla olduğu ve bu sonucun prostat kanseri riskini arttırdığı tespit edilmiştir (201).

Bizim çalışmamızda Eckerson ve ark. nin metoduna göre hasta ve kontrol gruplarında PON1 fenotipleri belirlendi (168). Eckerson ve ark. serum paraoksonaz ve arilesteraz aktiviteleri oranlarının trimodal dağılım oluşturduklarını ve bu dağılımın kalıtsal özellikler açısından mendeliyan karakteristikler gösterdiklerini saptamışlar. Birbirleri üzerine çakışma oluşturmaksızın meydana gelen bu dağılımın paraoksonaz aktivitesi açısından 3 ayrı fenotipi belirlediği (AA, AB, BB veya QQ, QR, RR) ve bu fenotiplerin PON1 192Q/R polimorfizmi için aynı şekilde adlandırılan 3 genotiple uyumlu olduğu kararına varılmıştır (168). Literatürde prostat kanserinde PON1 fenotiplemesinin yapıldığı bir çalışmaya rastlamadık. Ancak çeşitli kanser türlerinde PON1 fenotiplemesinin yapıldığı çalışmalar literatürde mevcuttur. Bunlardan birisi akciğer kanserli Türk hastalarda ve sağlıklı kontrollerde yapılan bir

çalışmadır. Bu çalışmada PON1 192Q/R polimorfizmi için AA düşük aktivite fenotipi hastalarda kontrollere göre anlamlı daha fazla bulunmuşken, BB yüksek aktivite fenotipi kontrollerde hastalara göre anlamlı daha fazla bulunmuştur. Çalışmada PON1 aktivitesi açısından AA fenotipine sahip olmanın akciğer kanseri açısından artmış riskle ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır (187).

Yüksek evreli glioma ve meninjiomalarda PON1 aktivitesinin ölçüldüğü ve 192Q/R polimorfizmi için PON1 fenotiplemesinin yapıldığı başka bir çalışmada PON1 aktivitesi hastalarda kontrollere göre anlamlı düşük bulunmasına rağmen iki grup arasında PON1 fenotip dağılımı açısından anlamlı fark bulunamamıştır. Bu çalışmada hastalardaki PON1 düşüşünün bu kanser türlerinin gelişimiyle ilişkili olabileceği sonucuna varılmıştır (202). Meme kanserli hastalarda serum PON1 aktivitesi ve 192Q/R polimorfizmi için PON1 fenotiplemesinin yapıldığı başka bir çalışmada hasta grubunda PON1 aktivitesi sağlıklı kontrollere göre anlamlı düşük bulunmuş. Fenotipleme sonucunda ise hasta grubunda AA fenotipi, kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlara göre düşük aktiviteli AA fenotipinin hastalarda yüksek olmasıyla PON aktivitesinin düşmesinin meme kanseri gelişme riskiyle ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır (203).

Biz, kontrol grubunda PON1 192Q/R polimorfizmi için PON1 fenotiplemesi yaptığımızda fenotip frekanslarının *Hardy-Weinberg* dengesinden sapma göstermediğini saptadık ($p=0,067$). Hasta grubunda ise PON1 fenotip frekanslarının *Hardy-Weinberg* dengesinden AA düşük aktiviteli fenotip yönünde sapma gösterdiğini gözlemledik ($p<0,0001$). Bu aynı zamanda hasta grubunda düşük aktiviteye sahip AA fenotip frekansının kontrol grubundaki AA fenotip frekansına göre anlamlı olarak yüksek olduğu anlamına gelmektedir.

Bu sonuçlar doğrultusunda oksidatif strese bağlı olarak gelişen lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu rol oynadığı bilinen paraoksonazın 192 Q/R polimorfizminin, prostat kanserli hastalarda bu enzimin aktivitesinin düşmesine neden olarak prostat kanseri gelişimi ile ilişkili olabileceği söylenebilir. Prostat kanserli hastalarda Echerson ve ark.'nın yöntemine göre yapılan PON1 fenotiplemesinin, ileri araştırmalarla birlikte bu hastalığının gelişimini önceden saptamak için için prediktif değeri olabilir. Ancak yine de daha büyük hasta

kohortuyla ileri çalışmalar yapılarak çalışmanın verilerinin desteklenmesi gerekmektedir.

6. SONUÇLAR

Çalışmamızda prostat kanserli hastalarda oksidan-antioksidan dengenin bozulmasıyla oksidatif stresin oluştuğu gösterilmiştir. Oluşan oksidatif stres lipid peroksidasyonu aracılı karsinogenez oluşum mekanizmalarında önemli rol üstlenebilir.

Serum PON1 ve ARE aktiviteleri hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur. PON1, sentezlenmesi ve aktivitesi oksidatif stresin düzeyine bağlı olarak değişim gösteren bir enzim olduğu için ileri çalışmalarla etki mekanizmasının daha iyi anlaşılmasıyla birlikte birçok kanser türünde olduğu gibi prostat kanserinde de ihtiyaç duyulan prediktif değere sahip belirteçlerden birisi olabilir.

PON1 fenotiplemesi de bu enzimin aktivitesi açısından önemli olan 192 Q/R polimorfizmini taşıyan bireylerin belirlenmesi açısından ileriki yıllarda önem kazanacak ucuz ve kolay işlemlerden birisi olabilir.

7. KAYNAKLAR

1. Engin A, Altan N. Effects of obstructive jaundice on the antioxidative capacity of human red blood cells. *Hematologia*. 2000;30(2):91-96.
2. Yardım-Akaydın S, Sepici A, Özkan Y, Torun M, Şimşek B, Sepici V. Oxidation of Uric Acid in Rheumatoid Arthritis: Is Allontoin a Marker of Oxidative Stress? *Free Radic Res*. 2004;38(6):623-628.
3. Babior BM. Phagocytes and oxidative stress. *Am J Med*. 2000;109(1):33-44.
4. Jackson AL, Loeb LA. The contribution of endogenous sources of DNA damage to the multiple mutations in cancer. *Mutat Res*. 2001;477:7-21.
5. Behrend L, Henderson G, Zwacka RM. Reactive oxygen species in oncogenic transformation. *Biochem Soc Trans*. 2003;31:1441-1444.
6. Connolly JL, Schnitt SJ, Wang HH, Longtine JA, Dvorak A, Dvorak HF. Principles of Cancer Pathology. pp:487-502, *Cancer Medicine*, Hamilton-BC Decker London, UK, 2003.
7. Jemal A, Tiwari RC, Murray T, Ghafoor A, Samuels A, Ward E et al. Cancer statistics. *CA Cancer J Clin*. 2004;54:8-29.
8. Brennan P. Gene-environment interaction and aetiology of cancer: what does it mean how can we measure it? *Carcinogenesis*. 2002;23:381-387.
9. Gutteridge JM. Free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence. *Free Radic Res Commun*. 1993;19:141-158.
10. Cobanoglu U, Demir H, Duran M. Erythrocyte catalase and carbonic anhydrase activities in lung cancer. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2010;11(5):1377-1382.
11. Blatter MC, James RW, Messmer S, Barja F, Pometta D. Identification of a distinct human highdensity lipoprotein subspecies defined by a lipoprotein-associated protein, K-45. Identity of K-45 with paraoxonase. *Eur J Biochem*. 1993;211:871-879.

12. Mackness MI, Arrol S, Durrington PN. Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low-density lipoprotein. *FEBS Lett.* 1991;286:152-154.
13. Greenlee RT, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics, 2000. *CA Cancer J Clin.* 2000;50:7-33.
14. McCord JM. Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem.* 1993;26:351-357.
15. Cheeseman KH, Stater TF. An Introduction to Free Radical Biochemistry. *Br Med Bull.* 1993;149:481-93.
16. Nakazawa H, Genka C, Fujishima M. Pathological aspects of active oxygens/free radicals. *Jpn J Physiol.* 1996;46:15-32.
17. Halliwell B. Oxidative stress, nutrition and health. Experimental strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in humans. *Free Radic Res.* 1996;25:57-74.
18. Halliwell B, Gutteridge JMC. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview. *Methods Enzymol.* 1990;186:1-85.
19. Uchida K. 4-Hydroxy-2-Nonenal: a product and mediator of oxidative stress. *Prog Lipid Res.* 2003;569:1-26.
20. Vincent AM, Russell JW, Low P, Feldman EL. Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Endocr Rev.* 2004;4:612-628.
21. Fang YZ, Yang S, Wu G. Free Radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition.* 2002;18:872-879.
22. Kılınç K, Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi.* 2002;33(2):110-118.
23. Frei B. Reactive oxygen species and antioxidant vitamins: mechanisms of action. *Am J Med.* 1994;97(3A):5S-13S.
24. Lee J, Koo N, Min DB. Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Comp Rev Food Sci Food Safety.* 2004;3:21-33.

25. Ryter SW, Tyrrell RM. Singlet molecular oxygen ($^1\text{O}_2$): a possible effector of eukaryotic gene expression. *Free Radic Biol Med.* 1998; 24(9):1520-1534.
26. Merel A, Tuncel P, Surmen-gur E, Ozbek R, Ozturk E, Gunay UC. Lipid Peroxidation and Antioxidant Status in Beta-Thalassemia, *Pediatr Hematol Oncol.* 2000;17:687-693.
27. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Biosynthesis of nitric oxide from L-arginin: A pathway for the regulation of cell functyon and communication. *Biochem Pharmacol.* 1989;38:1709-1715.
28. Kwon NS, Stuehr DS, Nathan CF. Inhibition of tumor cells ribonucleotide reductase by nitric oxide. *J Exp Med.* 1991;1794(4):442-448.
29. Yallampalli DVM, Smith MB, Sharon MS. Steroid hormones modulate the production of NO and cGMP in the rat uterus. *Endocrinology.* 1994;134(4):1971-1974.
30. Allen RG, Tresini M. Oxidative stress and gene regulation. *Free Radic Biol Med.* 2000;28:463-499.
31. Borek C, Ong A, Mason H, Donahue L, Biaglow JE. Selenium and vitamin E inhibit radiogenic and chemically induced transformation in vitro via different mechanisms. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1986;83:1490-1494.
32. Memişoğulları R. Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi.* 2005;3:30-39.
33. Akkuş İ. Serbest oksijen radikalleri ve fizyopatolojik etkileri. *Mimoza Basım Yayın ve Dağıtım.* pp:1-20, Konya,1995.
34. Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol.* 2001;54:176-186.
35. Guemori L, Artur Y, Herbeth B, Jeandel C, Cunny G, Siest G. Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in blood. *Clin. Chem.* 1991;37:1932-1937.

36. Van Haaften RI, Evelo CT, Penders J, Eijnwachter MP, Haenen GR, Bast A. Inhibition of human glutathione S-transferase P1-1 by tocopherols and alpha-tocopherol derivatives. *Biochim Biophys Acta*. 2001;1548(1):23-28.
37. Onat T, Emerk K. *Karbohidratlar: Temel Biyokimya*. Birinci baskı. pp:289-409, İzmir, 1996.
38. Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol*. 2001;54:176-186.
39. Seven A, Candan G. Antioksidan savunma sistemleri. *Cerrahpasa J Med*. 1996;27:41-50.
40. Chao JC, Huang CH, Wu SJ, Yang SC, Chang NC, Shieh MJ, Lo PN. Effects of beta-carotene, vitamin C and E on antioxidant status in hyperlipidemic smokers. *J Nutr Biochem*. 2002;13:427-434.
41. Cherubini A, Ruggiero C, Polidori MC, Mecocci C. Potential markers of oxidative stress in stroke. *Free Radic Biol Med*. 2005;39:841-852.
42. Carr A, Frei B. Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions? *FASEB J*. 1999;13(9):1007-1024.
43. Sözmen EY. Yaşlanma Biyokimyası. In Onat T, Emerk K, Sözmen EY (Eds) *İnsan Biyokimyası*, Palme Yayıncılık, pp: 665-674, Ankara, 2002.
44. Barlas A, Cevik H, Arbak S, Bangir D, Sener G, Yegen C, et al. Melatonin protects against pancreaticobiliary inflammation and associated remote organ injury in rats: role of neutrophils. *J Pineal Res*. 2004;37:267-275.
45. Reiter RJ, Tan DX, Gitto E, Sainz RM, Mayo JC, Leon J, et al. Pharmacological utility of melatonin in reducing oxidative cellular and molecular damage. *Pol. J Pharmacol*. 2004;56:159-170.
46. Kalia K, Flora SJS. Strategies for safe and effective therapeutic measures for chronic arsenic and lead poisoning. *J Occup Health*. 2005;47:1-21.

47. Nordberg J, Arner ES. Reactive oxygen species, antioxidants and mammalian hirodoxin systems. *Free Radic Biol Med.* 2001;31:1287-1312.
48. Kim H, Mani I, Iversen, L, Ziboh V. Effects of naturally occurring flavonoids and bioflavonoids on epidermal cyclooxygenase and lipoxygenase from guinea pigs. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids.* 1998;58:17-24.
49. Brenneisen P, Steinbrenner H, Sies H. Selenium, oxidative stress, and health aspects. *Mol Aspects Med.* 2005;26:256-267.
50. Schuyer M, Berns EM. Is TP53 dysfunction required for BRCA1-associated carcinogenesis? *Mol Cell Endocrinol.* 1999;155:143-152.
51. Uysal M. Serbest radikaller, lipit peroksitleri ve organizmada prooksidan-antioksidan dengeyi etkileyen koşullar. *Klinik Gelişim.* 1998;2:336-341.
52. Basaga HS. Biochemical aspect of free radicals. *Biochem. Cell Biol.* 1990;68,989-998.
53. Yıldırım Sözmen E. Yaşlanma biyokimyası. Ed: Onat T, Yıldırım Sözmen E, İnsan biyokimyası. pp:665-674. Palme yayıncılık, Ankara, 2002.
54. Davies MJ, Fu S, Wang H, Dean RT. Stable markers of oxidant damage to proteins and their application in the study of human disease. *Free Radic Biol Med.* 1999;27(11-12):1151-1163.
55. Maxwell SRJ. Prospect for use of antioxidant therapies. *Drugs.* 1995;49(3):345-61.
56. Esterbauer H, Wag G, Phul H. Lipid peroxidation and its role in atherosclerosis. *Br Med Bull.* 1993;493:566-576.
57. Kang DH. Oxidative stress, DNA damage, and breast cancer. *AACN Clin Issues.* 2002;13:540-549.
58. McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med.* 1985;312:159-163.

59. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab Invest.* 1982;47:412-426.
60. Halliwell B, Aruoma OI. DNA damage by oxygen-derived species. Its mechanism and measurement in mammalian systems. *FEBS Lett.* 1991;281:9-19.
61. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet.* 1994;344:721-724.
62. Evans MD, Cooke MS. Factors contributing to the outcome of oxidative damage to nucleic acids. *Bioassays.* 2004;26(5):533-542.
63. Nalçacı, E. Kan-beyin bariyerinin yıkılışında serbest oksijen radikallerinin rolü. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Uzmanlık Tezi. Ankara 1991.
64. Marnett LJ. Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis.* 2000; 21: 361-370.
65. Dreher D, Junod AF. Role of oxygen free radicals in cancer development. *Eur J Cancer.* 1996; 32A: 30-38.
66. Klaunig JE, Kamendulis LM. The role of oxidative stress in carcinogenesis. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2004;44:239-267.
67. Halliwell B. Oxidative stress and cancer: have we moved forward? *Biochem J.* 2007;401(1):1-11.
68. Kang DH. Oxidative stress, DNA damage, and breast cancer. *AACN Clin Issues.* 2002; 13: 540-549.
69. Marnett LJ. Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis.* 2000;21: 361-370.
70. Özkan A, Fışkın K. Serbest oksijen radikalleri, karsinogenez ve antioksidant enzimler. *Türk Hematoloji Onkoloji Dergisi.* 2004;14:52-60.

71. Ray G, Husain SA. Oxidants, antioxidants and carcinogenesis. *Indian J Exp Biol.* 2002;40:1213-1232.
72. Quintanilla M, Brown K, Ramsden M, Balmain A. Carcinogen-specific mutation and amplification of Ha-ras during mouse skin carcinogenesis. *Nature.* 1986;322:78-80.
73. Borras J, Gomes MC, Vina J. The dual role of p53: DNA protection and antioxidant. *Free Radic Res.* 2011;45(6):643-652.
74. Hussain SP, Aguilar F, Amstad P, Cerutti P. Oxy-radical induced mutagenesis of hotspot codons 248 and 249 of the human p53 gene. *Oncogene.* 1994;9:2277-2281.
75. Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B, Harris CC. p53 mutations in human cancers. *Science.* 1991;253:49-53.
76. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact.* 2006;160(1):1-40.
77. Halliwell B, and Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine.* Newyork: Oxford University Press Inc. 2007:55-79.
78. Khandrika L, Kumar B, Koul S. Role of Oxidative Stress in Prostate Cancer. *Cancer Lett.* 2009;282(2):125-136.
79. Sander CS, Chang H, Hamm F, Elsner P, Thiele JJ. Role of oxidative stress and the antioxidant network in cutaneous carcinogenesis. *Int J Dermatol.* 2004;43:326-335.
80. Frenkel K, Gleichauf C. Hydrogen peroxide formation by cells treated with a tumor promoter. *Free Radic Res Commun.* 1991;12-13,(2):783-794.
81. Marnett LJ. Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis.* 2000;21: 361-370.

82. O'Connell JF, Klein-Szanto AJ, DiGiovanni DM, Fries JW, Slaga TJ. Enhanced malignant progression of mouse skin tumors by the free-radical generator benzoyl peroxide. *Cancer Res.* 1986;46:2863-2865.
83. Juretic D, Tadijanovic M, Rekić B, Simean-Rudolf V, Reiner E, Baricic M. Serum paraoxonase activities in hemodialyzed uremic patients: cohort study. *Clin Sci.* 2001;42:146-150.
84. Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, et al. Paraoxonase inhibits high density lipoprotein oxidation and preserves its functions. *J Clin Invest.* 1998;101(8):1581-1590.
85. Memişoğulları R, Orhan N. Paraoksonaz ve kanser. *Konuralp Tıp Dergisi.* 2010;2(2):22-26.
86. Uriel J. Characterization of cholinesterase and other carboxylic esterases after electrophoresis and immunoelectrophoresis on agar. I. Application to the study of esterases of normal human serum. *Ann Inst Pasteur (Paris).* 1961;101:104-119.
87. Mackness MI, Hallam SD, Peard T, Warner S, Walker CH. The separation of sheep and human serum "A"-esterase activity into the lipoprotein fraction by ultracentrifugation. *Comp Biochem Physiol B.* 1985; 82: 675-677.
88. Mackness MI, Mackness B, Durrington PN, Connelly PW, Hegele RA. Paraoxonase: biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoproteins. *Curr Opin Lipidol.* 1996;7:69-76.
89. Humbert R, Adler DA, Distèche CM, Hassett C, Omiecinski CJ, Furlong CE. The molecular basis of the human serum paraoxonase activity polymorphism. *Nat Genet.* 1993;3:73-76.
90. Primo-Parmo SL, Sorenson RC, Teiber J, La Du BN. The human serum paraoxonase/arylesterase gene (PON1) is one member of a multigene family. *Genomics.* 1996;33:498-507.

91. Gan KN, Smolen A, Eckerson HW, La Du BN. Purification of human serum paraoxonase/arylesterase. Evidence for one esterase catalyzing both activities. *Drug Metab Dispos.* 1991;19:100-106.
92. Balcı Ekmekçi Ö, Donma O, Ekmekçi H. Paraoksonaz. *Cerrahpaşa J Med.* 2004;35(2):78-82.
93. Harel M, Aharoni A, Gaidukov L, ve ark. Structure and evolution of the serum paraoxonase family of detoxifying and anti-atherosclerotic enzymes. *Nat Struct Mol Biol.* 2004;11:412-419.
94. Lourdes R, Bharti M, Durlington PN, Hernandez A, Mackness MI. Hydrolysis of platelet activating factor by human serum paraoxonase. *Biochem J.* 2001;354:1-7.
95. Josse D, Xie W, Renault F. Identification of residues essential for human paraoxonase (PON1) arylesterase/organophosphatase activities. *Biochemistry.* 1999;38:2816-2825.
96. Khersonsky O, Tawfik DS. Structure-reactivity studies of serum paraoxonase PON-1 suggest that its native activity is lactonase. *Biochemistry.* 2005;44:6371-6382.
97. Sorenson RC, Bisgaier CL, Aviram M, Hsu C, Billecke S, La Du BN. Human serum Paraoxonase/Arylesterase's retained hydrophobic N-terminal leader sequence associates with HDLs by binding phospholipids: apolipoprotein A-I stabilizes activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999;19:2214-2225.
98. Rodrigo L, Hernandez F, Caballero L, Gil F, Pla A. Immunohistochemical evidence for the expression and induction of paraoxonase in rat liver, kidney, lung and brain tissue. Implications for its physiological role. *Chem Biol Interact.* 2001;137:123-137.
99. Dragonov DI ve La Du NB. Pharmacogenetics of paraoxonases: a brief review. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* 2004;369:78-88.

100. Mackness MI, Arrol S, Durrington PN. Substrate specificity of human serum paraoxonase. *Biochem Soc Trans.* 1991;19(3):304s.
101. Başkol G, Köse K. Paraoksonaz, biyokimyasal özellikleri, fonksiyonları ve klinik önemi. *Erciyes Tıp Dergisi (Erciyes Medical Journal).* 2004;26(2):75-80.
102. Mackness MI, Arrol S, Durrington PN. Paraoksonase prevents accumulation of lipoperoxides in low density lipoprotein. *FEBS Lett.* 1991;286(1-2):152-154.
103. Ayub A, Mackness MI, Arrol S. Serum paraoxonase after myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999;19:330-335.
104. Hahn M, Subbiah MT. Significant association of lipid peroxidation products with high density lipoproteins. *Biochem Mol Biol Int.* 1994; 33:699-704.
105. Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, Newton RS, Primo-Paromo SL, La Du BN. Paraoxonase inhibits high-density lipoprotein oxidation and preserves its functions. A possible peroxidative role for paraoxonase. *J Clin Invest.* 1998;101:1581-1590.
106. Watson AD, Berliner JA, Hama SY. Protective effect of high density lipoprotein associated paraoxonase. Inhibition of the biological activity of minimally oxidised low density lipoprotein. *J Clin Invest.* 1995;96: 2882-2891.
107. Durrington PN, Mackness B, Mackness MI. Role of HDL in preventing atherogenic modification of LDL. *Atherosclerosis.* 1999;146(suppl):813-835.
108. Wilkins GM, Leae DS. The effect of free radical scavenger on the oxidation of low density lipoproteins by macrophages. *Biochim Biophys Acta.* 1994;1215:250-258.
109. Hong-Liang L, Depei L, Chihj-Chuan L. Paraoxonase gene polymorphisms, oxidative stress and diseases. *J Mol Med.* 2003;81:766-779.

110. Mackness B, Durrington PN, Mackness MI. Human serum paraoxonase. *Gen Pharmacol.* 1998;31:329-336.
111. Seres I, Paragh G, Deschene E, Fulop T Jr, Khalil A. Study of factors influencing the decreased HDL cholesterol associated PON1 activity with aging. *Exp Gerontol.* 2004;39:59-66.
112. Bayrak T, Bayrak A, Demirpençe E, Kılınç K. (2005) Yeni bir kardiyovasküler belirteç adayı: paraoksonaz. *Hacettepe Tıp Dergisi.* 2005;36:147-151.
113. Jarvik GP, Tsai NT, McKinstry LA. Vitamin C and E intake is associated with increased paraoxonase activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002;22:1329-1333.
114. Debord J, Dantoine T, Bollinger JC. Inhibition of arylesterase by aliphatic alcohols. *Chem Biol Interact.* 1998;113:105-115.
115. Tomas M, Senti M, Garcia-Faria F, et al. Effect of simvastatin therapy on paraoxonase activity and related lipoproteins in familial hypercholesterolemic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000;20:2113-2119.
116. Kumru S, Aydın S, Aras A, Gürsu MF. Effects of surgical menopause and estrogen replacement therapy on serum paraoxonase activity and plasma malondialdehyde concentration. *Gynecol Obstet Invest.* 2005;59:108-112.
117. James RW, Leviev I, Righetti A. Smoking is associated with reduced serum paraoxonase activity and concentration in coronary artery disease patients. *Circulation.* 2000;101: 2252-2257.
118. Shih DM, Gu L, Hama S, Xia YR, Navab M, Fogelman AM, Lusis AJ. Genetic-dietary regulation of serum paraoxonase expression and its role in atherogenesis in a mouse model. *J Clin Invest.* 1996;97:1630-1639.
119. Hegele RA, Brunt JH, Connelly PW. A polymorphism of the paraoxonase gene associated with variation in plasma lipoproteins in a genetic isolate. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1995;15:89-95.

120. Heijmans BT, Westendorp RGJ, Lagaay AM, Knook DL, Kluit C, Slagboom PE. Common paraoxonase gene variants, mortality risk and fatal cardiovascular events in elderly subjects. *Atherosclerosis*. 2000;149:91-97.
121. Echerson HW, Romson J, Wyte J, La Du BN. The human serum paraoxonase polymorphism: identification of phenotypes by their response to salts. *Am J Hum Genet*. 1983;35:214-227.
122. Mackness MI, Mackness B, Durrington PN. Paraoxonase and coronary heart disease. *Atheroscler*. 2002;3:49-55.
123. Deakin SP ve James RW. Genetic and environmental factors modulating serum concentrations and activities of the antioxidant enzyme paraoxonase-1. *Clin Sci*. 2004;107:435-447.
124. Mackness B, Mackness MI, Arrol S, Turkie W, Durrington PN. Effect of the molecular polymorphisms of human paraoxonase (PON1) on the rate of hydrolysis of paraoxon. *Br J Pharmacol*. 1997;122:265-268.
125. Clarimon J, Eerola J, Hellström O, Tienari PJ, Singleton A. Paraoxonase 1(PON1) gene polymorphisms and Parkinson's disease in a Finnish population. *Neuro Let*. 2004;367:168-170.
126. Isaacs JT. The biology of hormone refractory prostate cancer Why does it develop? *Urol. Clin. North Am*. 1999;26:263–273.
127. Bray F, Sankila R, Ferlay J, Parkin D. Estimates of cancer incidence and mortality in Europe in 1995. *Eur J Cancer*. 2002;38:99-166.
128. Black R, Bray, F, Ferlay J, Parkin, D., Cancer incidence and mortality in the European Union: cancer registry data and estimates of national incidence for 1990. *Eur J Cancer*. 1997;33:1075-1107.
129. Parkin DM, Bray F, Ferlay J and Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin*. 2005;55:74-108.

130. Holund B. Latent prostate cancer in a consecutive autopsy series. *Scand J Urol Nephrol.* 1980;14:29-35.
131. Franks L. Etiology, epidemiology and pathology of prostate cancer. *Cancer.* 1973;32:1092-1095.
132. William GN, Angelo MDM, William BI. Mechanisms of disease: Prostate cancer. *N Engl J Med.* 2003;349(4):366-381.
133. Khandrika L, Kumar B, Koul S. Role of Oxidative Stress in Prostate Cancer. *Cancer Lett.* 2009;282(2):125-136.
134. Doll R, Peto R. The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. *J Natl Cancer Inst.* 66(6):1191-1308.
135. Steinberg GD, Carter BS, Beaty TH. Family history and the risk of prostate cancer. *Prostate.* 1990;17(4):337-347.
136. Lichtenstein P, Holm NV, Verkasalo PK. Environmental and heritable factors in the causation of cancer-analyses of cohorts of twins from Sweden, Denmark, and Finland. *N Engl J Med.* 2000;343:78-84.
137. Anafarta K, Göğüş O, Bedük Y, Arıkan N. Prostat kanseri. 1st ed. Ürogenital tümörler. Pp:726-751, Güneş Kitabevi, Ankara, 1998.
138. Dong J-T. Prevalent mutations in prostate cancer. *J Cell Biochem.* 2006;97:433-447.
139. Smith JR, Freije D, Carpten JD, et al. Major susceptibility locus for prostate cancer on chromosome 1 suggested by a genome-wide search. *Science.* 1996;274(5291):1371-1374.
140. Tavtigian SV, Simard J, Teng DH, et al. A candidate prostate cancer susceptibility gene and chromosome 17p. *Nat Genet.* 2001;27(2):172-180.
141. Carpten J, Nupponen N, Isaacs S. Germline mutations in the ribonuclease L gene in families showing linkage with HPC1. *Nat Genet.* 2002;30:181-184.

142. Xu J, Zheng SL, Komiya A, et al. Germline mutations sequence variants of the macrophage scavenger receptor 1 gene are associated with prostate cancer risk. *Nat Genet.* 2002;32:321-325.
143. Smith J.R, Freije D, Carpten J.D, et al: Major susceptibility locus for prostate cancer on chromosome 1 suggested by a genome-wide search. *Science.* 1996;274:1371-1374.
144. Xu J, Meyers D, Freije D, et al: Evidence for a prostate cancer susceptibility locus on the X chromosome. *Nat Genet.* 1998;20:175-179.
145. William GN, Angelo MDM, William BI. Mechanisms of disease: Prostate cancer. *N Engl J Med.* 2003;349(4):366-381.
146. Sakr WA, Grignon DJ, Crissman JD, Heil Brun LK, Cassin BJ, Pontes JJ ve ark. High grade prostatic intraepithelial neoplasia (HGPIN) and prostatic adenocarcinoma between the ages of 20-69: An autopsy study of 249 cases. *In Vivo.* 1994;8:439-443.
147. Elo JP, Visakorpi T. Molecular genetics of prostate cancer. *Ann Med.* 2001;33:130-141.
148. Hickey K, Do KA, Gren A. Smoking and prostate cancer. *Epidemiol Rev.* 2001;23:115-125.
149. Yang J, Wu HF, Zhang W, et al. Polymorphism of metabolic enzyme genes, living habits and prostate cancer susceptibility. *Front Biosci.* 2006;11:2052-2060.
150. Quinones LA, Irarrazabal CE, Rojas CR, et al. Joint effect among p53, CYP1A1, GSTM1 polymorphism combinations and smoking on prostate cancer risk: an exploratory genotype-environment interaction study. *Asian J Androl.* 2006;8(3):349-355.
151. Enokida H, Shiina H, Urakami S, et al. Smoking influences aberrant CpG hypermethylation of multiple genes in human prostate carcinoma. *Cancer.* 2006;106(1):79-86.

152. Baglietto L, Severi G, English DR, et al. Alcohol consumption and prostate cancer risk: Result from the Melbourne collaborative cohort study. *Intl J Cancer*. 2006;119(6):1501-1504.
153. Kolonel LN. Fat, meat and prostate cancer. *Epidemiol Rev*. 2002;23(1):72-81.
154. Zhang J and Kesteloot H. Milk consumption in relation to incidence of prostate, breast, colon, and rectel cancers: is there an independent effect? *Nutr Cancer*. 2005;53(1):65-72.
155. Chan JM, Giovannuci EL. Dairy products, calcium, and Vitamin D and the risk of prostate cancer. *Epidemiol Rev*. 2001;23(1):87-92.
156. Özen H, Türkeri L. Üroonkoloji kitabı. pp:535, Üroonkoloji derneği, Ankara, 2007.
157. Strom SS, Yamamura Y, Duphorne CM, et al. Phytoestrogen intake and prostate cancer: a case control study using a new data-base. *Nutr Cancer*. 1999;33:20-25.
158. Liao S, Umekita Y, Guo J, et al. Growth inhibition and regression of human prostate and breast tumors in athymic mice by tea epigallo catechin gallate. *Cancer Lett*. 1995;25(2):239-243.
159. Grönberg H: Prostate Cancer Epidemiology. *Lancet*. 2003;361:859-864.
160. Robsahm TE, Tretli S, Dahlback A, Moan J. Vitamin D3 from sunlight may improve the prognosis of breast-, colon-, and prostate cancer(Norway). *Cancer Causes Control*. 2004;15:149-158.
161. Ansari MS and Gupta NP. Lycopene: a novel drug therapy in hormon refractory metastatic prostate cancer. *Urol Oncol*. 2004;22:415-420.
162. Gupta S, Srivastava M, Ahmad N. Overexpression of cyclooxygenase-2 in human prostate adenocarcinoma. *Prostate*. 2000;42:73-78.
163. Hussain T, Gupta S, Mukhtar H. Cyclooxygenase-2 and prostate carcinogenesis. *Cancer Lett*. 2003;191:125-135.

164. Parent ME, Siemiatycki J. Occupation and prostate cancer. *Epidemiol Rev.* 2001;23:138-143.
165. Charles LE, Loomis D, Shy CM, et al. Electromagnetic fields, polychlorinated biphenyls and prostate cancer mortality in electric utility workers. *Am J Epidemiol.* 2003;157:683-691.
166. Yoshioka T, Kawada K, Shimada T, Mori M. Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated-oxygen toxicity in the blood. *Am J Obstet Gynecol.* 1979;135:372-376.
167. Harma M, Kocyigit A, Erel O. Increased DNA damage in patients with complete hydatidiform mole. *Mutation Research.* 2005;583:49–54.
168. Echerson HW, Wyte CM, La Du BN,; The human serum paraoxonase/arylesterase polymorphizm. *Am J Hum Genet.* 1983, 35:1126-1138.
169. Lim SD, Sun C, Lambeth JD, et al: Increased Nox1 and hydrogen peroxide in prostate cancer. *Prostate.* 2005;62:200–207.
170. Pace G, Di Massimo C, De Amicis D. Oxidative Stress in Benign Prostatic Hyperplasia and Prostate Cancer. *Urol Int* 2010;85:328–333.
171. Sarafinavska A, Eken A,1, Matevska N, Increased oxidative/nitrosative stress and decreased antioxidant enzyme activities in prostate cancer. *Clin Biochem.* 2009;42:1228–1235.
172. Srivastava D, Mittal RD. Free radical injury and antioxidant status in patients with benign prostate hyperplasia and prostate cancer. *Indian Journal of Clinical Biochemistry.* 2005; 20(2):162-165.
173. Sandhya B, Manoharan S, Sirisha G. Lipid peroxidation and antioxidant status in prostate cancer patients. *Indian Journal of Science and Technology.* 2010;3(1):83-86.

174. Kotrikadze N, Alibegashvili M, Zibzibadze M. Activity and content of antioxidant enzymes in prostate tumors. *Exp Oncol*. 2008;30(3):244–247.
175. Ripple MO, Henry WF, Rago RP. Prooxidant-antioxidant shift induced by androgen treatment of human prostate carcinoma cells. *J Natl Cancer Inst*. 1997;89(1):40-48.
176. Tam NN, Gao Y, Leung YK. Androgenic regulation of oxidative stress in the rat prostate: involvement of NAD(P)H oxidases and antioxidant defense machinery during prostatic involution and regrowth. *Am J Pathol*. 2003;163(6):2513-2522.
177. Nelson WG, De Marzo AM, Dewese TV. The role of inflammation in the pathogenesis of prostate cancer. *J Urol*. 2004;172:6-11.
178. Dakubo GD, Parr RL, Costello LC. Altered metabolism and mitochondrial genome in prostate cancer. *J Clin Pathol*. 2006;59(1):10-16.
179. Yamasaki M, Nomura T, Sato F, Mimata H: Metallothionein is upregulated under hypoxia and promotes the survival of human prostate cancer cells. *Oncol Rep*. 2007;18:1145–1153.
180. Scholl SM, Pallud C, Beuvon F, Anti-colony-stimulating factor-1 antibody staining in primary breast adenocarcinomas correlates with marked inflammatory cell infiltrates and prognosis. *J Natl. Cancer Inst*. 1994;86(2):120-126.
181. Dennis LK, Lynch JF, Torner JC. Epidemiologic association between prostatitis and prostate cancer. *Urology*. 2002;60(1):78-83.
182. Espey MG, Miranda KM, Thomas DD. A chemical perspective on the interplay between NO, reactive oxygen species, and reactive nitrogen oxide species. *Ann NY Acad Sci*. 2002;962:195-206.
183. Naber KG, Weitner W, Chronic prostatitis-an infectious disease? *J Antimicrob Chemother*. 2000;46(2):157-161.

184. Reaven P.D, Napoli C, Merat S, Witztumc J.L. Lipoprotein modification and atherosclerosis in aging. *Exp. Gerontol.* 2000;34:527–537.
185. Aviram M, Rosenblat M, Billecke S. Human serum paraoxonase (PON 1) is inactivated by oxidized low density lipoprotein and preserved by antioxidants. *Free Radic. Biol. Med.* 1999;26:892–904.
186. Cao H, Girard-Globa A, Berthezene F, Moulin P. Paraoxonase protection of LDL against peroxidation is independent of its esterase activity towards paraoxon and is unaffected by the Q to R genetic polymorphism. *J Lipid Res.* 1999;40:133–139.
187. Elkiran TE, Mar N, Aygen B, Gursu F, Karaoglu A, Koca S. Serum paraoxonase and arylesterase activities in patients with lung cancer in a Turkish population. *BMC Cancer.* 2007;16:7-48.
188. Camuzcuoglu H, Arioz DT, Toy H. Serum paraoxonase and arylesterase activities in patients with epithelialovarian cancer. *Gynecol Oncol.* 2009;112:481–485.
189. Akcay MN, Polat MF, Yilmaz I, Akcay G. Serum paraoxonase levels in pancreatic cancer. *Hepatogastroenterology.* 2003;50(2):225–227.
190. Akcay MN, Polat MF, Yilmaz I, Akcay G. Serum paraoxonase levels in gastric cancer. *Hepatogastroenterology.* 2003;50(2):273–275.
191. Korpicka KM, Boehm D, Matusiewicz M, Diakowska D, Grabowski K, Gamain A. Paraoxonase 1 (PON1) status in gastroesophageal malignancies and associated paraneoplastic syndromes-connection with inflammation. *Clin Biochem.* 2008;41:804–811.
192. Gadomska H, Janecki J, Marianowski L, Nowicka G. Lipids in serum of patients with malignant ovarian neoplasms. *Int J Gynecol Obstet.* 1997;57:287–293.
193. Gadomska H, Grzechocińska B, Janecki J, Nowicka G, Powolny M, Marianowski L. Serum lipids concentration in women with benign and



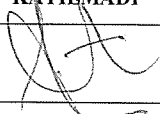
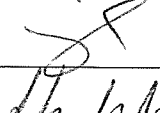
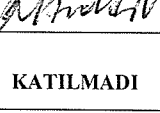

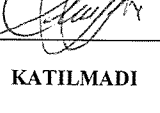
- malignant ovarian tumours. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2005;120:87–90.
194. Başkol M, Başkol G, Koçer D. Mide kanserli hastalarda oksidan ve antioksidan parametreler ve birbiriyle ilişkileri. *Türk Klinik Biyokimya Derg.* 2007;5(3):83-89.
195. Kumon Y, Nakauchi Y, Suehiro T. Proinflammatory cytokines but not acute phase serum amyloid A or C-reactive protein, downregulate paraoxonase 1 (PON1) expression by HepG2. *Amyloid.* 2002;9:160-164.
196. Macri A, Versaci A, Loddo S. Serum levels of interleukin 1beta, interleukin 8 and tumour necrosis factor alpha as markers of gastric cancer. *Biomarkers.* 2006;11:184-193.
197. Van Lenten BJ, Wagner AC, Nayak DP, Hama S, Navab M, Fogelman AM. High-density lipoprotein loses its anti-inflammatory properties during acute influenza infection. *Circulation.* 2001;8;103:2283-2288.
198. Feingold KR, Memon RA, Moser AH, Grunfeld C. Paraoxonase activity in the serum and hepatic mRNA levels decrease during the acute phase response. *Atherosclerosis.* 1998;139:307-315.
199. Antognelli C, Mearini L, Talesa VN, Giannantoni A, Mearini E: Association of CYP17, GSTP1, and PON1 polymorphisms with the risk of prostate cancer. *Prostate.* 2005;63:240-251.
200. Stevens VL, Rodriques c, Talbot JT. Paraoxonase 1 (PON1) polymorphisms and prostate cancer in the CPS-II Nutrition Cohort. *Prostate.* 2008;68(12):1336-1340.
201. Marchesani M, Hakkarainen A, Tuomainen TP, Kaikkonen J, Pukkala E, Uimari P, Seppala E, Matikainen M, Kallioniemi OP, Schleutker J, et al.: New paraoxonase 1 polymorphism I102V and the risk of prostate cancer in Finnish men. *J Natl Cancer Inst.* 2003;95:812-818.

202. Kafadar AM, Ergen A, Zeybek U, Paraoxonase 192 gene polymorphism and serum paraoxonase activity in high grade gliomas and meningiomas. *Cell Biochem Funct.* 2006;24(5):455-460.
203. Kaya MO, Meme kanserli olgularda paraoksonaz (PON1) fenotiplerinin belirlenmesi. Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Bölümü Uzmanlık Tezi, Balıkesir 2009.

8. EKLER

Ek 1. Etik Kurul Belgesi

DÜZCE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
İNVAZİV OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KOMİTESİ
ARAŞTIRMA BAŞVURU ONAYI

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN ADI	“ Prostat kanserli hastalarda oksidan-antioksidan durumu ve paraoksonaz’ın bu duruma etkisinin araştırılması”				
	SORUMLU ARAŞTIRICI ÜNVANI/ADI	Doç. Dr. Ramazan MEMİŞOĞULLARI				
	DİĞER ARAŞTIRMACILAR	Arş. Gör. Dr. Nuri ORHAN, Prof. Dr. Haydar Kamil ÇAM				
	ARAŞTIRMA MERKEZİ	Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi				
	DESTEKLEYİCİ FİRMA	--				
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	<input checked="" type="checkbox"/> Tek Merkez <input type="checkbox"/> Çok Merkez <input type="checkbox"/> Ulusal <input type="checkbox"/> Uluslararası				
ÇALIŞMA ESASI	İYİ KLİNİK UYGULAMALAR KILAVUZU					
KARAR BİLGİLERİ	Karar No : 2010/10		Tarih : 28.05.2010			
	Doç. Dr. Ramazan MEMİŞOĞULLARI sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgelerin araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmesi sonucunda, adı geçen araştırmanın gerçekleştirilmesinde etik yönden sakınca olmadığına mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.					
Ünvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Adı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım(**)	İmza
Doç. Dr. Hakan ÖZHAN (Başkan)	Kardiyoloji	Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yrd. Doç. Dr. Ertuğrul KAYA (Başkan Yard.)	Tıbbi Farmakoloji	Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yrd. Doç. Dr. Hilmi DEMİRİN (Raportör)	Tıbbi Biyokimya	Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	KATILMADI
Prof. Dr. Ali TEKİN(Üye)	Üroloji	Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç. Dr. Yavuz DEMİRARAN(Üye)	Anestezi	Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç. Dr. Handan ANKARALI (Üye)	Biyostatistik	Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yrd. Doç. Dr. İsmet ÖZAYDIN (Üye)	Genel Cerrahi	Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	KATILMADI
Yrd.Doç. Dr. Seyit ANKARALI (Üye)	Fizyoloji	Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Ecz. Elif EFE (Üye)	Eczacı	Düzce Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Av. Suat UYAR (Üye)	Hukuk	Düzce Üniversitesi	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	KATILMADI
Arş.Gör.Metin TOZ (Üye)	Sivil	Düzce Üniversitesi Teknik Eğitim Fakültesi	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	KATILMADI

* Araştırma ile ilişki ** Toplantıda bulunma

