

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
KULAK BURUN BOĞAZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**ORAL KAVİTE KANSERLERİNDE ADENOSİN DEAMİNAZ,
KSANTİN OKSİDAZ, NİTRİK OKSİT SENTAZ VE NİTRİK OKSİT
AKTİVİTE DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. AYÇA ANT

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. ERDOĞAN İNAL

ANKARA
EYLÜL 2012

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
KULAK BURUN BOĞAZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**ORAL KAVİTE KANSERLERİNDE ADENOSİN DEAMİNAZ,
KSANTİN OKSİDAZ, NİTRİK OKSİT SENTAZ VE NİTRİK OKSİT
AKTİVİTE DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. AYÇA ANT

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. ERDOĞAN İNAL

ANKARA
EYLÜL 2012

KABUL ONAY

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tez Sınav Tutanağı

Adı ve Soyadı	Ayça ANT
Baba Adı	Hasan
Doğum Yeri / tarihi	Ankara / 13.09. 1982
Diploma Tarihi / Diploma No	11.08.2006 / 6.311.060
Mezun Olduğu Fakülte	Hacettepe Üniversitesi
İhtisas Yaptığı Anabilim Dalı / Bilim Dalı	Kulak Burun Boğaz Hastalıkları
İhtisas Süresi	Yıl:5 Ay:
Sınav Yapılmasını İsteyen Makam	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı

UZMANLIK TEZİNİN ADI: ORAL KAVİTE KANSERLERİNDE ADENOSİN DEAMİNAZ,
KSANTİN OKSİDAZ VE NİTRİK OKSİT SENTAZ VE NİTRİK OKSİT AKTİVİTE
DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ.

JÜRİ KARARI: Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı Uzmanlık Programı
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Uzmanlık Tezi olarak
kabul edilmiştir.

JÜRİ ÜYELERİ

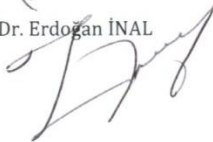


BAŞKAN

Prof.Dr.Suat ÖZBİLEN

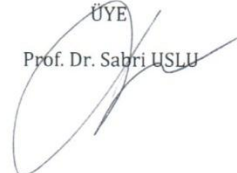
ÜYE

Prof. Dr. Erdoğan İNAL



ÜYE

Prof. Dr. Sabri UŞLU



TEŞEKKÜR

Değerli bilgi, tecrübe ve destekleriyle uzmanlık eğitimimde büyük katkıları olan saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Necmettin AKYILDIZ'a, Prof. Dr. Suat ÖZBİLEN'e, Prof. Dr. Erdoğan İNAL'a, Prof. Dr. Nebil GÖKSU'ya, Prof. Dr. Fikret İLERİ'ye, Prof. Dr. Ahmet KÖYBAŞIOĞLU'na, Prof. Dr. İsmet BAYRAMOĞLU'na, Prof. Dr. Yusuf KEMALOĞLU'na, Prof. Dr. Sabri USLU'ya, Prof. Dr. Kemal UYGUR'a, Prof. Dr. Yıldırım BAYAZIT'a, Prof. Dr. Metin YILMAZ'a, Doç. Dr. Alper CEYLAN'a, Prof. Dr. Mehmet AKÇABAY ve Prof. Dr. Memduh KAYMAZ'a teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca Öğr. Gör. Dr. Utku AYDİL, Öğr. Gör. Dr. Yusuf KIZIL, Öğr. Gör. Dr. Hakan TUTAR başta olmak üzere eğitimimde emeği geçen tüm öğretim üyelerine; tez çalışmamda ve diğer araştırmalarımnda büyük yardımları olan Ankara Üniv. Tıp Fakültesi Biyokimya ABD öğretim üyesi Prof. Dr. Aslıhan Avcı ve Araş. Gör. Metin Genç'e, Biyoistatistik ABD öğretim üyesi Prof. Dr. Yasemin Genç'e, Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi KBB Klinik Şefi Prof. Dr. Ümit Tuncel'e ve Araş. Gör. Dr. Ziya Şencan'a; eğitim hayatım boyunca beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm uzman doktor, araştırma görevlisi, hemşire ve personel arkadaşlarıma ve her konuda bana destek olan aileme ve eşime teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SEMBOLLER VE KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER VETABLolar	ix
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Oral Kavitenin Anatomisi	3
2.1.1. Dudak Anatomisi	3
2.1.2. Alveolar Kenar Anatomisi	4
2.1.3. (Oral) Dil Anatomisi	4
2.1.4. Retromolar Üçgen Anatomisi	5
2.1.5. Ağız Tabanı Anatomisi	6
2.1.6. Bukkal Mukoza Anatomisi	6
2.1.7. Sert Damak Anatomisi	6
2.2. Kanser	7
2.3. Oral Kavite Kanserleri	8
2.4. Oral Kavite Kanserlerinin Epidemiyolojisi	9
2.5. Oral Kavite Kanserlerinde Etiyoloji ve Risk Faktörleri	10
2.5.1. Tütün Kullanımı	11
2.5.2. Alkol Kullanımı	13
2.5.3. Virüsler	13

2.5.4.	Ultraviyole (UV) Işınına Maruziyet	14
2.5.5.	Diyet	14
2.5.6.	Genetik Yatkınlık	15
2.5.7.	Diğer Etiyolojik Faktörler	15
2.6.	Oral Kavite Kanserlerinin Anatomik Sınıflandırılması	16
2.6.1.	Dudak Kanseri	16
2.6.2.	(Oral) Dil Kanseri	16
2.6.3.	Ağız Tabanı Kanseri	17
2.6.4.	Bukkal Mukoza Kanseri	17
2.6.5.	Retromolar Bölge Kanseri	17
2.6.6.	Gingiva Kanseri	18
2.6.7.	Sert Damak Kanseri	18
2.7.	Oral Kavite Kanserlerinde Evreleme	18
2.8.	Karsinogenez	22
2.9.	İnflamasyon	23
2.10.	İnflamasyon ve Kanser	24
2.10.1.	Nitrik Oksit (NO)	25
2.10.1.1.	NO Biyosentezi ve Nitrik Oksit Sentaz (NOS)	27
2.10.1.2.	NOS ve Kanser	28
2.10.1.3.	NO İlişkili DNA Hasarı	30
2.11.	Pürin Metabolizması	32
2.11.1.	Adenozin Deaminaz (ADA)	34
2.11.2.	Ksantin Oksidaz (XO)	35

2.11.2.1.XO ve Karsinogenez	37
3. GEREÇ VE YÖNTEM	41
3.1. Yöntemler	41
3.1.1. Hastalar ve Örnekler	41
3.1.2. Tümörlü ve ve Tümörsüz Dokuda Ölçümü Yapılan Çeşitli Parametrelere Ait Metodlar	42
3.1.2.1. Lowry Yöntemi (Protein Miktarı Tayini)	42
3.1.2.2. ADA Aktivitesi Ölçüm Yöntemi	44
3.1.2.3. XO Aktivitesi Ölçüm Yöntemi	46
3.1.2.4. NO Ölçüm Yöntemi	47
3.1.2.5. NOS Aktivitesi Ölçüm Yöntemi	49
3.2. Araç ve Gereçler	52
3.2.1. Kullanılan Laboratuvar Cihazları ve Gereçler	52
3.2.2. Kullanılan İstatistiksel Yöntemler	52
4. BULGULAR	53
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	58
6. ÖZET	70
7. SUMMARY	72
8. ÖZGEÇMİŞ	74
9. KAYNAKLAR	76

EK.1 ETİK KURULU ONAYI

SEMBOLLER VE KISALTMALAR

- **ABD:** Amerika Birleşik Devletleri
- **ADA:** Adenozin deaminaz
- **Arg:** Arjinin
- **Ca⁺²:** +2 değerlikli iyonize kalsiyum
- **cAMP:** Siklik adenozin monofosfat
- **cGMP:** Siklik guanozin monofosfat
- **Cu⁺²:** +2 değerlikli iyonize bakır iyonu
- **DNA:** Deoksiribonükleik asit
- **EDRF:** Endotel kaynaklı salgılayıcı faktör
- **eNOS/NOS3:** Endotelyal nitrik oksit sentaz
- **Fe⁺:** +1 değerlikli iyonize demir iyonu
- **Fe⁺³:** +3 değerlikli iyonize demir iyonu
- **GTP:** Guanozin trifosfat
- **H₂O₂:** Hidrojen peroksit
- **HIV:** İnsan immün yetmezlik virüsü
- **HPV:** İnsan papilloma virüsü
- **iNOS/NOS2:** İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
- **mM:** Milimol
- **N:** Normalite
- **N₂O₃:** Nitrojen trioksit
- **NAD:** Nikotinamid adenin dinükleotid

- **NADH:** Hidrojenize nikotinamid adenin dinükleotid
- **NADPH:** Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
- **nm:** Nanometre
- **nNOS/ NOS1:** Nöronal nitrik oksit sentaz
- **NO:** Nitrik oksit
- **NO⁺:** Nitrosodyum iyonu
- **NO₂:** Nitrojen dioksit
- **NOS:** Nitrik oksit sentaz
- **OD:** Optik dansite
- **OH:** Hidroksil iyonu
- **RNA:** Ribonükleik asit
- **RNOS:** Reaktif nitrik oksit radikalleri
- **SOD:** Süperoksit dismutaz
- **TBG:** Tümör baskılayıcı genler
- **TCA:** Trikloroasetik asit
- **TNM:** Tümör-lenf nodu- uzak metastaz
- **UV:** Ultraviyole
- **XDH:** Ksantin dehidrogenaz
- **XO:** Ksantin oksidaz
- **XOR:** Ksantin oksiredüktaz
- **°C:** Celsius (Santigrad derece)
- **μM:** Mikromol

ŞEKİLLER

Şekil 1. Pürin nükleotidlerinin ürik aside yıkımı-1.	33
Şekil 2. Pürin nükleotidlerinin ürik asite yıkımı-2.	33

TABLÖLAR

Tablo 1. Oral kavite kanserlerinde tümör (T) evrelemesi	19
Tablo 2. Oral kavite kanserlerinde lenf nodu evrelemesi (N) evrelemesi	20
Tablo 3. Oral kavite kanserlerinde uzak metastaz (M) evrelemesi	20
Tablo 4. Oral kavite kanserlerinin evreleme grupları	21
Tablo 5. ADA aktivitesi ölçüm yöntemi protokolü-1	45
Tablo 6. ADA aktivitesi ölçüm yöntemi protokolü-2	46
Tablo 7. XO aktivitesi ölçüm yöntemi protokolü	47
Tablo 8. NO ölçüm yöntemi protokolü	48
Tablo 9. NOS aktivitesi ölçüm yöntemi protokolü-1	50
Tablo 10. NOS aktivitesi ölçüm yöntemi protokolü-2	50
Tablo 11. NOS aktivitesi ölçüm yöntemi protokolü-3	51
Tablo 12. Hastaların oral kavite kanseri yerleşim bölgeleri ve histopatolojik dağılımı	53
Tablo 13. Hastaların klinik ve patolojik T evrelerine göre (TNM evreleme sistemine göre) sayı ve yüzdeleri	54

Tablo 14. Hastaların klinik ve patolojik N evrelerine göre (TNM evreleme sistemine göre) sayı ve yüzdeleri	55
Tablo 15. Hastaların klinik ve patolojik M evrelerine göre (TNM evreleme sistemine göre) sayı ve yüzdeleri	55
Tablo 16. Normal doku ve tümör dokusu arasında ADA, NO, NOS, XO aktivite farkı açısından istatistiksel değerlendirilmesi	56

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kanser oluşum mekanizması birçok faktörün etkileşimi sonucu gelişen bir süreçtir. Baş boyun kanserli olgularda olduğu gibi oral kavite kanserlerinin %90'ında bilinen karsinojenlere maruziyet mevcuttur. Bu karsinojenlerin başında da tütün ve alkol bulunmaktadır. %10 olguda ise risk oluşturabilecek bir faktör bulunmamaktadır.

Radyasyon, çevresel kimyasallar ve diğer toksik maddelere maruz kalmak, diğer bir çok patolojik süreçte olduğu kadar insan kanserlerinin gelişiminde de önemli roller oynamaktadır. Karsinogenez için yapılan çalışmalar bu kimyasalların etkilerini göstermeleri için vücudun enzim sistemlerini kullanarak metabolize edilmeleri gerektiğini vurgulamaktadır. Kabul edilen hipotez bu kimyasalların vücutta elektrofilik metabolitlere (radikaller) dönüştüğü, bunların da DNA'da hasara yol açarak onkogen aktivasyonuna yol açtığı şeklindedir.

İnflamasyon, doku hasarlarına veya enfeksiyonlara karşı oluşturulan lokalize koruyucu bir reaksiyon olarak bilinmesine rağmen; çeşitli kanser türlerinin de dahil olduğu bir çok hastalıkta rolü olduğuna inanılmaktadır. Akut inflamasyon savunma cevabının bir parçası iken; kronik inflamasyon kansere, diyabete, kardiyovasküler, pulmoner ve diğer kronik hastalıklara neden olabilmektedir. İnflamasyonda rolü olan birçok madde ve enzim seviyelerinin kanser olgularında da değişiklik (artma veya azalma) gösterdiği bilinmektedir.

Nitrik oksit (NO) ve nitrik oksit sentaz (NOS) inflamasyon sürecine etkileri, oksidan ve antioksidan etkileri bakımından karsinogenezde önemli roller üstlenir.

ADA (Adenozin deaminaz) ve XO (Ksantin oksidaz) pürin metabolizma yolağında yer alan enzimlerdir. Yapılan çalışmalarda ADA'nın hücrel immünite için esansiyel olduğu gösterilmiştir; bu enzim karsinogenezde hücrel immünite dışında artmış hücre proliferasyonu açısından da önem arz etmektedir. XO (Ksantin oksidaz) temel olarak serbest radikallerin oluşum mekanizmasında karsinogenezde rol almaktadır.

Tümör hücrelerinin farklı biyokimyasal özellikleri ilk olarak 1930 yılında Warburg tarafından ileri sürülmüştür, Warburg neoplastik hücrelerde anormal yüksek glikoliz sonucu oksidatif hücrel mekanizmalarda geri dönüşümsüz bir hasarın meydana geldiğini bildirmiştir. Sonrasında birçok enzimin serum seviyeleri çalışılarak, kanser tanı ve prognozunda etkin oldukları ortaya konmuştur (1).

Çalışmamızın amacı; oral kavite karsinomlarında çeşitli inflamatuvar hastalıklarda etkileri kanıtlanmış olan nitrik oksit sentaz ve nitrik oksit aktivite düzeylerinin ve DNA metabolizmasında, hücrel immünitede, oksidasyon tepkimelerinde etkin olduğu düşünülen ksantin oksidaz, adenozin deaminaz aktivite düzeylerinin tespit edilmesi ve karsinogenezdeki potansiyel rollerinin belirlenmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. ORAL KAVİTENİN ANATOMİSİ

Oral kavite önde dudak vermilyon kenarından başlayıp, arka üstte sert damak yumuşak damağın birleşme noktasına, altta sirkumvallat papillalara (linea terminalis) ve lateralde anterior tonsiller plikalara kadar uzanan bölgedir. Dudaklar, dentoalveolar arklar, dilin ön üçte ikisi (oral dil), retromolar üçgen, ağız tabanı, bukkal mukoza ve sert damak olmak üzere yedi alt bölgeden oluşur (2).

2.1.1. Dudak Anatomisi

Oral kavitenin ön sınırını oluşturur. Üst ve alt dudaklar birleşerek mobil bir sfinkter oluştururlar ve bu şekilde ağızdaki sıvıların dışarı dökülmesini önleyip; çiğneme, yutma ve artikülasyonda önemli rol oynarlar. Dudaklar aynı zamanda görünüm ve yüz anlatımını sağlaması ile de estetik yönden önemlidir. Dudaklarda mukozanın bitip yüz derisinin başladığı hat olan vermilyon üst dudakta daha uzundur.

Orbikularis oris kası dudak içinde yer alan ve oral kaviteyi çevreleyen bir sfinkter gibi görev görür. Üst dudakta bu kas neredeyse nazal kolumellaya kadar çıkar ve anterior nazal spine yapışır. Aşağıda ise mental kas ile karışarak çene kıvrımını oluşturur. Bu kasın lateral derin yüzeyine birçok mimik kası yapışır ve bu kaslar oral kompetans ile çok çeşitli dudak hareketlerinin yapımını sağlar.

Orbikularis oris kasının derin kısmını, altında birçok minör tükürük bezi olan gevşek ağız mukozası kaplar (2).

Üst dudağın duysal inervasyonunu infraorbital sinir (maksiler sinir alt dalı), alt dudağın duysal inervasyonunu mental sinir (mandibular sinirin alt dalı) sağlar. Hem alt hem de üst dudağın lenfatikleri primer olarak submandibuler lenf bezlerine drene olurken, alt dudağın orta hat lezyonları submental lenfatiklere yayılabilirler. Ayrıca üst dudak preaurikuler, infraparotid ve perifasiyal lenf bezlerine drene olabilir (2).

2.1.2. Alveolar Kenar Anatomisi

Alveolar kenarların lateral yüzleri yanak mukozasına geçiş sağlayan mukozal sulkustan oluşmaktadır. Medial kenar alt alveollerde ağız tabanına, üst alveollerde ise sert damağa komşudur. Alt alveollerin posterior sınırını mandibula ramusunun assendan parçası oluştururken, üst alveollerde ise bunu pterigopalatin arkın üst yüzü yapar. Mukozanın altındaki kemiğe bitişik olması bu bölgede malign tümörlerin erken invazyon yapmasına neden olur (2).

2.1.3. (Oral) Dil Anatomisi

Sulkus terminalis (linea terminalis) dili üçte ikisi önde ve üçte biri arkada kalacak şekilde ikiye ayırır. Ön (hareketli) dil oral kavitenin, arka üçte bir (kök) orofarinksin bir parçasıdır. Dil, eksternal ve internal kas gruplarından oluşup; orta hatta median fibröz lingual septumla ikiye ayrılır. Eksternal (dış) kasları dört çift

kas grubundan oluşur; hiyoglossus, stiloglossus, genioglossus, palatoglossus. Bu kaslar internal (iç) kaslarla birlikte çalışarak artikulasyona ve yutmaya yardımcı olurlar. Dört çift internal kas grubu (superoinferior, longitudinal, transvers ve vertikal) genioglossusa göre yüzeysel yerleşimli olup dilin şeklini verir. Kaslar arasında ayrılmış planlar olmadığından bir tümör geliştiğinde diffüz olarak infiltrasyona neden olur. Oral dilin inervasyonunu lingual sinir sağlar. Tad duyusu ise korda timpani aracılığıyla lingual sinir tarafından dilin ön kısmına taşınır. Oral dilin lenfatik drenajı ise geniş bir alanadır. Uç kısım öncelikle submental lenf bezlerine drene olurken, lateral kısım öncelikli olarak zon 1 ve 2 lenf bezlerine (zon 2 ve 3'ü atlayarak, zon 4'e de) drene olabilir. Dilin ön kısmı ile anastomozlarının olmaması nedeniyle lateral oral dil lezyonları ipsilateral drene olma eğilimindedirler (2).

2.1.4. Retromolar Üçgen Anatomisi

Bu bölge, mandibula ramusunun koronoid çıkıntıya kadar uzanan bölümünün üzerini örten mukozadan oluşmaktadır. Bu lateralde yanak mukozasıyla, medialde ise anterior tonsil plikasıyla devam eder. Üst sınır maksiller kabarıklık, ön sınır ise ikinci molar dişin arka yüzüdür. Alveolar lezyonlarda olduğu gibi altındaki mandibulayla mukozanın yakın ilişkisi vardır. Bu bölgenin primer lenfatik drenajı üst servikal jugulodigastrik lenf bezi grubuna doğrudur (2).

2.1.5. Ağız Tabanı Anatomisi

Mandibular alveol ve oral dil arasına yerleşmiştir. Arkada anterior tonsil plikasına uzanır. Ağız tabanı lingual frenulumun her iki yanındaki Wharton kanalı (submandibuler bez kanalı) ağız tarafından delinir. Hiyoglossus ve milohiyoid kasları boşluğu destekleyen yapılardır. Lingual sinirin bir dalı ağız tabanının duyusunu sağlar. Bu bölgenin anterior kısmının lenfatikleri çaprazlayarak kontralateral submental ve submandibuler lenf bezlerine drene olabilir. Posterior kısmının lenfatikleri ise ipsilateral üst servikal lenf bezlerine drene olur (2).

2.1.6. Bukkal Mukoza Anatomisi

Bu yüzey dudağın arka kenarından medialde alveolar kenarlara, posteriorda pterigomandibuler rafeye uzanır. Duyu trigeminal sinirin maksiler ve mandibuler dalları ile sağlanır. Bu bölge lenfatikleri öncelikli olarak submental ve submandibuler lenf bezlerine drene olur (2).

2.1.7. Sert Damak Anatomisi

Anterior ve lateralde maksiller alveolar kabartı ile posteriorda yumuşak damakla sınırlanmıştır. Nazal çatıyı oral kaviteden ayırır ve ağzın tavanını oluşturur. Sert damağın mukozası ve periostu birbirine sıkıca yapışıktır. Nazopalatin sinir (maksiler sinirin dalı) tarafından bu bölgenin duyusu sağlanır. Bu bölgenin lenfatiklerinin çoğu üst servikal veya lateral retrofaringeal lenf bezlerine drene olur (2).

2.2. Kanser

Organizmanın yaşam döngüsü içinde, hücrelerin düzenli ve kontrollü bir biçimde çoğalma süreci “büyüme” olarak tanımlanmaktadır. Bu süreçte oluşabilecek bazı düzensizlikler, kontrolsüz hücre çoğalmasına neden olabilmekte ve organizmadaki bu kontrolsüz çoğalma süreci, tümörlerin oluşumuna sebep olmaktadır.

Sözcük anlamı yeni büyüme olan “neoplazi”, ilk olarak Willis tarafından “normal dokuyu aşan ve onunla koordine olmayan, değişime yol açan uyarı durduktan sonra bile aynı şekilde aşırı büyümeye devam eden anormal doku kitlesi” olarak tanımlanmıştır. Esas olarak bütün neoplazmların kökeni normal büyüme kontrollerine cevabın kaybıdır. Lokalize kalan, diğer bölgelere yayılmayan (mikroskopik ve makroskopik özellikleri ile nispeten sessiz kabul edilen) ve bu nedenle lokal cerrahi çıkarılma ile hastada kür sağlanabilen iyi prognozlu lezyonlar “benign” olarak tanımlanır. “Malign” kelimesi ise Latince’de “yengeç” anlamına gelmektedir ve ilk olarak “vücudun herhangi bir parçasına yengeç gibi inatçı bir şekilde yapışma” anlamında kullanılmıştır. “Malign” olarak değerlendirilen neoplazmlar, komşu yapılara yayılan, onları harap eden ve uzak bölgelere yayılarak metastaz oluşturabilen, nispeten kötü prognozlu lezyonlardır (3).

Organizmadaki hücrelerin hücre siklusundaki düzenleyici kontrolünü kaybetmesiyle ve çevreden gelen sinyallerden bağımsız çoğalma kabiliyeti kazanmasıyla kanser gelişmektedir. Altmış yıl önce hücresel fonksiyonu kontrol eden ve bilgi akışını sağlayan unsurların DNA ve RNA ile ilgili olarak genler ve

ilişkili hücresel döngüdeki bozuklukların olduğu keşfedildi. Bunun dışında mutajen olabileceği düşünülen pek çok karsinojen ajan ve metabolit keşfedildi. Yapılan çalışmalar sonucu hücresel siklustaki bu düzenli döngü kaybının ise çok basamaklı bir süreç olduğu görüldü (4).

Hücre kontrolünün bozulması süreci kanser cinslerine göre değişkenlik göstermekle birlikte ortalama 15-20 yıldır. Kanserler köken aldıkları doku ve organlara göre isimlendirilirler. Belirti, bulgu ve tedavileri de kanserin cinsine göre değişmektedir. Kanser hücrelerinin normal hücreler kadar güçlü bağlarının olmadığı tespit edilmiştir. Bu kanser hücrelerinin diğer hücrelerden ayrılmasına, kan ve lenfatik sistem yoluyla vücudun başka bölgelerine yayılmasına sebep olur ve bu duruma “metastaz” adı verilir. Anormal biçimde çoğalan ve yayılan bu hücreler bulundukları doku ve organları işgal ederek bu bölgelerin fonksiyonlarını bozarlar (5).

2.3. Oral Kavite Kanserleri

Oral kavite kanserlerinin %90’dan fazlası skuamöz hücreli karsinomdur (epidermoid karsinom, yassı hücreli karsinom). Skuamöz hücreli kanser iyi, orta, az diferansiye olabilir. Skuamöz hücreli kanserin alt tipleri de mevcuttur. Bazaloid hücreli kanser daha agresif seyreden bir alt tipidir. Verrüköz hücreli kanser ise iyi diferansiye, metastaz yapma olasılığı düşük, cerrahi eksizyonun yeterli olduğu ve radyoterapinin tedavide yer almadığı formdur (6).

Oral kavitede görülen malign tümörlerin %10'undan daha az kısmını minör tükrük bezi tümörleri, lenfoma, malign melanom, sarkomlar oluşturur. Minör tükrük bezi tümörlerinin çoğunluğu maligndir ve en sık sert damakta yerleşir. Bunlardan adenoid kistik karsinom en fazla görülür; ender olmakla birlikte adenokanser ve mukoepidermoid karsinom da gelişir. Mukozal malign melanom oral kavitede nadirdir ve yine en sık sert damakta görülür, prognozu kötüdür (7). Oral kaviteye diğer organ tümörlerinden metastaz oldukça nadir olmakla birlikte; böbrek, meme ve akciğerden yayılım olabilir. Metastatik lezyonlar en sık mandibulayı tutar (8).

Oral kavite kanserlerinde en önemli prognostik faktör boyunda lenfatik metastazın varlığıdır. İlk başvuruda hastaların %30'unda boyunda metastaz vardır (dudak ve sert damak tümörleri hariç). Lenfatiklerden zengin olması nedeniyle en sık nodal metastaz oral dil (dilin ön üçte ikisi) kanserlerinde görülür (6). Uzak metastaz oranı oral kavite kanserlerinde düşüktür; ileri evre olgularda ve lokal rekürrensi olan olgularda görülebilir. En sık akciğer metastazı, daha sonra karaciğer ve kemik metastazı görülür (8).

2.4. Oral Kavite Kanserlerinin Epidemiyolojisi

Oral kavite kanserleri, tüm baş boyun kanserlerinin (dudak lezyonları hariç tutulursa) %14,1'ini oluşturur. Ulusal Kanser Veri Bankası (UKVB) 1985-1996 yılları tarandığında, oral kavite kanserli hastalara tanı konduğunda ortalama yaşın 64 ve %60'nın erkek olduğu görülmektedir. Lezyonların büyük çoğunluğunu

skuamöz hücreli karsinomlar (%86,3) oluştururken; adenokarsinomlar (%5,9), verrüköz karsinomlar (%2,0), lenfoma (%1,5), Kaposi Sarkomu (%1,5) kalan kısmını oluşturmaktadır. Hastaların %55'i erken evre (evre 1-2) lezyonlardır. Genç hastalarda (35 yaş ve altı) oral dil skuamöz hücreli karsinomları yaşlı hastalara göre daha sık görülürken (%76,1'e %33), ağız tabanı skuamöz hücreli karsinomları daha az (%10,5'e %35,9) rastlanmaktadır. UKVB'nin verilerinde genç yaşta (36 yaş ve önce) hastalığın görülmesiyle kötü prognoz arasında ilişki görülmemektedir ve bu yaş grubu daha iyi beş yıllık sağkalıma sahiptir. Beş yıllık sağkalım erkeklerde, siyahlarda ve yaşlı hastalarda (65 yaş ve üzeri) daha kötüdür. Kadınlarda erkeklerden daha sık görülen adenokarsinom sıklıkla sert damak lokalizasyonundadır (9).

Schantz ve Yu yaptıkları çalışmada 40 yaşından genç hastalardaki oral dil karsinomu insidansının 1973'den 1984'e kadar %60'a çıkıp bu seviyede kaldığına dikkat çekmişlerdir (10). Bu artış 1938-1948 yılları arasında doğanlarla ilgilidir, bu artışa rağmen beş yıllık sağkalım yaşlılardan daha iyidir. Bu artışın kesin nedeni bilinmemekle birlikte, dumansız tütün, marihuana kullanımı ve HPV enfeksiyonlarının muhtemel faktörler olduğu düşünülmektedir (11).

2.5. Oral Kavite Kanserlerinde Etiyoloji ve Risk Faktörleri

Oral kavite kanserlerinin oluşum mekanizması bir çok faktörün etkileşimi sonucu gelişen bir süreçtir. Baş boyun kanserli olgularda olduğu gibi oral kavite kanserlerinin %90'ında bilinen karsinojenlere maruziyet mevcuttur. Bu

karsinojenlerin başında da tütün ve alkol bulunmaktadır, alkol ayrıca tütün kullanımının karsinojen etkisini arttıran en önemli faktördür. Diğer önemli etiyojik faktörler ise virüsler, genetik yatkınlık, ultraviyole (UV) ışın maruziyeti, oral hijyen ve diyetir.

2.5.1. Tütün Kullanımı

Tütün, Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) önlenabilir ölüm nedenlerinin başında gelmekte olup her 5 ölümün birinden sorumlu tutulmaktadır (2). Tütün ve alkol kullanımı, diğer birçok baş boyun kanserinde olduğu gibi, oral kavite kanserlerinde de en yaygın görülen ve önlenabilen risk faktörüdür. Avrupa Birliği'nde oral kavite kanserlerinin erkeklerde %60'ı kadınlarda %30'unun sadece sigara kullanımına bağlı olduğu tespit edilmiştir (12). Sigara içmeyenlerle karşılaştırıldığında, sigara içme baş boyun skuamöz hücreli karsinomlarının gelişmesini erkeklerde 1,9 kat, kadınlarda ise 3 kat arttırmaktadır (13). Tütün üretimi ve işlenmesi aşamalarında kullanılan katkı maddeleriyle birlikte sigarada 4000'den fazla bileşik olduğu saptanmıştır. Deneysel çalışmalarda bu bileşiklerden en az 70'inin karsinojen etkisinin olduğu gösterilmiştir (14). Bu karsinojenler arasında aldehitler, polisiklik hidrokarbonlar, heterosiklik aromatik hidrokarbonlar, N-nitrozaminler yer alır (15). Katranın yanması ile açığa çıkan metilkolantren, benzopiren ve benzantrasen gibi maddeler DNA'ya bağlanarak hasara neden olurlar (16).

Kanser gelişim riski, sigaranın günlük içme miktarı ve içme süresi ile ilişkilidir. Bu risk gelişiminde önemli bir neden de sigara içen popülasyonda daha sık görülen p53 mutasyonları vb. genetik değişikliklerdir (2). Uzun süre sigara içilmesi mukozalarda morfolojik değişikliklere neden olur. Sigara içme durdurulursa bu değişiklikler geri dönebilir. Sigara içip son 10 yıldır bırakanların kanser riskinin sigara içmeyenlere yakın olduğu gösterilmiştir (17).

Moore ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada; tedavi sonrası sigara içmeye devam eden oral kavite malignensi hastalarının %40'ında ya hastalığın nüks ettiği ya da ikinci baş boyun malignensisi geliştiği bildirilmiştir. Ancak sigara kullanmayı bırakanların %6'sında nüks gelişmiştir (18).

Hindistan ve Güney Asya'da Areca catechu ağacının fındık benzeri yemişini (betel nut) çiğnemek, kahve benzeri hafif uyarıcı etkisi nedeniyle yaygındır. Bu yemiş tütünle karıştırılıp çiğnenir. Uzun süreli bu karışımın çiğnenmesinin oral mukoza ve dişlerde yıkıma neden olduğu gösterilmiştir (19). Oral kavite kanserleri ile ilişkili bir diğer alışkanlık ise sigaranın yanan kısmının ağız boşluğuna yerleştirilerek dumanı içine çekilen “ters sigara içme yöntemi”dir. Sert damak karsinomları riski, bu kişilerde içmeyenlere göre 47 kat daha fazladır (20). Pipo içmek de dudak kanseri gelişmesiyle ilişkilidir. Mekanik irritasyon, ısı hasarı, kimyasal etki (pipo içmenin) alt dudak kanser gelişimine atfedilen diğer muhtemel etiyolojik faktörleridir (21).

2.5.2. Alkol Kullanımı

ABD’de baş boyun kanserli olguların %75’inde sigara kullanımı yanında alkol kullanımının da olduğu bildirilmiştir (21). Üst hava-sindirim yolu kanser riski, alkol kullananlarda sigara kullanımı kontrol edildiğinde bile yüksektir. Alkol tek başına, hiç içmeyenlere göre günde 1-2 kadeh içen erkeklerde 1,7 kat daha yüksek risk taşımaktadır (13). Fazla alkol tüketiminin tüm sigara içme düzeylerinde riski arttırdığı gösterilmiştir (23). Alkol kullananlarda oral kavite kanseri riski 6 kat artmıştır, bu olgularda özellikle ağız tabanı ve dil kanseri görülme sıklığı daha fazladır (24). Sigara ve alkolün etkilerinin sinerjistik olduğu yani, her iki ajanın ayrı ayrı kullanımlarında ortaya çıkan risk artışının toplam risklerinden daha fazla olduğu bildirilmektedir(25).

2.5.3. Virüsler

Human papilloma virüsü (HPV), oral kavitenin skuamöz hücreli kanser örneklerinde çeşitli derecelerde saptanan epitelyotropik bir virüstür. Enfeksiyon tek başına malign dönüşüm için yeterli olmamakla birlikte yapılan birçok çalışmada baş boyun skuamöz hücreli karsinomlarında (proliferatif yassı epitel lezyonlarına yol açarak) HPV’nin rolü olduğu düşünülmektedir (26). Özellikle tip 16 ve 18 olmak üzere HPV’nin orofarengeal kanserlerin %25’i ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (27). HPV pozitif orofarengeal kanser hastaları farklı bir grup oluştururlar, genellikle histoloji kötü diferansiye yassı hücreli kanserdir. Bu

hastalar sıklıkla sigara kullanmazlar, genç ve seksüel ilişki hikayesi olabilen hastalardır (28).

2.5.4. Ultraviyole (UV) Işınına Maruziyet

UV ışınına maruz kalmak dudak kanseri gelişimiyle birliktedir. Özellikle alt dudak vermilyon sınırından skuamöz hücreli karsinomların başlamasının patogenezinde önemli olduğu bildirilmiştir (29).

2.5.5. Diyet

Kanser gelişiminde beslenme yetersizliği ve dengesizliğinin etkisinin Avrupa’da %10-15’e kadar rol oynadığı belirtilmektedir; fakat belirli bir diyet bileşeninin eksikliği ile kanser riski ilişkisi çelişkilidir (30). Epidemiyolojik çalışmalar ve hayvan çalışmaları beta karoten ve A vitamininin epitelyal neoplazmlara karşı koruyucu olduğunu göstermektedir. Yapılan bir çalışmada kadınlarda taze sebze ve meyveden oluşan diyetle oral kavite tümörü riskinin azaldığı gösterilmiştir (31,32). A vitamini, hücrel diferansiyasyonun kontrolünde ve immünitelerde önemli fizyolojik role sahiptir.

Riboflavin ve demir eksikliği oral kavite kanserleri ile ilişkili olabilir. Riboflavin eksikliğinin mukozada displastik değişiklikler yaptığı düşünülmektedir. Kadınlarda sık görülen aklorhidrik demir eksikliği anemisi, farenks ve ağız mukozasında displastik değişiklikler yapabilir. Bu değişiklikler

sonrasında oral lökoplaki ve oral kavitedeki yassı epitel hücreli karsinom insidansı artmaktadır (2).

2.5.6. Genetik Yatkınlık

Baş boyun kanserlerinin genetik komponenti, büyük aile çalışmalarıyla desteklenmiştir. Bu çalışmalarda birinci derece akraba olan hastalarda 3-8 kat artmış baş boyun kanseri riski gösterilmiştir (33, 34). Olgu kontrol çalışmalarından elde edilen veriler genetik yatkınlık hipotezinin baş boyun kanseri etiyojisinde önemli rol oynadığını desteklemektedir. Bu hipoteze göre karsinojen metabolizasyon sistemlerinin verimliliğindeki kalıtsal değişiklikler, DNA tamir sistemleri, hücre siklusu kontrolü, apoptozis (hücre ölümü) sistemleri veya bu faktörlerin kombinasyonu tütünün indüklediği kanserlerin riskini etkilemektedir.

2.5.7. Diğer Etiyolojik Faktörler

Oral kavite kanserleri için diğer etiyolojik faktörler arasında Plummer-Vinson Sendromu (aklorhidri; demir eksikliği anemisi; ağız, farenks ve özefagusun mukozal atrofisi), Sifiliz, oral hijyen bozukluğu ve uzun süreli immün sistemin baskılanmasıdır. HIV enfeksiyonu ve baş boyun skuamöz karsinomları arasındaki bağlantı için yeterli kanıt olmasa da bunlarda oral kavitede Kaposi Sarkomu riski artmıştır (35).

2.6. Oral Kavite Kanserlerinin Anatomik Sınıflandırılması

Oral kavite kanserlerinin büyük bir kısmını epitelyal tümörler oluşturur, bu bölgenin kanserlerinin %90'dan fazlası skuamöz hücreli karsinomdur. Anatomik olarak oral kavite kanserleri değerlendirildiğinde önemli özellikleri şu şekildedir:

2.6.1. Dudak Kanseri

Oral kavitede en sık karşılaşılan kanserdir. Dudak mukozasında yer alan karsinom ülseratif, ekzofitik, verrüköz şekillerde olabilir. Dudağın epitelyal tümörleri içinde skuamöz hücreli karsinom daha çok görülür. Yüzde 88-98 oranında alt dudakta rastlanır. Skuamöz hücreli karsinomun %85'i iyi diferansiyedir. Karsinom doğrudan invazyon yanında lenfatik, perinöral ve çok seyrek olarak hematojen yolla uzak metastaz yapar. Dudakta ipsilateral lenf nodu metastazı olasılığı T1'den T4'e gidildikçe %4'ten %17'ye ulaşır. Kontralateral metastaz olasılığı, tümör orta hatta ilerledikçe artar. Bazal hücreli karsinom ise ikinci sıklıkta görülen malign tümörlerdir (36).

2.6.2. Dil (2/3 Ön, Oral Dil) Kanseri:

Oral kavitede ikinci sıklıkta karşılaşılan kanserlerdir. En sık skuamöz hücreli karsinom görülür. Dil kanseri sıklıkla lateral kenarda, orta 1/3 ile arka 1/3'lük kısım arasında görülür. Lenfatikten zengin olan bu anatomik bölge oral kavitedeki diğer bölgelere göre lenfatik metastaz riski fazla olan organdır. Yüzde 66'ya varan lenf nodu tutulumu bildirilmesine rağmen, ortalama %30 oranında

okkült metastaz görülmektedir. Lenf nodu metastazı en sık zon 1, 2, 3 lenf nodlarıdır. (6, 37).

2.6.3. Ağız Tabanı Kanseri:

Erken evrede ağız tabanı kanseri yüzeysel ekzofitik ve eritamatöz lezyon şeklinde başlar, ilerledikçe ülser olur ve laterale doğru genişler. Mandibula periostu tümöre engel oluştursa da, periost tutulup mandibulaya doğrudan yayılım olur. Boyunda okkült metastaz oranı %10-30 arasında değişmektedir (6).

2.6.4. Bukkal Mukoza Kanseri

Bu bölgenin tümörleri histolojik açıdan diğer bölge tümörlerine benzer özellik gösterir. Patolojik olarak ise agresif özellik gösterir. Erken evre tümörlerde lenf nodu metastazı %10-20 arasında bildirilmekle birlikte, lenfatik yayılımın %50 olguda görüldüğünü bildiren yayınlar da mevcuttur (6). Diğer oral kavite kanserlerinden farklı olarak periparotid, submental ve submandibuler lenf nodları en sık tutulan lenf nodlarıdır (8).

2.6.5. Retromolar Bölge Kanseri

İzole retromolar bölge kanseri nadirdir. Genelde ileri evrede fark edilir; tonsil lojuna, dile veya yumuşak damağa invazyon gösterir. Mandibula tutulumu

sıktır. Ayrıca pterigoid kaslara yayılarak orofarenks kanseri gibi davranır. Lenfatik metastaz sıklığı yanak mukozası kanserine benzerdir (6).

2.6.6. Gingiva Kanseri

Diğer bölgelere oranla gingiva kanserlerine daha az rastlanır; %80'i alt gingivada ve 1/3 arka kısımda görülür. Gingiva mukozası alttaki periosta doğrudan yapışık olduğu için bu bölge tümörlerinde mandibula tutulumu yüksektir. Hastaların %35-50 oranında kemik invazyonu saptanmıştır (7).

2.6.7. Sert Damak Kanseri

Bu bölgede skuamöz hücreli kanser ve tükürük bezi tümörleri görülme sıklığı eşittir. Sert damak kanserleri iyi diferansiyedir. Damak periostu tümörün kemiğe invazyonunu engelleyen bir bariyerdir, fakat tümör ilerledikçe maksillayı infiltre eder. Skuamöz hücreli kanser dışında bu bölgede gelişen minör tükürük bezi tümörleri ve malign melanom en sık sert damakta görülür. Mukozal malign melanom oldukça kötü prognozludur (7).

2.7. Oral Kavite Kanserlerinde Evreleme

Tümör- lenf nodu-metastaz (TNM) evreleme sistemi ilk olarak 1940'da Pierre Denoix tarafından yayınlanmıştır. Uluslararası Kanser Birliği ve Amerikan Kanser Birliği Komitesi bu evreleme sisteminde gerekli görülen değişiklikleri

yaparak 1968 yılında 23 vücut bölgesi için TNM evreleme sistemini yayınlamıştır (38). Yapılan çalışmalar ve teknolojinin gelişmesi sonucu evreleme sisteminde ek değişikliklerle, son olarak 2010’da TNM evreleme sistemi 7. baskı yayınlanmıştır (Tablo 1- 4) (39).

Tablo 1. Oral Kavite Kanserlerinde Tümör (T) Evrelemesi

Tx: Primer tümör değerlendirilemedi.

T0: Primer tümör izlenmedi.

Tis: Karsinoma in situ

T1: Tümörün en geniş çapı 2 cm veya daha az.

T2: Tümörün en geniş çapı 2 cm’den fazla, 4 cm’den az.

T3: Tümörün en geniş çapı 4 cm’den fazla.

T4a:

-Dudak: Kortikal kemik, inferior alveolar sinir, ağız tabanı veya yüz derisinin invazyonu.

-Diğer oral kavite bölgeleri: Kortikal kemik, dil derin (eksternal) kasları (genioglossus, hiyoglossus, palatoglossus ve stiloglossus), maksiler sinüs veya yüz derisinin invazyonu.

T4b: Mastikatuvar boşluk, pterigoid plate veya kafa tabanı ve/veya internal karotid arter invazyonu.

(Primer gingiva kanserinde yüzeysel kemik veya diş soketinin erozyonu T3 olarak değerlendirilmektedir.)

Tablo 2. Oral Kavite Kanserlerinde Lenf Nodu (N) Evrelemesi

Nx: Bölgesel lenf nodu değerlendirilemedi.

N0: Bölgesel lenf nodu izlenmedi.

N1: Tek, ipsilateral lenf nodu metastazı; 3 cm veya daha küçük.

N2a: Tek; ipsilateral lenf nodu metastazı; 3 cm'den büyük, 6 cm'den küçük.

N2b: Birden çok, hiçbirisi 6 cm'den büyük olmayan ipsilateral lenf nodu metastazı.

N2c: Bilateral veya kontralateral hiçbirisi 6 cm'den büyük olmayan lenf nodu metastazı.

N3: Çapı 6 cm'den büyük lenf nodu metastazı.

Tablo 3. Oral Kavite Kanserlerinde Uzak Metastaz (M) Evrelemesi

cM0: Klinik olarak uzak metastaz saptanmadı.

cM1: Klinik olarak saptanmış uzak metastaz.

pM1: Patolojik olarak saptanmış uzak metastaz.

("Uzak metastaz değerlendirilemedi (Mx)" terimi artık kullanılmamaktadır.)

Tablo 4. Oral Kavite Kanserlerinin Evreleme Grupları:

Evreleme Grupları	T Evresi	N Evresi	M Evresi
0	Tis	N0	M0
1	T1	N0	M0
2	T2	N0	M0
3	T3	N0	M0
	T1	N1	M0
	T2	N1	M0
	T3	N1	M0
4A	T4a	N0	M0
	T4a	N1	M0
	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N2	M0
	T4a	N2	M0
4B	T4b	Her N	M0
	Her T	N3	M0
4C	Her T	Her N	M1

Baş boyun kanserlerinde klinik evreleme sistemi, retrospektif olarak değerlendirilen ve benzer tedavi alan olgularda tümör özellikleri (histoloji, büyüklük, metastaz vb.) ile klinik süreç arasındaki korelasyon temel alınarak yapılmıştır. İlk yayınlandığı 1962 tarihinden bu yana klinik evreleme sisteminde gerekli değişiklikler yapılmış olsa da, evrelemede kullanılan parametreler bu olguların prognozunun değerlendirilmesinde yeterli değildir (41, 42). Bu amaçla, baş boyun yassı hücreli kanserlerinin immünolojik (43, 44) ve histolojik (45, 46) özelliklerinin prognostik önemini değerlendiren ve bu tümörlerde agresif biyolojik davranış arasındaki korelasyonu araştıran geniş çapta çalışmalar yapılmıştır.

2.8. Karsinogenez

Karsinogenez çok basamaklı bir süreçtir. Sağlıklı hücre, kendisini çevresel faktörlerin etkisinden koruyan ve malign dönüşümü engelleyen iç mekanizmalara sahiptir. Kanser, bu koruyucu iç mekanizmalardaki bozukluklar veya karsinojen maruziyeti sonucu oluşan DNA anormallikleri sonucu gelişir. Kanser gelişimi ile ilişkili faktörler kalıtsal olabilir (germ hücre mutasyonları), çevresel veya karsinojen olduğu faktörlere maruziyetle edinilebilir veya koruyucu mekanizmanın kaybı sonucu gelişebilir. Karsinogenezin bu basamaklarını açıklayan birçok hipotez mevcuttur (40).

Serum veya biyokimyasal olarak ölçülebilen birçok farklı madde, tümör gelişimi sırasında kantitatif değişiklikler gösterir. Bu maddelerin kaynağı tümör dokusunun kendisi veya bu olgularda görülen ektopik hormon salgısı, onkofetal

antijenler, neoplastik hücrelerden salınan metabolik ürünler olabilir. Ayrıca vücudun kanser hücrelerinin gelişimine karşı cevabı sonucu oluşan maddeler de olabilir (47). Yapılan çalışmalarla kanser gelişim sürecinde kantitatif değişiklik gösteren bu maddeler karsinogenezin mekanizmalarına ışık tutmaktadır.

2.9. İnflamasyon

Hüresel zedelenmeye yol açan ekzojen ve endojen uyarılar, vaskülarize bağ dokularında inflamasyon adı verilen kompleks bir reaksiyona yol açabilirler. İnflamasyon, hücre hasarına yol açan etkenle beraber yıkım sonucunda oluşan nekrotik doku ve hücreleri de ortadan kaldırmayı amaçlayan koruyucu bir yanıttır. İnflamasyon bu koruyucu görevi zararlı etkenleri dilüe ederek, parçalayarak ve diğer yollarla nötralize ederek yerine getirir. Daha sonra hasarlı bölgeleri onaracak ve sonunda iyileşmeyi sağlayacak bir dizi olayı harekete geçirir.

İnflamasyon, enfeksiyonu yok etmeye yardım eder ve onarım ile de yaralanmanın iyileşmesini mümkün kılar. Ancak her iki olay da belirgin bir hasar oluşturma potansiyeli taşır. İnflamatuvar yanıtta rol oynayan pek çok eleman mevcuttur. Bunlar dolaşımdaki hücreler ve plazma proteinleri, vasküler duvar hücreleri, çevre bağ dokusunun ekstraselüler matriksi ve hücreleridir. Dolaşımdaki hücreler kemik iliğinden kaynaklanan polimorfonükleer lökositler (nötrofiller), eozinofiller, bazofiller, lenfositler, monositler ve trombositlerdir. Dolaşımdaki proteinler çoğunlukla karaciğer tarafından sentezlenen pıhtılaşma faktörleri, kininojenler ve kompleman içerikleridir. Vasküler duvar hücreleri,

kanla doğrudan temasta olan endotelial hücreler ve daha altta yerleşmiş olan damarlara tonusunu veren düz kas hücreleridir. Bağ dokusu hücreleri; invazyona karşı gözcü olan mast hücreleri, makrofajlar ve lenfositlere ek olarak ekstraselüler matriksi sentezleyen ve yarayı doldurmak üzere çoğalan fibroblastlardan oluşur. İnflamasyonun basit özeti şu şekildedir; başlangıçtaki inflamatuvar uyaran, plazma ve bağ dokusu hücrelerindeki kimyasal mediatörlerin salınımını tetikler. Beraberce veya düzenli bir sırayla hareket eden bu çözülebilen mediatörler başlangıçtaki yanıtı güçlendirirler ve sonradan oluşan vasküler ve hücrel yanıtları regüle ederek gelişimini etkilerler. Hasar veren uyarı uzaklaştırılınca inflamatuvar yanıt sonlanır ve inflamatuvar mediatörler dağılırlar, katabolize olurlar veya inhibe edilirler.

İnflamasyon akut ve kronik olmak üzere iki ana gruba ayrılır. Akut inflamasyon nispeten kısa sürelidir ve birkaç dakika ile birkaç gün içinde sonlanır. Kronik inflamasyon daha uzun sürelidir (günler ile yıllar arasında değişebilir) ve karakteristik histolojik bulgusu lenfosit ve makrofaj toplanmasının yanı sıra doku yıkımı ve onarımıdır. Bu onarım vasküler proliferasyon ve fibrozis ile birlikte (48).

2.10. İnflamasyon ve Kanser

İnflamasyon lokalize koruyucu reaksiyonlar olarak bilinmesine rağmen, çeşitli kanser türlerinin de dahil olduğu bir çok hastalıkta rolü olduğuna inanılmaktadır. Kronik inflamasyon kansere, diyabete, kardiyovasküler, pulmoner

ve nörolojik hastalıklara neden olabilmektedir. İnflamasyon ve kanser arasındaki ilişkiye yönelik araştırmalar öncelikle lökositler gibi inflamatuvar hücreler tarafından üretilen reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin mutajenik saldırı yapıp yapmadığı ve tümörün başlamasıyla sonuçlanıp sonuçlanmadığına yönelik olmuştur (49). Günümüzde inflamasyondan kanser gelişmesinin inflamatuvar hücreler ile beraber sitokinler, kemokinler ve enzimleri içeren mediatörler tarafından oluşturulan süreç olabileceği olduğu bilinmektedir. Bu konak yanıtı tümörleri baskılayabilmesine rağmen, birçok sinyal yoluyla kanser gelişimini hızlandırabilir. Birçok proinflamatuvar gen ürününün apoptozisin baskılanmasında, proliferasyonda, anjiogeneziste, invazyonda ve metastazda kritik roller üstlendikleri tanımlanmıştır (50).

2.10.1. Nitrik Oksit (NO)

Nitrogliserin, ilk defa 1847’de İtalyan bilim adamı Ascanio Sobrero tarafından keşfedilse de; üretimini mükemmelleştiren 1860’larda İsveçli kimyager Alfred Nobel olmuştur. Bu gelişmeler 1867’de nitrogliserinin patlayıcı olarak kullanımı ve dinamitin keşfi ile sonuçlanmıştır. Tıpta nitrogliserin, nitrovazodilatör prototipi olarak bilinmekte ve angina tedavisi için yaygın olarak kullanılmaktadır. 1987 yılında, endotel (damar endoteli) kökenli gevşeme faktörü (EDRF) olarak bilinen yapının izole edilmesi sırasında nitrik oksit sentaz enzimi keşfedilmiştir. Nitrogliserinin etkin molekülü nitrik oksitin (NO, azot monoksit) keşfi ve biyolojik etkilerini açıklayan çalışmaları ise; Robert Furchgot, Ferid

Murad ve Louis Ignarro'ya 1998 Nobel Fizyoloji ve Tıp Ödülü'nü getirmiştir. EDRF'nin de NO molekülü olduğu anlaşılmıştır (51).

Bir veya daha fazla sayıda ortaklanmamış elektron içeren atom ya da moleküllere serbest radikal denilmektedir ve NO taşıdığı ortaklanmamış elektron nedeniyle radikal bir moleküldür. Diğer serbest radikaller her konsantrasyonda hücre için zararlıdır, ancak NO düşük konsantrasyonlarda çok önemli fizyolojik işlevlere sahiptir. Buna karşın aşırı ve kontrolsüz NO üretimi hücreler için zararlı olabilmektedir. Serbest radikaller katalaz, superoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz vb. antioksidan sistemler tarafından bir denge içerisinde tutulur. Serbest radikallerin antioksidanlara karşın üstünlüğü, yani dengenin oksidan lehine kayması, çeşitli hücre hasarlarına ve kronik hastalıklara yol açabilir (52).

NO, biyoaktif metabolitlerin en küçüklerinden biridir. Yarı ömrü birkaç saniye olduğu için sadece lokal olarak etkindir. Düşük molekül ağırlığı ve lipofilik yapısı nedeni ile kolay ve hızlı bir şekilde hücre zarlarından geçebilmektedir. NO fizyolojik ve inflamatuvar süreçte bir çok önemli göreve sahiptir, bu görevlerin başlıca olanları şu şekilde sıralanabilir:

1. Solunum, gastrointestinal, genitoüriner sistemlerde vazodilatasyon (kan damarlarının gevşemesi) için NO-bağımlı mekanizmalarda kullanılır.
2. Merkezi sinir sisteminde bir nörotransmitter olarak hafızanın oluşumunda rol oynamaktadır.
3. Trombositlerin yapışarak birikmesini engeller.
4. Kalp kasılmalarında düzenleyicidir ve iyon kanallarının açılıp kapanmasına katkıda bulunur.

5. Nonspesifik immünitete de rolü vardır. Sitotoksik özelliğe sahip olduğundan, vücut savunması ve immünolojik reaksiyonlar sırasında aktive olmuş makrofajlar tarafından çok miktarda üretilirler (53, 54).

2.10.1.1. NO Biyosentezi ve Nitrik Oksit Sentaz (NOS)

NO, nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi aracılığı ile L-arjinin'in oksidatif deaminasyonu sonucu oluşan ve sayısız biyolojik sürece dahil olan gaz tabiatında küçük molekül ağırlıklı, radikal bir moleküldür.(55).

“L-Arg → NO + L-Sitrulin” biçiminde özetlenebilecek tepkimede NOS katalizasyon için moleküler oksijen ve kofaktör olarak da'a yükseltgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid fosfata (NADPH) ihtiyaç duymaktadır. NO'nun etkilerinin çoğuna aracılık eden klasik yolak, çözünebilir guanilat siklaz (sGC) aktivasyonu ve guanozin trifosfatın (GTP) ikincil haberci molekül siklik guanozin monofosfatlara (cGMP) dönüşümüdür (54).

NOS'un birbirine yapısal olarak çok benzeyen 3 izoformu bulunmaktadır:

- Nöronal NOS (nNOS – NOS1)
- İndüklenebilir NOS (iNOS – NOS2)
- Endotelyal NOS (eNOS – NOS3) (56).

eNOS ve nNOS düşük miktarlarda sürekli olarak eksprese edilir ve kalmodulin varlığında sitoplazmik iyonize kalsiyum (Ca^{+2}) artışına paralel olarak ekspresyonları artar. Ca^{+2} un hücre içine akışı, NO'nun hızla üretilmesine neden

olur. Buna karşın iNOS, çeşitli sitokinler ve diğer uyaranlar tarafından makrofajların ve diğer bazı hücre gruplarının aktive edilmesiyle indüklenerek NO sentezine katılır ve bunun için de Ca^{+2} artışına ihtiyaç duymaz (54).

NO inflamasyon reaksiyonlarında çok yönlü bir role sahiptir. İnflamatuar ajanların ve sitokinlerin varlığında iNOS'un ekspresyonu artarak NO miktarı yüksek düzeylere çıkar (53). Sitokinler tarafından aktive edilmiş makrofajların tükettiği L-arjinin'in 1/3'ü NO üretmek için kullanılmaktadır (57).

NO'nun akut ve kronik inflamasyonda etkili olduğu bilinmektedir ve NOS inhibitörleri ile gerçekleştirilen tedavinin ratlarda akut inflamasyonu azalttığı gösterilmiştir. Çeşitli dokular inflamatuvar sitokinlere maruz bırakıldığında ise iNOS ekspresyonunda ve dolayısıyla NO miktarında artış gözlenmiştir (53).

NO'nun inflamasyonda pek çok görevi vardır. Bu görevler arasında, vazodilatasyon, trombosit aktivitesinin her aşamasında antagonist etki, inflamasyon bölgelerinde lökosit birikiminin azaltılması, aktif makrofajlarda mikroorganizmaları öldürme yer alır.

2.10.1.2. NOS ve Kanser

Günümüze kadar NOS'un üç izoformu bulunmuştur; nNOS, eNOS ve iNOS. nNOS ve eNOS sırasıyla nöronlarda ve endotel hücrelerinde sürekli mevcuttur ve intraselüler Ca^{+2} yükselmesine ihtiyaç duyarlar. Bu izoformlar esas olarak kalsiyum girişi ile düzenlenir ve kısa zaman periyodunda düşük seviyede NO üretirler (56). iNOS formunun ise her hücre tipinde sitokinler tarafından

indüklenmesi şarttır ve uzun zaman periyodlarında yüksek konsantrasyonlarda NO üretebilirler. NO inflamatuvar yanıt sırasında vasküler fonksiyonda önemli rol oynar, güçlü vazodilatatördür. Vasküler düz kas relaksasyonuna ek olarak, NO'nun inflamasyonda başka önemli görevleri vardır. Platelet agregasyonunu ve adezyonunu azaltır, mast hücrelerinin indüklediği inflamasyonu bazı yönleriyle inhibe eder ve lökosit toplanması için düzenleyici rol oynar. NO'nun karsinogeneizde hem koruyucu hem de destrüktif etkileri vardır (58).

Bazı çalışmalar kronik inflamasyonda NOS'un aşırı üretiminin genotoksisiteye yol açabileceğini vurgulamışlardır. NO DNA lezyonlarına üç muhtemel mekanizmadan biriyle yol açabilir: 1) karsinojenik nitrozaminlerin oluşumu, 2) DNA'nın reaktif nitrik oksit ürünleri (RNOS) tarafından doğrudan modifikasyonu, 3) diğer genotoksik maddeler tarafından oluşturulan DNA lezyonlarının tamiri için gerekli sistemlerin inhibisyonu. Bunlar dışında, bazı RNOS DNA zincir kırıklarına yol açabilir.

Nitrosatif ve oksidatif stresler DNA'da değişik tipte mutasyonlar oluşturabilir. Nitrozaminler, nitrosatif stres ile ilişkili kimyasal ara maddeler tarafından oluşturulabilir ve potansiyel olarak karsinojeniktir. Örneğin, asidik nitrit tarafından oluşturulan RNOS midede bu tür karsinojenik nitrozaminleri oluşturabilir. NO'nun aerobik ortamda bulunması da nitrozamin oluşmasıyla sonuçlanabilir. NO'nun kendisi DNA veya proteinler gibi biyoorganik makromoleküllerle etkileşmez, yüksek konsantrasyondaki NO, nitrojen trioksit (N_2O_3) gibi RNOS oluşumuna yol açabilir(49).

2.10.1.3. NO ilişkili DNA Hasarı

Serbest radikal olan NO oldukça reaktiftir. İntraselüler NO hızlıca nitrit ve nitrat, S-nitrosotioller veya peroksinitriti oluşturur (59, 60). NO'nun biyolojik etkileri kısmen peroksinitrit ve nitrosonyum iyonu (NO^+) gibi NO metabolitleriyle ve peroksinitrit tarafından yapılan protein nitrasyonu ve NO^+ tarafından yapılan S-nitrolizasyonu önemli sinyal iletimi yollarını modüle edebilir. Fizyolojik etkilerinin yanında NO nitrosatif deaminasyon ile DNA hasarı, NO_2 ile DNA zincir kırılması, peroksinitrit ile oksidatif hasar ve DNA modifikasyonları yapabilir (60, 61). NO, N-nitrozaminler oluşturarak ve peroksinitrit yoluyla DNA-reaktif lipid peroksidasyon ara maddeleri oluşturarak DNA modifikasyonlarına sebep olabilir. (62, 63) NO ayrıca belirli DNA tamir aktivitelerini inhibe eder (64).

Karsinogenezde erken dönemlerde perilezyonel inflamasyon görüldüğü iyi bilinmektedir. Mutasyonel olayların NO'nun ve pek çok potansiyel olarak karsinojenik metabolitin inflamatuvar ekspresyonunun redoks DNA hasarı yoluyla meydana gelip gelmediği henüz ispatlanmamıştır. p53 tümör baskılayıcı genin (TBG) bazı bölgeleri 5-metilsitozinin deaminasyonu yoluyla insan karsinogenezinde NO'ya etiyolojik katkıda bulunabilir. NO'nun p53'te bu genin fonksiyonunu değiştirecek yapısal değişiklikleri indükleyebildiği bilinmektedir (65, 66). Dahası, başka modellerde NO'nun mutasyonel hasarın önemli bir işaretçisi olabilecek çift zincir DNA kırıklarını indükleme kabiliyeti olduğu gösterilmiştir (67).

Kronik inflamasyon sırasında NO'nun toksisitesi iki kimyasal olayla oluşur: 1) NO'nun peroksinitrit ve reaktif nitrojen türevleri olarak bilinen nitrat, nitrit ve N_2O_3 gibi nitrosan türevler oluşturmak için superoksitle oksidasyonu ve 2) proteinler ve NO arasında nitrolizasyon olayları ile doğrudan reaksiyon.

NO, DNA'ya hücreye spesifik olabilecek pek çok mekanizmayla zarar verebilir (68). Pürin ve pirimidinlerin nitrolizasyonu sitozinin urasile ve guaninin ksantine hidrolitik deaminasyonu ile sonuçlanır(69). Pürin bazının yerine pirimidin bazının geçmesi veya tersi NO'ya maruz kalan insan hücrelerinde ve çıplak DNA'da gözlemlenen major mutasyonlardır (70). N_2O_3 karsinojen-N-nitroz bileşikler, DNA zincir kırıkları oluşmasına sebep olan güçlü elektrofilik bir nitroz ajandır. Peroksinitrit de DNA ile doğrudan reaksiyona girebilir ve mutasyonlara ve DNA zincir kırıklarına yol açabilir (71). Deaminasyonun yanında NO ve/veya peroksinitrit DNA baz oksidasyonu yapabilir.

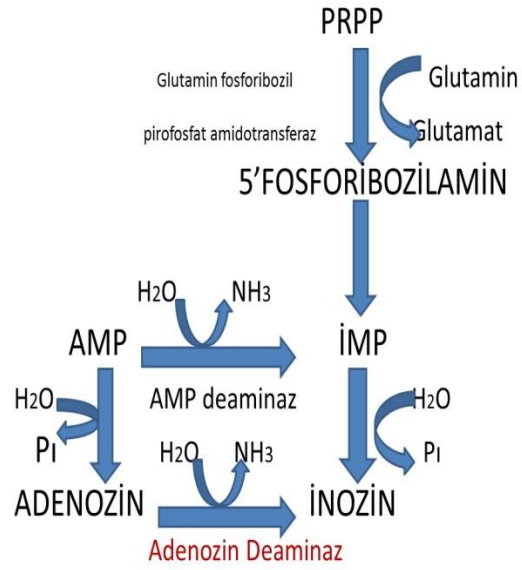
NO ve reaktif oksijen türevleri DNA'ya doğrudan zarar verebilmelerine rağmen memeli hücreleri genom tamiri için zengin ve kompleks mekanizmalara sahiptir. İnflamasyon sırasında DNA hasarının birikmesi doğrudan hasarın ve efektif olmayan tamirin göstergesidir. DNA tamir enzimleri de NO ve reaktif oksijen türevlerinin hedeflerinden gibi görünmektedir (72).

Sonuç olarak özellikle iNOS'un oluşturduğu NO hem DNA hasarı yapabilir hem de tamir mekanizmasını inhibe edebilir. NO'nun ve metabolitlerinin bu etkisi NO'yu kanseri inflamasyona bağlayan en önemli mediatörler arasına sokmaktadır. DNA hasarını onarma yanında organizma hücresel dönüşüme karşı programlı hücre ölümü gibi bir başka koruyucu mekanizması vardır.

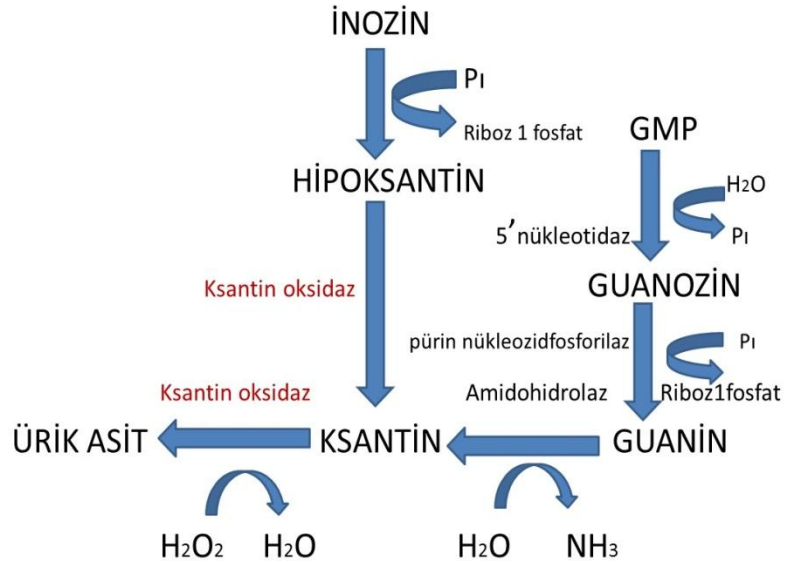
Onarılamayan DNA hasarı apoptozisin güçlü bir indükleyicisidir. NO birkaç aşamada apoptozisi inhibe ederek DNA hasarlı hücrenin sağ kalımını sağlar.

2.11. Pürin Metabolizması

Ribonükleozid ve deoksiribonükleozid fosfatlar (nükleotidler) bütün hücreler için esansiyel (mutlaka gerekli) olan maddelerdir. Bunlar olmadan ne DNA ne de RNA sentezlenebilir. Bunun sonucunda da proteinler sentezlenemez ve hücreler prolifer olamaz. Ayrıca bazı karbonhidratların, lipidlerin ve proteinlerin sentezinde nükleotidler aktifleştirilmiş ara bileşiklerin taşıyıcıları olarak görev yaparlar. Bazı esansiyel koenzimlerin yapısal bileşenleridirler, ek olarak nükleotidler hücre içinde enerji taşıyıcısıdır. Ara metabolizmadaki metabolik yolların çoğunda anahtar görevi olan enzimleri aktive veya inhibe ederek düzenleyici rol oynarlar. Nükleotidlerde bulunan pürin ve pirimidinle de novo (yeniden) sentezlenebilir veya diyetin içerdiği maddelerde bulunan ve daha önce sentezlenmiş bazlar böylece tekrar kullanılabilir (73). Bu döngü içerisinde yapım ve yıkım tepkimeleri bir denge içerisinde ilerler. ADA ve XO, diğer birçok özelliği yanında temel olarak sağlıklı hücrede denge içinde olan bu tepkimelerin pürin yıkım basamağında rol alan enzimlerdir (Şekil 1 ve 2) (73).



Şekil 1. Pürin nükleotidlerinin ürik aside (insanlarda pürin katabolizmasının son ürünü) yıkımı-1.



Şekil 2. Pürin nükleotidlerinin ürik asite (insanlarda pürin katabolizmasının son ürünü) yıkımı-2.

2.11.1. Adenozin Deaminaz (ADA)

ADA, pürin metabolizmasında anahtar bir enzimdir. Adenozinden bir amin koparır ve geri dönüşümsüz olarak inozine dönüşümünü sağlar (Şekil 1). ADA enziminin iki izoformu mevcuttur: ADA1 ve ADA2. ADA lenfosit, makrofaj vb. birçok kan hücresinde bulunur. ADA1 birçok hücrede bulunurken, ADA2 ise sadece makrofajlarda bulunur. Bu iki enzim izoformu, makrofajlarda parazitlerin öldürülmesi için kullanılan adenozin/deoksiadenozin oranını regüle eder. ADA2 insan kan plazmasında baskın olan enzim formudur; Romatoid Artrit, Psöriazis, Sarkoidoz vb. bağışıklık sistemi ile ilişkili birçok hastalıkta artış gösterir. Plazma ADA2 izoformu kanserli olgularda da artış gösterir. Toplam ADA enzim düzeyleri yüksek performanslı sıvı kromatografi, enzimatik veya kolorimetrik yöntemlerle ölçülebilir. Adenozinin inozine dönüşümü ile açığa çıkan amonyağın ölçümü en basit yöntemdir (74).

ADA yetmezliği, ilk kez 1972’de Giblett tarafından Şiddetli Kombine İmmün Yetmezlik Sendromu olan bir çocukta tanımlanmıştır. Bu dönemden sonra neoplastik ve neoplastik olmayan olgularda ADA enzimi üzerine birçok çalışma yapılmıştır. ADA aktivitesi özellikle lenfoid dokularda yüksek bulunur, T lenfositlerde B lenfositlerden 10-12 kat daha yüksek konsantrasyondadır ve T lenfosit matürasyonu için gereklidir (75). ADA inhibisyonu sonucu, hücre içinde ADA için substrat olan adenozin ve deoksiadenozin artar. Bu substratların artışı ise hücreyel immün cevabı inhibe eden 5’ nükleotidlerin (özellikle siklik adenozin monofosfat (cAMP)) artması ile sonuçlanır. Hücre içi deoksiadenozinin artışı, deoksi ATP artışına yol açarak nükleik asit sentezini inhibe eder, S-adenozin

homosistein hidrolazın inhibisyonu ise hücrenin canlılığı için gerekli olan esansiyel metilasyon tepkimelerinin inhibisyonu ile sonuçlanır (76). Ishii ve Green adenzinin memeli kültür hücrelerine karşı toksik olduğunu ve pirimidin biyosentezini inhibe ettiğini bildirmişlerdir (77).

Enzimin eksprese olmasını engelleyen ADA gen mutasyonları, Şiddetli Kombine İmmün Yetmezlik Sendromu ile sonuçlanırken; enzimin fazla eksprese olmasını sağlayan gen mutasyonları ise hemolitik anemi tablolarına neden olur (78). Prolifere olan hücrelerde (lenfosit vb.) DNA sentezi için ADA aktivitesinin yüksek, ADA için substrat olan ve hücre bölünmesi için inhibitör olduğu bilinen adenzinin ise düşük olduğu görülmüştür (75).

2.11.2. Ksantin Oksidaz (XO)

XO, ksantin oksiredüktaz (XOR) grubunun bir üyesidir ve memelilerde karaciğer ve barsaklarda yüksek konsantrasyonlarda bulunur (79). Normal koşullar altında memelilerde baskın olan XOR, ksantin dehidrogenazdır (XDH), %10 oranında XO olarak bulunur. Fakat iskemik şartlarda XDH, proteoliz ile XO'ya dönüşür. Her iki enzim de pürin nükleotidlerinin yıkımı yolağındaki; hipoksantinden ksantin ve ksantinden ürik asit oluşumu tepkimesini katalizler (Şekil 2). XDH aktivitesi NAD'ın NADH'ye dönüşümüne, XO ise oksijen dönüşümüne bağımlı tepkimelerdir.

İskemik dokuda reaktif oksijen radikallerinin en fazla ürünü olan süperoksit (O_2^-) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) bu reaksiyon sonucu oluşur (80).

Fakat süperoksit ve H_2O_2 nispeten inaktiftir, her iki bileşik daha reaktif ürünler olan hidroksil ve peroksile dönüşebilir veya diğer moleküllerle reaksiyona girebilir (örneğin; reaktif oksijen radikallerinin nitrik oksitle reaksiyona girip peroksinitriti oluşturması) (81).

Normal şartlarda fizyolojik olarak görev yapan reaktif oksijen türlerinin kontrolsüz artışı veya bunları sınırlayacak antioksidan mekanizmaların işlevinin azalması durumunda organizma için zararlı olan sonuçlar doğuran oksidatif stres ortaya çıkar. Organizmadaki birçok makromoleküler yapı, reaktif metabolitlerin vereceği hasara açıktır. Örneğin hücre membranları çoklu doymamış yağ asitlerinden zengindir. Bu yağ asitlerinin oksitlenmesi sonucunda membran yapısı bozulmakta ve hücre geçirgenliği artmaktadır. Serbest radikallere duyarlı bir diğer makromolekül de proteindir. Protein yapısındaki bazı aminoasitlerin oksidasyonu ile proteolizis olmaktadır. Bu durumdan yapısında protein bulunduran maddeler zarar görmektedir. Yine reaktif oksijen türleri, DNA ile reaksiyona girerek yapısını bozmakta, böylece çeşitli mutasyonlar oluşturmaktadır. Bu yüzden reaktif oksijen radikallerinin oluşumunda temel enzimlerden biri olan XO aktivitesi, *invivo* ortamda iskemik dokuların reperfüzyonu ile oksidatif stresi arttırabilir (81).

Yapılan çalışmalarda XO aktivitesinin termal stres, solunum yetmezliği, viral enfeksiyon, hemorajik şok vb. durumlarda arttığı gözlenmiştir (82).

2.11.2.1. XO ve Karsinogenez

Karsinogenez sürecinde karsinojen olarak tanımlanan kimyasal vb. maddelerin etkilerini göstermeleri için, vücudun enzim sistemleri tarafından metabolize edilmesi gerektiği bilinmektedir. Kabul edilen hipotez; bu kimyasalların vücutta elektrofilik metabolitlere (radikaller) dönüştüğü, bunların da nükleofilik DNA ile kovalent bağ yaparak reaksiyona girdiği ve sonuçta ortaya çıkan DNA'daki lezyonların onkogen aktivasyonuna yol açtığı şeklindedir.

Gerek çevredeki ve gerekse vücuda giren kimyasalların metabolize edilmesi sonucunda ortaya çıkan serbest radikallerin hücreleri tahrip ettiği ve genotoksik özellik taşıdığı gösterilmiştir (83). Yapılan çalışmalarda canlı organizmalarda oluşan serbest radikallerin yaşlanma süreci, kalp hastalıkları, Parkinson, Alzheimer hastalığı, serebrovasküler hastalıklar, nörosensoriyel bozukluklar, katarakt ve Romatoid Artrit'in yanında kanser gelişiminde de önemli rol oynadığı gösterilmiştir (84). Serbest radikaller hem doğal yoldan hem de endüstriyel işlemler sırasında çoğu oksidasyon reaksiyonlarında oluşmaktadır. Organik maddelerin havada çürümesi, plastiklerin işlenmesi, boyaların kuruması sırasında ve tamamen doğal bir işlem olan mitokondrilerdeki oksidatif fosforilasyon sürecinde araşidonik asitten tromboksan, prostoglandinler ve lökotrienlerin oluşumunda, benzer biçimde inflamatuvar reaksiyonlarda üretilmektedir. Ayrıca radyasyon vb. faktörlere maruz kalma neticesinde iyonizasyon ve serbest radikal oluşumu gündeme gelmektedir. Bunların dışında ısı, ağır egzersiz, sigara, hava kirliliği, pestisitler, asbestoz ve diğer birçok

karsinogen, fenobarbital, diyet yağları ve kemoterapötik ilaçlar gibi pek çok faktör serbest radikal oluşumuna ve hücre hasarına neden olabilir.

Serbest radikaller negatif yüklü elektron sayısının, nükleustaki pozitif yüklü proton sayısı ile eşit olmadığı moleküllerdir. Elektron konfigürasyonlarını pozitif yükle dengelemeleri gerektiğinden çok reaktiftirler. Eşleşmemiş elektron fazlası olan bir serbest radikal bağlanabileceği bir molekül arar. Oksijen radikali başka bir molekülden elektron aldığında diğer molekülün stabilizasyonunu bozar. Serbest radikaller vücutta önemli moleküllere zarar veren bir seri reaksiyonu başlatabilir ve sonuçta hücre ölümüne neden olabilir (84). Hücrede oluşan başlıca serbest radikaller tek bir elektronun moleküler oksijene eklendiği süperoksit radikalleri ve bu radikallerin bazı metal iyonlarının mevcudiyetinde (Fe^{+}) H_2O_2 ile reaksiyona girmesi neticesi oluşan daha reaktif hidroksil ($OH^{\cdot}$) radikalleridir. Oksijen radikallerinin patolojik etkileri, bu radikaller çok fazla sayıda olmadıkça başlamaz (85). Oksijen radikallerinin hücumuna uğrayabilecek önemli vücut yapıları arasında proteinler (enzimler, kollajen) nörotransmitterler, genetik materyaldeki nükleik asitler, membrandaki yağ asitleri vardır. Hücre membranlarındaki yağ asitleri oksitlendiğinde membran bütünlüğü bozulur ve hücre penetrasyona açık hale gelir. Oluşan lipid peroksitler, selüler hasara yol açan metabolizmayı ilerleten ve kan akımını azaltan potent kimyasal maddelerdir. Lizozomal membranların peroksidasyonu neticesinde hidrolazlar sitoplazmaya yayılarak hücrenin ölümüne neden olurlar (84).

Hastalıklı bir dokuda lipid peroksitlerin mevcudiyeti hücre hasarının nedeni olabileceği gibi bir hastalığın sonucu olarak da meydana gelebilir. Mesela

inflamatuvar ortamlarda nötrofiller serbest radikallerin oluşumuna neden olmaktadır. Aslında serbest radikallerin doğrudan aktive olmuş fagositler tarafından üretilmeleri enfeksiyon ajanlarını öldürmek içindir ve bu anlamda vücut savunmasında bu olayın büyük önemi vardır. Ayrıca bu radikaller nötrofiller için kemotaktik bir madde üretmek üzere plazma faktörü ile reaksiyona girerek doğrudan akut inflamatuvar cevap oluşumunda rol oynar (85). Lipid peroksidasyon zincirinde poliansature yağ asitleri suda çözünebilir ürünlere dönüşür ve membran bütünlüğü bozulur (84). Serbest radikal saldırısı altında çoklu doymamış yağ asitlerinin atomlarından biri kolaylıkla ayrılabilir ve meydana gelen yağ asiti radikali biyokimyasal bir trans formunda yeniden yapılan düzenleme ile stabilize edilir. Ortamda bulunan oksijenin ilavesiyle lipid peroksitler ve hidroperoksitler oluşur (86).

Vücutta hipoksantinden ve asetaldehitten (ksantin oksidaz enzimi aktivasyonu) süperoksitler sürekli olarak oluşmaktadır. Dihidrofumarat otooksidasyonu, dialürik asit otooksidasyonu vb. daha bir çok enzimatik faaliyet sonucunda da süperoksitler oluşmaktadır. Süperoksit radikallerinin enzimatik üretimlerinin keşfi ve aerobik hücrelerde süperoksit dismutaz (SOD) enziminin varlığının ortaya konması O_2^- 'nin oksijen toksisitesinde major faktör olduğunun öngörülmesine yol açmıştır (86). Vücut sıvılarında süperoksit radikalleri dismutasyon reaksiyonlarına uğrayarak daha az reaktif ürünlere dönüşür. Bu reaksiyonda süperoksitlere karşı ilk ciddi savunma mekanizması olan SOD rol oynamaktadır. Aksi halde bu süperoksitler çok daha reaktif OH radikallerinin oluşmasına neden olacaktır. Ayrıca hücrede bulunan Fe^{+3} 'ün de OH radikal

formasyonunda rolü olduğu araştırmacılar tarafından bildirilmektedir (86). Belli koşullarda süperoksit yapımı sekonder olarak artar ve belirgin selüler toksisite ortaya çıkar. Bu durum en çok postiskemik doku hasarında ortaya çıkmaktadır (87). Bu belirli bir iskemi periyodunun ardından, dokuya oksijen geldiğinde oluşmaktadır. İskemi sonucu oluşan serbest radikal fazlalığının primer kaynağı XDH'dır. Bu enzim normalde elektronların pürin bazlarından NAD'ın oksitlenmiş formlarına transferini sağlar. Hipoksi esnasında bu enzim hızla ve geri dönüşümsüz mekanizmayla XO'ya dönüşür. XO elektronlarını direkt oksijene transfer ederek çok miktarda süperoksit oluşturur (88). Hipoksi esnasında selüler ATP, yeni oluşan XO için mükemmel bir elektron kaynağı olan hipoksantine dönüşmektedir. Süperoksit için gerekli olan son substrat molekül oksijendir. Oksijenlenmiş kanla dokunun reperfüzyonu neticesi bu temin edilir. Noniskemik dokularda ksantin oksidaz ve hipoksantinle perfüzyon hasarı iki katına çıkmaktadır (89).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Yöntemler

3.1.1. Hastalar ve Örnekler

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi ve Ankara Onkoloji Eğitim Araştırma Hastanesi KBB ABD’de oral kavite kanserli (tedavi amaçlı cerrahi işlem öncesi insizyonel biyopsi ile tanı almış, radyoterapi ve/veya kemoterapi almamış, 18 yaş ve üzeri) cerrahi tedavi kararı verilen hastalarda 2011-2012 yılları arasında çalışma yapılmıştır. GÜTF Etik Kurul Onayı (27.04.2011 tarihli 117 karar numaralı) alınmıştır (Ek-1). Tedavi amaçlı yapılan (cerrahi işlem öncesi onamları alınan hastaların) cerrahi sonrası rezeksiyon materyalinde tümörlü sahadan (cerrahi sınırı bozmayacak şekilde ve tümörün evrelemesini etkilemeyecek boyutta) ve komşu tümörsüz cerrahi sınırdan 2-3 mm çapında alınan örnekler (Tıbbi Patoloji ABD’ye rezeksiyon materyalleri gitmeden ve formole konmadan önce) rezeksiyondan hemen sonra ependorf tüplerine (1-2 cc %0.9 serum fizyolojik ile) alınmıştır. Kontrol grubunu, tümör dokuları rezeke edilen hastaların cerrahi materyallerinin komşu tümörsüz bölgelerinden alınan dokular oluşturmuştur. Sıvı azot içerisinde transfer yapıldıktan sonra çalışma saatine kadar -80 °C’ de muhafaza edilerek, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Biyokimya ABD’de ADA, XO, NOS enziminin ve NO molekülünün aktivite çalışmaları yapılmıştır.

Hastaların tamamının tanısı histopatolojik olarak konmuştur. Hastalar cinsiyet, yaş, sigara ve alkol kullanımı, klinik ve patolojik tümör, lenf nodu

metastazı, uzak metastaz evreleri açısından değerlendirilmiş; bu parametrelerin söz konusu enzim ve molekül aktivite düzeyleri arasındaki korelasyon araştırılmıştır.

Çalışmaya önce 24 hasta dahil edilmiştir, çalışılacak enzim ve molekül aktivite düzeyleri açısından materyal boyutunun önemli olması nedeniyle çalışma grubu 17 hastadan oluşmuştur. Çalışmada 12 (%70,6) erkek ve 5 (%29,4) kadın hasta mevcuttur. Hastaların yaşları 27 ile 84 yaş arasında değişmektedir ve yaş ortalaması 59,53 +/- 14,475 olarak hesaplanmıştır.

3.1.2. Tümörlü ve Tümörsüz Dokuda Ölçümü Yapılan Çeşitli Parametrelere Ait Metotlar

3.1.2.1. Lowry Yöntemi (Protein Miktarı Tayini):

Oral kavite tümör ve tümörsüz doku homojenatlarının santrifüjünden sonra elde edilen süpernatanda, protein konsantrasyonlarının tayininde Lowry protein ölçüm yöntemi kullanılmıştır. Spektrofotometrik bir ölçüm yöntemi olan bu deneyin prensibi; fosfomolibdik asit ve fosfotungstik asitin, Cu^{+2} - protein kompleksi ile reaksiyonu sonrasında mavi renk oluşturması esasına dayanır. Bu tepkimenin gerçekleşmesinde, proteinlerin triptofan ve tirozin içeren bakiyeleri etkilidir. Oluşan bu renkli bileşiğin absorbanısı= optik dansitesi (OD), spektrofotometrede, 700 nm dalga boyunda ölçülür. Elde edilen sonuç, protein konsantrasyonları ile doğru orantılıdır.

Deneyde kullanılan reaktiflerin içeriği:

- A reaktifi: 0,5 gr $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ile 1 gr sodyum sitratın 100 ml distile suda çözülmesiyle elde edilir.
- B reaktifi: 0,1 N 1 L NaOH içinde, 20 gr Na_2CO_3 çözülerek elde edilir.
- C reaktifi: 1 ml A reaktifi + 50 ml B reaktifi karıştırılarak elde edilir.
- D reaktifi: 10 ml Folin- Cioceltau reaktifine 10 ml distile su ilave edilerek hazırlanır.

Folin- Cioceltau reaktifi: 700 ml distile suda, 25 gr sodyum molibdat ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ve 100 gr sodyum tungstat ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) çözülür. Daha sonra, 100 ml derişik HCl ve 50 ml fosforik asit (%85'lik) ilave edilir. 10 saat süreyle hafif ateşte kaynatılır. Kaynatma işleminin ardından, 150 gr lityum sülfat (Li_2SO_4) ve 50 ml H_2O eklenir. 3 damla brom damlatıldıktan sonra, karışım 15 dakika süreyle kaynatılır. Soğutma işleminden sonra distile suyla tamamlanır.

10 dakika oda sıcaklığında inkübasyondan sonra, 0,25 ml D reaktifi numune ve kör tüplerine ilave edilir. Karışım tekrar 30 dakika süreyle oda ısısında bekletilir. Sonrasında spektrofotometrede 700 nm dalga boyunda, kör ve numunenin absorbansı distile suya karşı okunur. Bu deney için hazırlanan albümin standartlarının optik dansite değerlerinden yararlanılarak çizilen 'standart grafiği' kullanılmıştır. Buna göre hesaplanan faktör değeri 20'dir ve protein konsantrasyonu "protein konsantrasyonu (mg/ml)= $(\text{OD}_N - \text{OD}_{\text{Kör}}) \times 20$ " formülüne göre hesaplanmıştır.

3.1.2.2. ADA Aktivitesi Ölçüm Yöntemi:

Bu yöntemin esası adenzinden ADA enzimi yardımıyla inozin oluşumu sırasında açığa çıkan fenol nitroprussid ve alkali hipoklorid çözeltisi ile reaksiyona girmesiyle oluşan mavi rengin 628 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmesidir.

Analizde kullanılan reaktiflerin hazırlanışı şöyledir:

- Fosfat tamponu (pH 6,5; 50 mM fosfat): 4,73 gr $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ve 5,62 gr $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ tartılıp distile suda çözülerek hacim 1 litreye tamamlanır.
- Adenzin çözeltisi (2mM): 140 mg adenzin tartılıp, 25 ml fosfat tamponunda (50 mM, pH 6,5), sıcak su banyosunda çözülerek hazırlanır ve soğutulur.
- Amonyum sülfat stok çözeltisi (15 mM): 1,982 gr anhidroz amonyum sülfat $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$ tartılıp distile suda çözülerek hacim 1 litreye tamamlanır.
- Amonyum sülfat standart çözeltisi (75 μM): 0,5 ml amonyum sülfat stok çözeltisi fosfat tamponu kullanılarak 100 ml hacme tamamlanır.
- Fenol nitroprussid çözeltisi (106 mM fenol ve 0,17 mM sodyum nitroprussid): 10 gr fenol ve 50 mg sodyum nitroprussid tartılarak distile suda çözülür ve hacim 1 litreye tamamlanır.

- Alkali hipoklorid çözeltisi (11mM NaOCl ve 125 mM NaOH): 125 ml 1 N NaOH ve 16,4 ml Clorox (%5) karıştırılır ve hacim distile suyla 1 litreye tamamlanır.

Deney protokolü basamakları tablo 5 ve 6’da açıklanmıştır.

Tablo 5. ADA aktivitesi ölçüm yöntem protokolü-1

	Örnek Tüpü (Numune) (N)	Kör Tüpü (NK)	Standart Tüpü (S)	Standart Kör Tüpü (SK)
Adenozin Çözeltisi	0,5 ml	0,5 ml	---	---
Örnek (Numune)	25 µl	---	---	---
Standart çözeltisi (Amonyum sülfat)	---	---	0,5ml	---
Fosfat tamponu	---	---	---	0,5ml
Distile su	---	---	25µl	25µl

Deney tüpleri karıştırıldıktan sonra 37°C su banyosunda 60 dakika süreyle inkübe edilir ve tablo 6’da izlenen şekilde devam edilir.

Tablo 6. ADA aktivitesi ölçüm yöntem protokolü-2

Fenol nitroprussid çözeltisi	1,5 ml	1,5 ml	1,5 ml	1,5 ml
Örnek (numune)	---	25 µl	---	---
Alkali hipoklorid çözeltisi	1,5 ml	1,5 ml	1,5 ml	1,5 ml

Deney tüpleri karıştırıldıktan sonra 37°C su banyosunda 30 dakika daha inkübe edilir. Bunun ardından 628 nm dalga boyunda distile suya karşı hem numune hem de körün absorbanları ölçülür.

$$\text{ADA aktivitesi (mIU/ml)} = \text{NOD-NKOD} / \text{SOD-SKOD} \times F$$

Bu çalışmadaki F değeri 50 olarak alınmıştır.

3.1.2.3. XO Aktivitesi Ölçüm Yöntemi:

Bu yöntemin esası; ksantinden XO enzimi yardımıyla ürik asit oluşumu ve oluşan ürik asitin 293 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmesidir. Birim zamanda oluşan ürik asit miktarı üzerinden XO aktivitesi hesaplanır.

Deneyde kullanılan reaktiflerin içeriği şu şekildedir:

- Fosfat tamponu (pH 7,5; 50 mM fosfat; 0,5 mM EDTA) 0,5 gr KH_2PO_4 , 3 gr Na_2HPO_4 ve 93 mg EDTA (Disodyum tuzu, dihidrat) tartılıp distile suda çözüldükten sonra toplam hacim 500 ml'ye tamamlanır.

- Ksantin çözeltisi (2 mM): 7,6 mg katı ksantin, 25 ml fosfat tamponunda çözülerek hazırlanır.

Reaktiflerin tablo 7’deki miktarları ile protokol hazırlanır.

Tablo 7. XO aktivitesi ölçüm yöntem protokolü.

FOSFAT TAMPONU	2,8 ml
KSANTİN ÇÖZELTİSİ	0,1 ml
SÜPERNATAN	0,1 ml

Çözeltinin absorbansı kuartz kuvvet kullanılarak 293 nm’ de distile suya karşı ölçülür. Çözeltiler oda sıcaklığında inkübe edilip 1 ve 24 saat sonra tekrar ölçüm yapılır. Enzim aktivitesi, ürik asitin molar absorpsiyon katsayısı ve ölçüm değerleri arasındaki fark (ΔOD) kullanılarak hesaplanır. XO aktivitesi (mIU/mg) “($\Delta OD/\text{dakika}$) x F/ Protein Konsantrasyonu (mg/ml)” formülü yardımıyla hesaplanmıştır. Bu çalışmadaki F değeri 3000 olarak alınmıştır.

3.2.2.4. NO Ölçüm Yöntemi:

Spektrofotometrik ölçüm metodu kullanılmıştır. Deneyin prensibi; NO’nun asidik ortamda sülfanilik asiti diazotizasyonu ve takiben naftiletilendiamin ile reaksiyona girmesi esasına dayanır. Sonuçta ortaya çıkan

renkli bileşiğin absorbansı, 540 nm’de okunur. Ölçülen değer NO konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

Deneyde kullanılan reaktiflerin içeriği şu şekildedir:

- Sülfanilik asit çözeltisi: 10 ml distile suda 180 mg sülfanilik asit çözülür.
- Naftiletilendiamin çözeltisi: 10 ml distile suda 162 mg naftiletilendiamin çözülür.
- Hidroklorür (HCl): 10 ml distile suda 50 µl HCl çözülür.

200 µl numuneye %20’lik 20 µl triklorasetik asit (TCA) eklenir. 5 dakika süreyle beklenir. Daha sonra 200 µl distile su ilave edilir. 5 dakika süreyle 5000 devirde santrifüj edildikten sonra süpernatant alınır. İçine kadmiyum (Cd) metali konulur. 24 saat bekletildikten sonra tablo 8’deki protokol uygulanır.

Tablo 8. NO Ölçümü Metoduna Ait Protokol

	Kör	Numune
Süzüntü	100 µl	100 µl
HCl	250 µl	250 µl
Sülfanilik Asit	250 µl	250 µl
Naftiletilendiamin	---	250 µl
Distile Su	250 µl	---

Son işlemden sonra tüpler 10 dakika oda sıcaklığında bekletilir. Daha sonra spektrofotometrede, 540 nm’de distile suya karşı okunur. NO konsantrasyonu, hazırlanan standartla elde edilen OD değerinden “ODN-ODKör)x 250” formülü ile hesaplanır. Bu formülde ‘Faktör’ değeri 250 olarak alınmıştır.

3.1.2.5. NOS Aktivitesi Ölçüm Yöntemi:

NO, L-argininden nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi aracılığıyla oluşur. Bu deneyin prensibi, NO deneyinde olduğu gibi; L-argininden oluşan NO’nun asidik ortamda sülfanilik asiti diazotizasyonu ve takiben naftilendiamin ile reaksiyona girmesi esasına dayanır. Oluşan renkli çözeltinin absorbanı, spektrofotometrede 540 nm dalga boyunda okunur. Ölçülen değer NO konsantrasyonuyla doğru orantılıdır. Birim zamanda oluşan NO (NO’dan oluşan nitrit) miktarı üzerinden NOS aktivitesi hesaplanır.

Deneyde kullanılan reaktiflerin içeriği şu şekildedir:

- Substrat çözeltisi: 10 ml distile suda 700 mg arginin çözülür.
- Sülfanilik asit çözeltisi: 10 ml distile suda 180 mg sülfanilik asit çözülür.
- Naftiletilendiamin çözeltisi: 10 ml distile suda 162 mg naftiletilendiamin çözülür.
- HCl: 10 ml distile suda 50 µl HCl çözülür.

NOS aktivitesi ölçüm yöntemi protokolü tablo 9,10 ve 11’de gösterilmiştir.

Tablo 9. NOS Aktivitesi Ölçümü Metoduna Ait Protokol-1

	Kör	Numune	Standart Körü	Standart
Standart	---	---	---	100 µl
Numune	100 µl	100 µl	---	---
Arginin	---	100 µl	---	---
Distile Su	100 µl	---	200 µl	100 µl

Tüpler oda sıcaklığında 1 saat bekletildikten sonra tablo 10'daki ölçülülerde devam edilir.

Tablo 10. NOS Aktivitesi Ölçümü Metoduna Ait Protokol-2

20 TCA	20 µl	20 µl	20 µl	20 µl
Arginin	100 µl	---	100 µl	100 µl
Distile su	---	100 µl	---	---

Tüpler oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edilir. 5000 devirde 5 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant alınır. İçine Cd konulan tüpler 24 saat bekletilir. Cd'ler çıkartıldıktan sonra çalışmaya tablo 11'deki şekilde devam edilir.

Tablo 11. NOS Aktivitesi Ölçümü Metoduna Ait Protokol-3

Süzüntü	200 µl	200 µl	200 µl	200 µl
HCl	250 µl	250 µl	250 µl	250 µl
Sülfanilik Asit	250 µl	250 µl	250 µl	250 µl
Naftiletilendiamin	---	250 µl	250 µl	250 µl
Distile su	250 µl	---	---	---

Son işlemden sonra tüpler oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edilir. Daha sonra spektrofotometrede, 540 nm dalga boyunda absorbanslar okunur. Standart olarak sodyum nitroprussid kullanılır.

NOS aktivitesi standardın optik dansite değerinden yararlanılarak ve bir saatlik inkübasyon süresi dikkate alınarak, “NOS aktivitesi (IU/mg) = $(\Delta OD_N - \Delta OD_{Kör}) \times 37.5 / \text{Protein Konsantrasyonu (mg/ml)}$ ” formülüyle hesaplanır. Bu formülde ‘Faktör’ değeri 37,5 olarak alınmıştır.

3.2. Araç ve Gereçler

3.2.1. Kullanılan Laboratuvar Cihazları ve Gereçler

- Derin dondurucu (-80 °C, Sanyo marka)
- Buzdolabı (+4 °C, Arçelik marka)
- Hassas elektronik tartı (Sartorius basic marka)
- Sabit/ayarlanabilir pipetler (Socorex ve Brand marka)
- Spektrofotometre (Unicam marka)
- Soğutmalı santrifüj (Labofur 200, Heraeus marka)
- Homojenizatör (B. Braun Melsungen marka)
- Azot tankı (GT212 EINOX Air liquide marka)
- Ependorf tüpleri

3.2.2. Kullanılan İstatistiksel Yöntemler

Bulguların istatistiksel analizleri SPSS 15- Windows Paket Programı kullanılarak yapılmıştır. Gruplar arası istatistiksel yöntemlerde İki Eş Arasındaki Farkın Önemlilik Testi (Paired Samples T Test) ve Kruskal-Wallis Testleri kullanılmıştır. $P < 0,05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Bu çalışmada oral kavite kanseri dokusunda ADA, XO, NOS ve NO aktivite düzeyleri araştırılmış ve sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Çalışma kapsamında 17 hastaya ait kanser dokusu ile kontrol amaçlı olarak aynı bireylerin komşu sağlam mukozaları kullanılmıştır. Hastaların tamamının tanısı histopatolojik olarak konmuştur. Hastalar cinsiyet, yaş, sigara ve alkol kullanımı, klinik ve patolojik tümör, lenf nodu metastazı, uzak metastaz evreleri açısından değerlendirilmiş; bu parametrelerin söz konusu enzim ve molekül aktivite düzeyleri arasındaki korelasyon araştırılmıştır.

Hastaların oral kavite karsinomlarının yerleşim bölgeleri ve histopatolojik dağılımı tablo 12’de gösterilmiştir.

Tablo 12. Hastaların oral kavite karsinomlarının yerleşim bölgeleri ve histopatolojik dağılım yüzde (%) ve sayıları (n)

- Dil yassı hücreli karsinomu %52,9 (n=9)
- Retromolar trigon yassı hücreli karsinomu %11,8 (n=2)
- Sert damak malign melanomu %11,8 (n=2)
- Dudak yassı hücreli karsinomu %5,9 (n=1)
- Gingiva yassı hücreli karsinomu %5,9 (n=1)
- Ağız tabanı yassı hücreli karsinomu %5,9 (n=1)
- Ağız tabanı adenokistik karsinomu %5,9 (n=1).

Hastaların %70,6'da (n=12) sigara kullanma alışkanlığı, % 5,9'da (n=1) alkol kullanma alışkanlığı mevcuttu.

Preoperatif klinik ve postoperatif patolojik TNM evrelemesi yapılmıştır. Kappa istatistiği ile klinik evreleme ile patolojik evreleme arasındaki uyum (agreement) anlamlı olarak değerlendirilmiştir. (kappa=1,00/ $p < 0,001$).

Hastaların klinik ve patolojik TNM evreleme sayı ve yüzdeleri tablo 13, 14 ve 15'te verilmiştir.

Tablo 13. Hastaların klinik ve patolojik tümör evrelerine göre (TNM evreleme sistemine göre) sayı ve yüzdesi

Evre	Hasta sayısı	Hasta yüzdesi (%)
1	4	23,5
2	8	47,1
3	2	11,8
4	3	17,6
Toplam	17	100

Tablo 14. Hastaların klinik ve patolojik lenf nodu evrelerine (TNM evreleme sistemine göre) sayı ve yüzdesi

Evre	Hasta sayısı	Hasta yüzdesi (%)
0	9	52,9
1	4	23,5
2	3	17,6
3	1	5,9
Toplam	17	100

Tablo 15. Hastaların klinik ve patolojik uzak metastaz evrelerine (TNM evreleme sistemine göre) sayı ve yüzdesi

Evre	Hasta sayısı	Hasta yüzdesi (%)
0	16	94,1
1	1	5,9
Toplam	17	100

Verilerin normalliği, Shapiro Wilk Testi ile değerlendirilmiş olup, normal dağılım gösterdiği saptanmıştır.

Tümörlü ve normal dokulardaki enzim değerleri İki Eş Arasındaki Farkın Önemlilik Testi (Paired Samples t Test) kullanılarak karşılaştırılmıştır. Test sonuçlarına göre; tümör dokusunda normal dokuya göre ADA aktivitesinde artış saptanmış, bu artış istatistiksel açıdan olarak değerlendirilmiştir ($p < 0,01$). NO, NOS aktivitesinde tümör dokusunda normal dokuya göre azalma saptanmış fakat bu azalma istatistiksel açıdan anlamlı değildir; XO aktivitesinde istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmamıştır ($p > 0,05$) (Tablo 16).

Tablo 16. Normal doku ve tümör dokusu arasında ADA, NO, NOS, XO aktivite farkı açısından istatistiksel değerlendirilmesi.

	Normal dokuda ortalama aktivitesi (N)	Tümör dokusunda ortalama aktivitesi (T)	Ortalama aktivite farkı (N-T)
ADA	7,279	25,228	-17,949 $p < 0,01$
XO	0,112	0,0848	0,0275
NO	89,647	69,676	19,970
NOS	6,022	5,742	0,280

Patolojik T, N, M evreleri ile (normal ve tümörlü dokuda) enzim, molekül aktivite düzeyleri arasındaki korelasyon değerlendirilmiş, anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$).

Yaş ile (normal ve tümörlü dokuda) enzim, molekül aktivite düzeyleri arasındaki korelasyon değerlendirilmiş, anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$).

Sigara ve alkol kullanımı ile normal ve tümörlü dokuda enzim, molekül aktivite düzeyleri arasındaki korelasyon değerlendirilmiş, anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

İlk kez 1863'te Virchow tarafından tanımlanan inflamasyon ve kanser arasındaki ilişki, kanserlerin kronik inflamasyon bölgelerinde oluşma eğiliminde olduğunu göstermiştir (90). Epidemiyolojik çalışmalar kronik inflamasyonun artmış kanser riskiyle ilişkisini desteklemektedir (48, 90, 91). İnflamasyon ve kanser arasındaki ilişkiye yönelik araştırmalar öncelikle lökositler gibi inflamatuvar hücreler tarafından üretilen reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin mutajenik saldırı yapıp yapmadığı ve tümörün başlamasıyla sonuçlanıp sonuçlanmadığına yönelik olmuştur (49). Kanser gelişmesinin, inflamatuvar hücreler ile beraber sitokinler, kemokinler ve enzimleri içeren mediatörler tarafından oluşturulan süreç olabileceği bilinmektedir (48). Bu süreç kanser gelişimine karşı olsa da, birçok sinyal yoluyla kanser gelişimini de hızlandırabilir (50).

NO önemli immün fonksiyonları olan ve NOS tarafından L-arjininden üretilen bir serbest radikaldir. Arjinaz enzimi, ortak substrat olan L-arjinin için NOS ile yarışa girerek NO üretimini azaltabilir. NO oral kavitenin patojenik mikroorganizmalara karşı nonspesifik koruyucu faktörlerden biridir. Fakat aşırı miktardaki NO tümör metabolizmasında doku destrüksiyonuna da neden olabilir. Bu yüzden NO oral kavite kanserlerinde hastalığın sürecine ait bir yolakta da yer alabilir (92).

NO vücutta vazodilatasyon, yara iyileşmesinin düzenlenmesi, enfeksiyona spesifik olmayan immün yanıt, konak savunması ve sitotoksosite vb. pek çok kritik role sahiptir (93). NO inflamatuvar yanıtta vasküler fonksiyonda önemli rol oynar, potent bir vazodilatatördür. İnflamasyondaki diğer önemli görevleri;

platelet agregasyonu ve adezyonunu azaltır, mast hücresinin indüklediği inflamasyonu bazı yönleriyle inhibe eder ve lökosit toplanmasında düzenleyici role sahiptir (94).

NO karsinogenezde iki ucu keskin bir bıçak gibidir çünkü iki zıt etkiye sahiptir. Molekölün lokal konsantrasyonuna bağlı olarak, NO tümöral veya tümörisidal etki gösterir (95, 96). Yüksek konsantrasyonlarda NO tümör büyümesini inhibe ederken, düşük konsantrasyonlarda tümör gelişimine katkıda bulunur (95).

NO ve p53 arasındaki ilişki deneysel olarak ispatlanmış, p53 mutasyonlarının artmış NO üretimi ile pozitif korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir. p53 dışında, tümör progresyonunda yer alan c-myc ve p21 onkogen mutasyonlarına da neden olduğu düşünülmektedir.

NO tümörisidal etkilere de sahiptir. Endojen olarak üretilen NO'nun tümör hücrelerine karşı sitotoksik olduğu ve hücre ölümünü indüklediği bilinmektedir (97, 98). Çeşitli direk ve indirek mekanizmalarla karsinogenezdeki etkileri şu şekilde sıralanabilir: DNA hasarı, DNA sentez inhibisyonu, ribonükleotid redüktazın inhibisyonu, cis-akonitaz aktivitesinin azaltılması, büyük fraksiyonlu demir havuzunun kaybı ile demir içerikli enzim inhibisyonu (95).

iNOS, makrofaj bağımlı tümör yıkım mekanizması olarak tanımlanan ilk NOS izoformudur. Bu yüzden bu enzim izoformunun ekspresyonu kanser çalışmalarının merkezi haline gelmiştir. Yapılan bir çalışmada iNOS geniyle enfekte olmuş, tümöral hücrelerin sadece kendi ölümleri için yetecek miktarda

değil aynı zamanda diğer hücrelerde sitotoksosite ve apoptozisi indükleyecek miktarda NO ürettikleri gösterilmiştir(99) iNOS ekspresyonunun ağırlıklı olarak peritümöral ve tümöral dokularda gerçekleştiği düşünülmektedir(95).

NO'nun spesifik etkisi muhtemelen lokal konsantrasyonlarına bağlıdır ve mevcut veriler pek çok kanserde NO'nun anjiogenezi arttırdığını ve tümörün büyümesini kolaylaştırdığını göstermektedir (100, 101). Deneysel çalışmalar yüksek NOS aktivitesi olan tümörlerin in vivo olarak daha hızlı büyüdüğünü göstermektedir (102). NO tümör proliferasyonundan üç etkiyle sorumlu olabilir: 1) tümör vaskülarizasyonu ve anjiogenezi ilerleterek, 2) tümör hücresinin endotel hücrelerine adezyonunu kolaylaştırarak, 3) vasküler permeabiliteyi arttırarak. Bu etkilerin hepsi primer tümörün hızlı büyümesini kolaylaştırabilir (103). Serbest radikal olarak NO oldukça reaktiftir. İntraselüler NO hızlıca nitrit ve nitrat, S-nitroso-tioller veya peroksinitriti oluşturur (59, 60). NO'nun biyolojik etkileri kısmen peroksinitrit ve NO⁺ gibi NO metabolitlerindendir. NO genotoksik ve anjiojenik özellikleri olduğundan mutant p53 taşıyan hücreleri seçebilir ve mutant p53 hücreleri NO'nun indüklediği apoptozise daha az duyarlı olabilir. Bazı çalışmalar kronik inflamasyonda NOS'un aşırı üretiminin genotoksisteye yol açabileceğini vurgulamışlardır. NO nitrosatif deaminasyon ile DNA hasarı (60, 69), NO₂ ile DNA zincir kırılması (104), peroksinitrit ile oksidatif hasar ve DNA modifikasyonları yapabilir (61).

NO'nun solid tümörlerin büyümesinde ve metastazında etkili olduğu bilinmektedir. NO'nun hem tümörü ilerletici, hem de tümörü inhibe edici etkileri olduğu için bu alan biraz karmaşıktır. NOS insan kolorektal adenokarsinomu,

serviks karsinomu, jinekolojik neoplazmlar, baş boyun yassı hücreli karsinomları, santral sinir sistemi tümörleri ve hepatoselüler karsinom gibi neoplazmlarında tümör hücrelerinde tanımlanmıştır (105-115).

Xu ve ark. tarafından yapılan çalışmada in situ duktal karsinomlarda yüksek oranda iNOS ve eNOS ekspresyonu olduğu saptanmış ve eNOS sonucu oluşan NO'nun hipoksi ve diğer stres faktörleri varlığında tümör hücrelerinin çoğalmasına katkıda bulunduğunu ileri sürülmüştür (95).

Vakkala ve ark. tarafından yapılan çalışmada; eNOS'un invaziv meme kanserlerinin %65'inde eksprese olduğu ve ileri evre olgularda iNOS düzeyinin arttığı saptanmıştır (116).

Baş boyun yassı hücreli karsinomlarında da NOS ekspresyonu ve aktivitesi bir çok çalışmada üzerinde durulan bir konudur (103, 117, 118).

Gavilanes ve ark. faringolarengeal kanserli 26 hastanın örneklerinde NOS aktivitesini araştırmışlar. Bu çalışmanın sonucunda, tümör büyümesi ve malignensinin kalsiyumdan bağımsız NOS izoformunun enzimatik ürünü olan NO'daki değişiklikle ilişkili olduğu görülmüştür (103).

Shigyo ve ark. tarafından yapılan 63 yassı hücreli karsinom hastasından oluşan bir çalışmada normal larengeal epitelde iNOS için pozitif imm nboyama saptanmazken, hafif/orta displaziden ağır displaziye ve karsinoma ilerlerken ekspresyon seviyeleri yükselmiş ve karsinomda en yüksek seviyelere ulaşmıştır (119).

Connelly ve ark. tarafından yapılan 22 oral yassı hücreli karsinom, 12 displazi ve 12 normal dokunun immunhistokimyasal çalışmasında; oral yassı hücreli karsinomlarında, (oral prekanseröz lezyonlarla kıyaslandığında) NOS anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Bu çalışmada ayrıca normal epitelle karşılaştırıldığında NO anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. (120).

Gallo ve ark. tarafından yapılan 43 baş boyun yassı hücreli karsinom hastasından oluşan bir çalışmada; baş boyun yassı hücreli karsinomlarında NOS'un simultane up-regüle olduğunu ve bu yolağın tümör anjiogenezi ve lenf nodu metastazı ile güçlü korelasyonu gösterilmiştir (121).

Avcı ve ark. tarafından yapılan 11 malign ve 8 benign oral kavite lezyonunda yapılan çalışmada; NO ve NOS aktiviteleri malign dokularda, benign dokularla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük bulunmuştur (92).

Bu bilgilerin ışığı altında kanser tedavisinde tümör büyümesinin kontrolü NO ve NO inhibitörü ile sağlamak karmaşık fakat olasıdır (92). Fakat bu konuda NO veya NO inhibitör ajanlarının konsantrasyonu ve etki yeri önem kazanmaktadır.

ADA memeli pürin salvaj yolağında anahtar bir enzimdir, adenzinin inozine dönüşümünü katalizler. ADA organizmanın birçok doku ve hücresinde özellikle sitozol bölümünde yer alan bir enzimdir (122), lenfositlerde (özellikle T lenfositlerde) yüksek oranda olduğu görülmüştür (123). İmmün sistemin normal fonksiyonu için serum ADA seviyelerinin belirli bir düzeyde olması gereklidir

(124) ve bu enzimin yokluğu veya düşük seviyelerinin immün yetmezlikle ilişkili olduğu bilinmektedir (125). ADA enzim aktivitesinin azalması, hücre içi adenosin ve deoksiadenosin artışına neden olur, bu moleküller hücre için toksiktir. Toksisite nedeni olarak bir çok faktör tanımlanmıştır. Deoksiadenosin, intraselüler dATP artışına neden olur, dATP ribonükleotid redüktaz için bir inhibitördür ve DNA sentezinde çeşitli bozukluklara neden olur (126). Deoksiadenosin S-adenosil homosistein hidrolazı inhbe eder, bu inhibisyon DNA sentezi, matürasyonu veya fonksiyonu vb. metilasyon bağımlı tepkimelerin de inhibisyonuna yol açar (127). Prolifere olan hücrelerde (lenfosit vb.) DNA sentezi için ADA aktivitesinin yüksek, ADA için substrat olan ve hücre bölünmesi için inhibitör olduğu bilinen adenosinin ise düşük olduğu görülmüştür. Azalmış ADA aktivitesi, intraselüler dATP ve dAMP konsantrasyonunu arttırarak; dATP/dAMP oranının da azalmasıyla enerji üretiminin azalmasına neden olur (128). Artmış serum ADA düzeylerinin malign olgularda artmış adenosin metabolizmasına neden olduğu bilinmektedir (75).

Bir çok çalışmada ADA enzim aktivitesi kanseröz doku ve hücrelerde artmış bulunurken (129-131) bazı çalışmalarda ise azalmış olarak bulunmuştur (132, 133).

Kumar ve ark. tarafından baş boyun kanserli 29 hastada yapılan çalışmada; kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kanserli olguların periferik lenfositlerinde ölçülen ADA düzeylerinin daha düşük olduğu, ADA düzeylerinin ileri evre kanser olgularında ise istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük olduğu görülmüştür. İleri evre olgulardaki bu durum, süprese hücrel immüitenin bir sonucu olarak

değerlendirilmiştir. Fakat aynı çalışmada immünite açısından değerlendirilen lenfosit sayısı ve deri testleri ile ADA aktivitesi arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır. Çalışmanın sonucunda ADA aktivitesinin hücrel immün yetmezlik açısından, lenfosit sayısı ve azalmış kutanöz hipersensitiviteden daha duyarlı olduğu ortaya konmuştur (125). Uberti ve Russo'nun kanserli olgularda yaptıkları çalışmalarda (134, 135) ve Sufrin'in transplante edilen mürin renal karsinomu üzerine yaptığı hayvan çalışmasında da ADA düzeyleri açısından benzer sonuçlar bulunmuştur.

Harbans ve ark. tarafından 40 baş-boyun kanserli olguda yapılan çalışmada; kontrol grubu (25 sağlıklı birey) ile karşılaştırıldığında serum ADA ortalama değeri kanserli olgularda yüksek (normal olguların 1,5-3 katı) bulunmuştur. ADA serum seviyesi ile tümör yükü (ve tümör evresi) arasında doğru bir orantı olduğu ve radyoterapi ile serum seviyelerinin azaldığı görülmüştür. Çalışmada hasta grubu lezyon tipine göre sınıflandırılmış; 22 hastada proliferatif, 14 hastada ülseratif, 4 hastada infiltratif lezyon olduğu izlenmiş ve en yüksek serum ADA aktivitesinin ülseratif lezyonlarda olduğu görülmüştür. Hasta grubu tümör histolojilerine göre sınıflandırıldığında ilk sırada skuamöz hücreli karsinom (n=28), daha sonra sırayla anaplastik karsinom, fibrosarkom, malign melanom, bazal hücreli karsinom, lenfoma ve adenokarsinom yer almaktadır. Aynı çalışmada ADA serum seviyelerinin tedavi (radyoterapi) cevabının değerlendirilmesinde de kullanılabileceği fikri ortaya atılmıştır (136).

Sufrin ve ark. yaptıkları çalışmalar sonucu, artmış serum ADA düzeylerinin primer tümör hücrelerinden veya lenfatik metastazdan kaynaklandığını ileri sürmüştür (137).

Formeister ve ark. tarafından (histolojik olarak geniş dağılıma sahip) kanserli olgularda yapılan çalışmada, özellikle metastatik tümörü olan olgularda serum ADA seviyelerinin yüksek olduğu gözlemlenmiştir (138).

Aghaei ve ark. tarafından meme kanserli olgularda yapılan çalışmada, toplam ADA ve ADA izoenzimlerinin aktivitesi serum ve tümör dokusunda değerlendirilmiş; ADA aktivitesi ile kanser progresyonu arasındaki ilişki araştırılmıştır. Total ADA ve ADA2 aktivitelerinin, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında serum ve tümör dokusunda daha yüksek olduğu görülmüştür. Tümör ADA2 ve total ADA aktivitelerinin lenf nodu tutulumu, histolojik evre ve tümör boyutu ile aralarında güçlü bir korelasyon bulunmuş, bununla beraber serum enzim düzeyleri ile menapozal durum ve hasta yaşı arasında da pozitif bir korelasyon bulunmuştur (139).

Walia ve ark. tarafından 25 meme kanserli olguda yapılan çalışmada; kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ADA ve 5' NT serum seviyelerinin anlamlı şekilde yüksek olduğu bulunmuş ve mastektomi sonrası enzim seviyelerinde anlamlı düşme görülmüştür. Çalışma sonucunda meme kanseri tanı ve tedavi takibinde ADA'nın değerli bir belirteç olduğu ileri sürülmüştür (140).

Saraçoğlu ve ark. tarafından yapılan çalışmada 10 oral kavite kanseri, 17 larinks kanser olgusunun tükürük salgısında ADA ve 5' nükleotidaz aktivitesi

preoperatif ve post operatif olarak değerlendirilmiş. Çalışmanın sonucunda oral kavite kanseri olgularında ADA, larinks kanseri ve kontrol olgularına göre daha düşük bulunmuştur. Fakat hasta grubu olgularında ADA ve 5'NT açısından, operasyon öncesi ve sonrası aktivite düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir. Sonuç olarak oral kavite kanseri olgularında düşük ADA aktivitesinin, hızlı pürin ve DNA metabolizmasına karşı kompensatuar bir mekanizma olabileceği fikri ortaya atılmış, fakat bu enzimlerin diagnostik ve/veya prognostik parametre olarak kullanılamayacağı sonucuna varılmıştır (128).

Canbolat ve ark. tarafından larinks kanseri olgularında, Lal ve ark. tarafından baş-boyun kanseri olgularında yapılan çalışmalarda serum ADA aktivitesinin kontrol olgularına göre yüksek olduğu, fakat preoperatif ve postoperatif düzeylerinde ise anlamlı fark olmadığı tespit edilmiş. Aynı çalışmalarda radyoterapi ile enzim aktivite düzeylerinin azaldığı ortaya konmuştur (141, 142). Bir başka çalışmada Sufrin ve ark. akciğer kanseri olgularında cerrahi sonrası serum ADA düzeylerinde azalma tespit etmiş; artmış serum ADA düzeylerinin primer tümör veya metastazdan kaynaklandığını ileri sürmüşler (143).

Durak ve ark. tarafından larinks kanseri olgularında tümör dokusunda yapılan çalışmada ADA ve 5'NT seviyelerinin azaldığı bulunmuş, Dasmahapatra ve ark. tarafından yapılan çalışmada da baş boyun kanseri olgularında düşük lenfosit ADA aktivitesi tespit edilmiştir (130, 132). Bu alışmalar düşük ADA aktivitesinin hücresel immndepresyon için duyarlı bir belirteç olduğunu savunmaktadır.

XO, pürin nükleotidlerinin yıkım yolağıındaki; hipoksantinden ksantin ve ksantinden ürik asit oluşumu tepkimesini katalizleyen enzimdir ve bu tepkime oksijen dönüşümüne bağımlı bir tepkimedir (73). Karsinogenezdeki esas önemi ise serbest radikallerin oluşum tepkimelerinde yer almasıdır. İskemik dokuda reaktif oksijen radikallerinin en fazla ürünü olan süperoksit (O_2^-) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) bu reaksiyon sonucu oluşur (80). Fakat bu moleküller nispeten inaktiftir, her iki bileşik daha reaktif ürünler olan hidroksil ve peroksile dönüşebilir (81).

Serbest oksijen radikallerinin ve benzer moleküllerin etkinliği, birçok hastalık (144), karsinogenez (145, 146) ve yaşlanma (147, 148) ile ilgili yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Oksijen radikallerinin hasara uğrattığı önemli vücut yapıları arasında; proteinler (enzimler, kollajen), nörotransmitterler, genetik materyaldeki nükleik asitler, membrandaki yağ asitleri bulunmaktadır.

Prajda ve Weber'in yaptıkları çalışmada; hepatoma oluşturulan ratlarda kanser dokularında XO aktivitesinin azaldığı izlenmiş ve bu enzimatik değişim kanser hücrelerinde pürin metabolizmasında sentez tepkimelerinin katabolik tepkimelere daha üstün olduğu şeklinde yorumlanmıştır (149).

Durak ve ark. tarafından yapılan çalışmada mide kanserli olguların mide sıvılarında XO aktivite düzeylerinin azaldığı saptanmış; bu durum kanser hücrelerindeki artmış katabolik aktivitenin enzim aktivitesini inhibe ederek (down regülasyon), tümörisidal yönde bir gelişme yarattığı şeklinde yorumlanmıştır (150). Benzer şekilde Alsabti de meme kanserli olgularda yaptığı çalışmada XO aktivitesinin azaldığını tespit etmiştir (151)

Akyol ve ark. tarafından yapılan çalışmada akciğer kanserli olguların plazma ve bronkoalveolar lavaj sıvısında XO aktivitesinin arttığı tespit edilmiş; bu durum kanseröz akciğer hücrelerinde hızlı DNA sentezinde önemli olan pürin katabolizmasını azaltmak için bir girişim olarak yorumlanmıştır (152).

Benzer şekilde Durak ve ark.'nın larinks kanser dokularında ve mesane kanser dokularında yaptıkları çalışmalarda XO aktivitesinin arttığı gözlenmiştir (153, 154).

Kalcıoğlu ve ark. tarafından yapılan çalışmada 35 baş boyun kanserli olguda XO serum aktivitesinin arttığı izlenmiş fakat bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir (155).

Enzim çalışmalarında farklı sonuçların tümörün histolojik tipine, kanser tedavisine, çalışılan farklı doku örneklerine (serum, tükürük, tümör dokusu vb.) ve farklı analiz yöntemlerine bağlı olduğu düşünülmektedir (128). Ayrıca enzim metabolizması kanser hücrelerinde karsinogenezin evresine göre değişmektedir, fakat bu sürecin hastanın sigara, alkol vb. alışkanlıklarından da etkilendiği düşünülmektedir (133).

Bu çalışmada oral kavite karsinom dokuları, tümörsüz kontrol dokuları ile karşılaştırıldığında; XO aktivitesi açısından istatistiksel açıdan anlamlı bir fark izlenmemiştir. NO ve NOS aktivitesinde ise istatistiksel açıdan anlamlı olmamakla birlikte azalma, ADA aktivitesinde ise istatistiksel açıdan anlamlı artış izlenmiştir. Literatürde sağlıklı kontrol grubu veya benign olgular ile karşılaştırılan kanser olgularının serum, tümöral doku vb. çalışmalarında bu

aktivitelerin artmış, bazı çalışmalarda ise azalmış olduğu görülmektedir. Çalışmamızda tümör ve kontrol örneklerinin aynı olgulardan alındığı göz önünde bulundurulursa; NO ve NOS aktivitesinin tümör dokusu dışında peritümöral dokuda da görüldüğü literatür bilgisiyle uyumludur. Tümör dokusundaki aktivitenin karsinogenez, peritümöral dokudaki aktivitenin ise inflamasyonun sonucu olduğu düşünülmektedir. ADA aktivitesinin artışı, tümör dokusunda hücrel proliferasyonun artması ile artış gösteren pürin metabolizmasının bir sonucudur. Bu bağlamda ADA inhibisyonu yapan bir ajanın oral kavite kanseri olgularında bir umut ışığı olabileceği düşünülmektedir.

6. ÖZET

Baş boyun kanserleri dünya çapında önemli bir sağlık problemi, beşinci en yaygın kanser türü ve ölüm sebebidir. Oral kavite kanserleri, baş boyun kanserleri içinde en sık görülenidir ve mortalitesi yüksektir. Karsinogenezde alkol, sigara, beslenme, viral enfeksiyon ve kötü ağız bakımı gibi belirli risk faktörleri olmasına rağmen; bu risk faktörleri kanser olgularının %5-10'unu açıklayamamaktadır. Kronik inflamasyonun uzun zamandır pek çok bölgede kanserle ilişkisi, tümör oluşumunun önemli bir bileşeni olduğu bilinmektedir, fakat sorumlu mekanizma tam olarak tanımlanamamıştır. Karsinogenez için yapılan çalışmalar karsinogen maddelerin vücudun enzim sistemlerini kullanarak metabolize edilmeleri gerektiğini vurgulamaktadır. Kabul edilen hipotez bu kimyasalların vücutta elektrofilik metabolitlere (radikaller) dönüştüğü, bunların da DNA'da hasara yol açarak onkogen aktivasyonuna yol açtığı şeklindedir.

Nitrik oksit (NO) ve nitrik oksit sentaz (NOS) inflamasyon sürecine etkileri, oksidan ve antioksidan etkileri bakımından karsinogenezde önemli roller üstlenir. ADA (Adenozin deaminaz) ve XO (Ksantin oksidaz) pürin metabolizma yolağında yer alan enzimlerdir. ADA'nın hücresel immünite için esansiyel olduğu bilinmektedir; bu enzim karsinogenezde hücre immünite dışında artmış hücre proliferasyonu açısından da önem arz etmektedir. XO (Ksantin oksidaz) temel olarak serbest radikallerin oluşum mekanizmasında karsinogenezde rol almaktadır.

Bu çalışmada oral kavite karsinom dokuları, tümörsüz kontrol dokuları ile karşılaştırılarak; ADA, XO, NO, NOS aktivitelerindeki farklılık yönünden

değerlendirilmiştir. On yedi hastadan rezeksiyon sırasında kanser dokusu ve komşu normal mukoza temin edilmiştir.

Enzim ve molekül aktivite düzeyleri ile yaş, alkol ve sigara kullanım alışkanlıkları, tümör boyutu, lenf nodu ve uzak metastaz evresi arasında anlamlı korelasyon izlenmemiştir. XO aktivitesi açısından istatistiksel açıdan anlamlı bir fark izlenmemiştir. Tümörlü dokuda NO ve NOS aktivitesinde ise istatistiksel açıdan anlamlı olmamakla birlikte azalma, ADA aktivitesinde ise istatistiksel açıdan anlamlı artış izlenmiştir. Çalışmamızda tümör ve kontrol örneklerinin aynı olgulardan alındığı göz önünde bulundurulursa; NO ve NOS aktivitesinin tümör dokusu dışında peritümöral dokuda da görüldüğü literatür bilgisiyle uyumludur. Tümör dokusundaki aktivitenin karsinogenez, peritümöral dokudaki aktivitenin ise inflamasyonun sonucu olduğu düşünülmektedir. ADA aktivitesindeki artış, tümör dokusunda hücrel proliferasyonun artması ile artış gösteren pürin metabolizmasının bir sonucudur. Bu bağlamda ADA inhibisyonu yapan bir ajanın oral kavite kanseri olgularında bir umut ışığı olabileceği düşünülmektedir.

7. SUMMARY

Head and neck cancers represent a major international health problem, accounting for the fifth most common type and cause of cancer related death worldwide. Oral cavity cancers are the most common in the head and neck cancers and has a high mortality. Although certain risk factors for the development of head and neck squamous cell carcinoma including alcohol, tobacco, nutrition, viral infection and poor dentition are known; however these do not adequately explain %5–10 of cases. Chronic inflammation has long been recognized as being associated with increased risk for human cancer at various sites and as an important component of tumorogenesis, although the mechanisms involved are not fully characterized. Carcinogenesis studies emphasizes that carcinogenic substances are needed to be metabolized by the body's enzyme systems. As this accepted hypothesis, these chemicals turn to the electrophilic metabolites (radicals) in the body and, these lead to the activation of oncogenes caused by DNA damage. Nitric oxide (NO) and nitric oxide synthase (NOS) play important roles in carcinogenesis, with the effects to inflammation process and oxidan and antioxdan effects. ADA (adenosine deaminase) and XO (xanthine oxidase) are the purine metabolic pathway enzymes. ADA is known to be essential for cell-mediated immunity, in carcinogenesis this enzyme is also important in terms of increased cell proliferation. XO (xanthine oxidase) plays a role as a basis of free radicals in the mechanism of carcinogenesis.

In this study, oral cavity carcinoma tissues were compared with tumor-free control tissues; ADA, XO, NO, NOS activities were evaluated in terms of

difference. Seventeen patients with cancerous tissue and adjacent normal mucosa were obtained during resection.

There were no significant correlations between enzyme- molecule activity levels and age, alcohol and smoking habits, tumor size, lymph node and distant metastasis stage. No statistically significant difference was observed in terms of XO activities. In tumor tissues, NO and NOS activities were observed as decreased but not statistically significant, ADA activities were observed as statistically significant increased. In our study In our study, in the view of the fact that tumor and control samples were taken from the same cases, NO and NOS activities were also seen in the peritumoral tissue (except in tumor tissue); this finding is compatible with the knowledge of the literature. The activity in tumor tissue is thought to be the result of carcinogenesis and peritumoral tissue activity is thought to be the result of inflammation. Increased ADA activity which increased with the increase in cellular proliferation in tumor tissue, is a result of purine metabolism. In this context, an agent that inhibites ADA, is thought to be a glimmer of hope in patients with oral cavity cancer.

8. ÖZGEÇMİŞ

Adı: Ayça

Soyadı: Ant

Doğum Yeri ve Tarihi: Ankara/1982

Eğitimi: 2007-2012 Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi KBB ABD

2000-2006 Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi

1994-2000 Ankara Atatürk Lisesi

1989-1993 60. Yıl İlköğretim Okulu

Yabancı Dili: İngilizce

Yayımları: 1- Complications of Pediatric Auditory Brain Stem Implantation via Retrosigmoid Approach. Bayazit YA, **Abaday A**, Dogulu F and Göksu N. ORL; journal for oto-rhino-laryngology and its related specialties 2011; **73**(2):72-5.

2- . Association of *GJB2* gene mutation with cochlear implant performance in genetic non-syndromic hearing loss. Karamert R, Bayazit YA, Altinyay S, Yılmaz A, Menevse A, Gokdogan O, Gokdogan C, **Ant A**. Int J Ped Otorhinolaryngol. 2011; **75**: 1572–5.

3- Genetics of Hearing Loss and Current Status in Turkey. **Ant A**, Bayazit YA. Türkiye Klinikleri J ENT-Special Topics 2012; **5** (2): 15-20.

- 4- Electroacoustic Stimulation. **Ant A**, Bayazıt YA. Türkiye Klinikleri J ENT-Special Topics 2012; 5 (1): 1-7.
- 5- Tinnitus Genetiği. **Ant A**, Bayazıt YA. KBB ve BB Cerrahisi'nde Güncel Yaklaşım. 2012; 8: 6-9

9. KAYNAKLAR

1. Lal H, Munjal SK, Wig U, Saini AS. Serum enzymes in head and neck cancer 3. J Laryn Oto 1987; 101: 1062-5.
2. Cummings CW, Flint PW, Harker LA, Haughey BH, Richardson MA, Robbins KT et al. Otolaryngology-Head and Neck Surgery 4th ed. Mosby, Inc, Philadelphia 2005; 2: 1578-1617.
3. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. Pathologic Basis Of Disease 7th ed. WB Saunders Company, Philadelphia, 2003; 132-74.
4. Hunter T. Cooperation between oncogenes. Cell 1991; 64: 249-70.
5. Cummings CW, Flint PW, Harker LA, Haughey BH, Richardson MA, Robbins KT et al. Otolaryngology-Head and Neck Surgery 4th ed. Mosby, Inc, Philadelphia 2005; 1: 402-21.
6. Alvi A, Myers EN, Johnson JT. Cancer of the head and neck, 3rd ed. Philedelphia: W. B. Saunders, 1996: 321-60.
7. Baker SR. Malignant neoplasms of the oral cavity. Otolaryngology-Head and Neck Surgery 2nd ed. 1993: 1248-305.
8. Civantos FJ, Goodwin WJ. Cancer of the head and neck, 3rd ed, 1996: 361-80.
9. Funk GF, Karnell LH, Robinson RA: Presentation, treatment and outcome of oral cavity cancer: a National Cancer Data Base Report, Head Neck 2002; 24: 165-80.

10. Schantz SP, Yu GP. Head and neck cancer incidence trends in young Americans, 1973-1997, with a special analysis for tongue cancer. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 2002; 128: 268-74.
11. Woods KV. Analysis of human papillomavirus DNA in oral squamous cell carcinoma. J Oral Pathol Med 1993; 22: 101-8.
12. Bray F, Sankila R, Ferlay J, Parkin DM. Estimates of cancer incidence and mortality in Europe in 1995. Eur J Cancer. 2002; 38: 99-166.
13. Blot WJ. Smoking and drinking in relation to oral and pharyngeal cancer. Cancer Res. 1988; 48: 3282-7.
14. Licitra L, Rossini C, Bossi P, Locati LD. Advances in the changing patterns of etiology of head and neck cancers. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg. 2006; 14: 95-9.
15. Singh B. Molecular pathogenesis of head and neck cancers. J Surg Oncol. 2008; 97: 634-9.
16. Maran AG, Wilson JA, Gaze MN. The nature of the head and neck cancer. Eur Arch Otorhinolaryngol. 1993;250:127-32.
17. Koch WM. Head and neck cancer in nonsmokers: a distinct clinical and molecular entity. Laryngoscope 1999; 109: 1544-51.
18. Moore C. Cigarette smoking and cancer of the mouth, pharynx and larynx. JAMA 1971; 218: 553.

19. Jusawalla DJ, Despandi VA. Evaluation of cancer risk in assesment. *Cancer* 1971; 28: 244-52.
20. Baden E. Prevention of cancer of the oral cavity and pharynx. *CA Cancer J Clin* 1987; 37: 49-62.
21. Wurman LH, Adams GL, Meyerhoff WL. Carcinoma of the lip. *Am J Surg* 1975; 130: 470-4.
22. Alavanja M, Buffler P, Fontham E, Franceschi S, Gao YT. Tobacco and cancer: recent epidemiological evidence. *J Natl Cancer Inst.* 2004; 96(2): 99-106.
23. Herity B, Moriarty M, Bourke GJ, Daly L. A case-control study of head and neck cancer in the Republic of Ireland. *Br J Cancer.* 1981; 43: 177-82.
24. Gluckman JL, Savoury WL. Carcinoma of the oral cavity. *Otolaryngology*, 3rd edition: 2041-67.
25. Blot WJ, McLaughlin JK, Winn DM, Austin DF, Greenberg RS, Preston-Martin S. Smoking and drinking in relation to oral and pharyngeal cancer. *Cancer Res.* 1988; 48: 3282-7.
26. Snijders PJF. Prevalance of mucosa tropic human papillomaviruses in squamous cell carcinomas of the head and neck. *Int J Cancer* 1996; 66: 464-9.
27. Gillison ML, Lowy DR. A causal role for human papillomavirus in head and neck cancer. *Lancet.* 2004; 363: 1488-9.

28. Smith EM, Ritchie JM, Summersgill KF, Klusmann JP, Lee JH, Wang D, et al. Age, sexual behavior and human papillomavirus infection in oral cavity and oropharyngeal cancers. *Int J Cancer*. 2004; 108: 766-72.
29. Ju DMC. On the etiology of cancer of the lower lip. *Plast Reconstr Surg* 1973; 52: 151-4.
30. La Vecchia C, Tavani A, Franceschi S, Levi F, Corrao G, Negri E. Epidemiology and prevention of oral cancer. *Oral Oncol*. 1997; 33: 302-12.
31. Cann CI, Fried MP, Rothman KJ. Epidemiology of squamous cell cancer of the head and neck. *Otolaryngol Clin North Am*. 1985; 18: 367-88.
32. Winn DM, Ziegler RG, Pickle LW, Gridley G, Blot WJ, Hoover RN. Diet in the etiology of oral and pharyngeal cancer among women from the southern United States. *Cancer Res*. 1984; 44: 1216-22.
33. Goldgar DE, Easton DF, Cannon-Albright LA, Skolnick MH. Systematic population-based assessment of cancer risk in first-degree relatives of cancer probands. *J Natl Cancer Inst*. 1994; 86: 1600-8.
34. Foulkes WD, Brunet JS, Sieh W, Black MJ, Shenouda G, Narod SA. Familial risks of squamous cell carcinoma of the head and neck: retrospective case-control study. *BMJ*. 1996; 313: 716-21.
35. Munck K, Goldberg AN. HIV and head and neck cancer. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2002; 10: 85-90.
36. Esclamado RM, Krause CJ. Lip cancer. *Head and Neck Surgery Otolaryngology* 1993:1148.

37. Shack RB. Carcinoma of the tongue and tonsil (oropharynx). Surg Clin North Am 1986; 66:83-96
38. Denoix PF. Tumor, Node and Metastasis (TNM). Bull Inst Nat Hyg (Paris) 1944;1:1– 69.
39. AJCC Cancer Staging Manual, Seventh Edition (2010) published by Springer-Verlag New York, www.springeronline.com.
40. Budillon A. Molecular genetics of cancer. Oncogenes and tumor suppressor genes. Cancer. 1995; 76: 1869-73.
41. Carey TE, Wolf GT, Hus et al. Expression of A9 antigen and loss of blood group antigens as determinants of survival patients with head and neck squamous carcinoma. Otolaryngol Head Neck Surg 1987; 96: 221-30.
42. Wolf GT, Chretien PB, Elias EG. Serum glycoproteins in head and neck squamous carcinoma: Correlations with tumor stage and t-cell levels during chemotherapy. Am J Surg 1979; 138: 489-500.
43. Hilal EY, Wanebo HJ, Pinsky C. Immunologic evaluation and prognosis in patients with head and neck cancer. Am J Surg 1977; 134: 469-73.
44. Veltri RW, Sprinkle PM, Maxim PE. Immune monitoring protocol for patients with carcinoma of the head and neck: A preliminary report. Ann Otol Rhinol laryngol 1978; 87: 692-700.
45. Crissman JD, Gluckman J, Whitely J. Squamous cell cancer of the floor of the mouth. Head Neck 1980; 3: 2-7.

46. Martin S, Maks J, Lee J, et al. Carcinoma of the pyriform sinus: Predictions of T.N.M. relapse and survival. *Cancer* 1980; 46: 1974-81.
47. Veltri RW, Maxim PE. Tumor immunity and tumor markers in head and neck cancer. *Head neck oncology* 1984.
48. Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature*. 2002; 420: 860-7.
49. Okada F. Inflammation and free radicals in tumor development and progression. *Redox Rep*. 2002; 7: 357-68.
50. Yang CR, Hsieh SL, Ho FM, Lin WW. Decoy receptor 3 increases monocyte adhesion to endothelial cells via NF-kappa B-dependent up-regulation of intercellular adhesion molecule-1, VCAM-1, and IL-8 expression. *J Immunol*. 2005; 174: 1647-56.
51. Koshland DE Jr. The molecule of the year. *Science*. 1992; 258: 1861.
52. Lowenstein CJ, Dinerman JL, Snyder SH. Nitric oxide: a physiologic messenger. *Ann Intern Med*. 1994; 120: 227-37.
53. Nussler AK, Billiar TR. Inflammation, immunoregulation, and inducible nitric oxide synthase. *J Leukoc Biol*. 1993; 54: 171-8.
54. Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem J*. 2001; 357: 593-615.

55. Aktan F. iNOS-mediated nitric oxide production and its regulation. *Life Sci.* 2004; 75: 639-53.
56. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev.* 1991;43:109-42.
57. Regulation of the expression of inducible nitric oxide synthase. *Eur J Pharmacol.* 2004; 500: 255-66.
58. Hofseth LJ, Hussain SP, Wogan GN, Harris CC. Nitric oxide in cancer and chemoprevention. *Free Radic Biol Med.* 2003; 34: 955-68.
59. Tamir S, Tannenbaum SR. The role of nitric oxide (NO) in the carcinogenic process. *Biochim Biophys Acta.* 1996; 1288: 31-6.
60. Wink DA, Hanbauer I, Grisham MB, Laval F, Nims RW, Laval J, et al. Chemical biology of nitric oxide: regulation and protective and toxic mechanisms. *Curr Top Cell Regul.* 1996; 34: 159-87.
61. Yermilov V, Rubio J, Ohshima H. Formation of 8-nitroguanine in DNA treated with peroxynitrite in vitro and its rapid removal from DNA by depurination. *FEBS Lett.* 1995; 376: 207-10.
62. Marletta MA. Mammalian synthesis of nitrite, nitrate, nitric oxide, and Nnitrosating agents. *Chem Res Toxicol.* 1988; 1: 249-57.
63. Rubbo H, Tarpey M, Freeman BA. Nitric oxide and reactive oxygen species in vascular injury. *Biochem Soc Symp.* 1995; 61: 33-45.

64. Laval F, Wink DA. Inhibition by nitric oxide of the repair protein, O-methylguanine-DNA-methyltransferase. *Carcinogenesis*. 1994; 15: 443-7.
65. Ohshima H, Bartsch H. Chronic infections and inflammatory processes as cancer risk factors: possible role of nitric oxide in carcinogenesis. *Mutat Res*. 1994; 305: 253-64.
66. Calmels S, Hainaut P, Ohshima H. Nitric oxide induces conformational and functional modifications of wild-type p53 tumor suppressor protein. *Cancer Res*. 1997; 57: 3365-9.
67. Delaney CA, Green MH, Lowe JE, Green IC. Endogenous nitric oxide induced by interleukin-1 beta in rat islets of Langerhans and HIT-T15 cells causes significant DNA damage as measured by the 'comet' assay. *FEBS Lett*. 1993; 333: 291-5.
68. Tamir S, Burney S, Tannenbaum SR. DNA damage by nitric oxide. *Chem Res Toxicol*. 1996; 9: 821-7.
69. Nguyen T, Brunson D, Crespi CL, Penman BW, Wishnok JS, Tannenbaum SR. DNA damage and mutation in human cells exposed to nitric oxide in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992; 89: 3030-4.
70. Wink DA, Kasprzak KS, Maragos CM, Elespuru RK, Misra M, Dunams TM, et al. DNA deaminating ability and genotoxicity of nitric oxide and its progenitors. *Science*. 1991; 254: 1001-3.
71. Szabo C, Ohshima H. DNA damage induced by peroxynitrite: subsequent biological effects. *Nitric Oxide*. 1997; 1: 373-85.

72. Starke DW, Chen Y, Bapna CP, Lesnefsky EJ, Mielyal JJ. Sensitivity of protein sulfhydryl repair enzymes to oxidative stress. *Free Radic Biol Med.* 1997; 23: 373-84.
73. Champe PC, Harvey RA. *Biochemistry. Lippincott's illustrated series* 1997.
74. Aghaei M, Karami- Tehrani F, Salami S, Atri M. Adenosine deaminase activity in the serum and malignant tumors of breast cancer: The assessment of isoenzyme ADA1 and ADA2 activities. *Clin Biochem* 2008; 38: 887-91.
75. Russo, M, Giancane R, Apice G. Adenosine deaminase and purine nucleoside phosphorylase activities in peripheral lymphocytes from patients with solid tumors. *Brit J.Cancer* 1981; 43: 196.
76. Herschfield MS. Appearent suicide inactivation of human lymphoblast s-adenosylhomocysteine hydrolase by 2' deoxyadenosine and adenine arabinoside: A basis for direct toxic effects of analogs of adenosine *J Biol Chem* 1979; 254: 22.
77. Ishii K, Green H. Lethality and adenosine for cultured mammalian cells by interference with pyrimidine biosynthesis. *Journal of Cell Science.* 1973; 13: 429-39.
78. Durak I, Biri H, Avcı A, Sözen S, Devrim E. Tomato juice inhibits adenosine deaminase activity in human prostate tissue from patient with prostate tissue. *Nutr Res.* 2003; 23: 1183-8.

79. Borges F, Fernandes E, Roleria F. Progress towards the discovery of xanthine oxidase inhibitors . *Curr Med Chem* 2002; 9: 195-217.
80. Lin J, Chen P, Ho CT, Lin- Shiau SY. Inhibition of xanthine oxidase and supression of intracellular reactive oxygen species in HL-60 cells by theaflavin digallate, epigallocatechin-3-gallate and propyl gallate. *J Agric Food Chem* 2000; 48: 2736-43.
81. Hearse DJ, Manning AS, Downey JM, Yellon DM. Xanthine oxidase: a critical mediator of myocardial injury during ischemia and reperfusion? *Acta Physiol Scand* 1986; 548: 65-78.
82. Nagababu E, Lakshmaiah N. Inhibition of xanthine oxidase-xanthine iron mediated lipid peroxidation by eugenol in liposomes. *Mol Cell Biochem* 1997; 166: 65-71.
83. Hassun HM. Oxygen toxicity and mutagenosis in procaryotes. Cohen G, Greenwold RA, eds. *Oxy Radicals and Their Scavenger System* Vol. 1: New York, Elsevier Biomedical, 1983; 198 - 206.
84. Brody EJ. The destructive potential of free oxygen radicals. *International Herald Tribune*. 1988; 4 –5.
85. Arthur MSP. Oxygen derived free radicals promote hepatic injury in the rat. *Gastroenterology*. 1985; 89: 1114 -22.
86. Barry H. Role of iron in oxygen radical reactions methode. *Enzymol* 1985: 47 – 56.

87. Weisiger AR. Oxygen radicals and ischemic tissue injury. *Gastroenterol* 1986; 90 (2):494 – 6.
88. Del Meastro RF. An approach to free radicals in medicine and biology. *Acta Physiol Scand (suppl)* 1980; 492: 153 - 68.
89. Eling T. Prostaglandin synthase and xenobiotic oxidation. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 1990; 30: 1- 45.
90. Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet.* 2001; 357: 539-45.
91. Philip M, Rowley DA, Schreiber H. Inflammation as a tumor promotor in cancer induction. *Semin Cancer Biol.* 2004; 14: 433-9.
92. Avcı A, Tüzüner- Öncül M, Gökcan MK, Namuslu M, Öztürk A, Durak İ. Nitric oxide metabolism in cancerous and non-cancerous oral gingivomucosal tissue: Possible implications of nitric oxide in cancer process. *J Oral Pathol Med* 2009; 38: 304-6.
93. McMullin BB, Chittock DR, Roscoe DL, Garcha H, Wang L, Miller CC. The antimicrobial effect of nitric oxide on the bacteria that cause nosocomial pneumonia in mechanically ventilated patients in the intensive care unit. *Respir Care.* 2005; 50: 1451-6.
94. Garcia X, Stein F. Nitric oxide. *Semin Pediatr Infect Dis.* 2006; 17: 55-7.
95. Xuw, Liu LZ, Loizidou M, Ahmed M, Charles IG. The role of nitric oxide in cancer. *Cell Res* 2002; 12: 5-6

96. Brennan PA, Downie IP, Langdon JD, Zaki GA. Emerging role of nitric oxide in cancer. *Brit J Oral Maxillofac Surg* 1999; 37: 370-3
97. Li LM, Kilbourn RG, Adams J, Fidler IJ. The role nitric oxide in lysis of tumor cells by cytotoxic activated endothelial cells. *Cancer Res* 1991; 53: 5507-11.
98. Xie K, Huang S, Dong Z, Juang SH, Wang Y, Fidler IJ. Transfection with the inducible nitric oxide synthase gene suppresses tumorigenicity and abrogates metastasis by K-1735 murine melanoma cells. *J Exp Med* 1995; 181: 1333-43.
99. Xie K, Huang S, Dong Z, Juang SH, Wang Y, Fidler IJ. Destruction of stander cells by tumor cells transfected with inducible nitric oxide (NO) synthase gene. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89: 421-7.
100. Thomsen LL, Miles DW. Role of nitric oxide in tumour progression: lessons from human tumours. *Cancer Metastasis Rev.* 1998; 17: 107-18.
101. Fukumura D, Jain RK. Role of nitric oxide in angiogenesis and microcirculation in tumors. *Cancer Metastasis Rev.* 1998; 17: 77-89.
102. Jenkins DC, Charles IG, Thomsen LL. Roles of nitric oxide in tumor growth. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 4392-6.
103. Gavilanes J, Moro MA, Lizasoain I, Lorenzo P, Perez A, Leza JC, et al. Nitric oxide synthase activity in human squamous cell carcinoma of the head and neck. *Laryngoscope.* 1999; 109: 148-52.

- 104.** Gorsdorf S, Appel KE, Engeholm C, Obe G. Nitrogen dioxide induces DNA single-strand breaks in cultured Chinese hamster cells. *Carcinogenesis*. 1990; 11: 37-41.
- 105.** Chhatwal VJ, Ngoi SS, Chia YW, Moomchhala SM. Aberrant expression of nitric oxide synthase in human polyps, neoplastic colonic mucosa and surrounding peritumoral normal mucosa. *Carcinogenesis* 1994; 15: 2081-5.
- 106.** Ambs S, Merriam WG, Bennett WP. Frequent nitric oxide synthase-2 expression in human colon adenomas: implication or tumor angiogenesis and colon cancer progression. *Cancer Res* 1998; 58: 334-41.
- 107.** Cobbs C, Brenman JE, Aldape KD, Bredt DS, Israel MA. Expression of nitric oxide synthase in human central nervous system tumors. *Cancer Res* 1995; 55: 727-30.
- 108.** Jansson OT, Morcos E, Brundin L, Bergerheim US, Adolffson J, Wilkund NP. Nitric oxide synthase in human renal cell carcinoma. *J Urol* 1998; 160: 556-60.
- 109.** Rosbe KW, Prazma J, Petrusz P, Mims W, Ball SS, Weisler MC. Immunohistochemical characterization of nitric oxide synthase activity in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1995; 113: 541-9.
- 110.** Wilson KT, Fu S, Ramanujam KS, Meltzer SJ. Increased expression of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in

Barrett's esophagus and associated adenocarcinomas. *Cancer Res* 1998; 558: 2929-34.

111. Klotz T, Bloch W, Volberg C, Engelmann U, Addicks K. Selective expression of inducible nitric oxide synthase in human prostate carcinoma. *Cancer* 1998; 82: 1897-903.

112. Thomssen LL, Lawton FG, Knowles Rg, Beesley JE, Riveros-Moreno V, Moncada S. Nitric oxide synthase activity in human gynaecological cancer. *Cancer Res* 1994; 54: 1352-4.

113. Miles DW, Happerfield LC, Thomsen LL, Filipe I. Nitric oxide synthase and localisation in gastric carcinoma. *Proc Am ASSOC Cancer Res* 1996; 37: 154.

114. Gallo O, Masini E, Morbidelli L, Franchi A, Fini-Storchi I, Vergari WA, et al. Role of nitric oxide in angiogenesis and tumor progression in head and neck cancer. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 587-96.

115. Bentz BG, Haines GK, Hanson DG, Radosevich JA. Endotelial constitutive nitric oxide synthase localization in normal and neoplastic salivary tissue. *Head Neck* 1998; 20: 304-9.

116. Vakkala M, Paako P, Soini Y. eNOS expression is associated with the estrogen and progesterone receptor status in invasive breast carcinoma. *Int J Oncol* 2000; 17: 667-71.

- 117.** Gallo O, Masini E, Morbidelli L, Franchi A, Fini-Storchi I, Vergari WA, et al. Role of nitric oxide in angiogenesis and tumor progression in head and neck cancer. *J Natl Cancer Inst.* 1998; 90: 587-96.
- 118.** Rosbe KW, Mims JW, Prazma J, Petrusz P, Rose A, Drake AF. Immunohistochemical localization of nitric oxide synthase activity in upper respiratory epithelium. *Laryngoscope.* 1996; 106: 1075-9.
- 119.** Shigyo H, Nonaka S, Katada A, Bando N, Ogino T, Katayama A, et al. Inducible nitric oxide synthase expression in various laryngeal lesions in relation to carcinogenesis, angiogenesis, and patients' prognosis. *Acta Otolaryngol.* 2007; 127: 970-9.
- 120.** Increased nitric oxide levels and iNOS over-expression in oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol.* 2005; 41: 261-7.
- 121.** Gallo O, Fabbioni V, Sardi I, Magnelli L, Boddi V, Franchi A. Correlation between nitric oxide and cyclooxygenase-2 pathways in head and neck squamous cell carcinomas. *Biochem Biophys Res Commun.* 2002; 299: 517-24.
- 122.** Ho DHW, Pincus C, Carter CJ. Distribution and inhibition of adenosine deaminase in tissues of man, rat and mouse. *Cancer Treat Rep* 1980; 64: 629.
- 123.** Huang AT, Logue GL, Engelbrech HL. Two biochemical markers in lymphocyte subpopulations. *Brit J Hematol* 1976; 34: 631.

- 124.** Bottini E, Carapella E, Cataldi L. Adenosine deaminase polymorphism. Associations at clinical level suggest a role in cell functions and immune reactions. *J Med Genet.* 1981; 18: 331.
- 125.** Dasmahapatra KS, Hill HZ, Dasmahapatra A, Suarez S. Evaluation of adenosine deaminase activity in patients with head and neck cancer. *Journal of surgical research* 1986;40: 368-73.
- 126.** Donofrio J, Coleman MS, Hutton JJ, Daoud A, Lampkin B, Dyminski J. Overproduction of Adenosine deoxynucleosides and deoxynucleotides in adenosine deaminase deficiency with severe combined immunodeficiency disease. *J Clin Invest* 1978; 62: 884-887.
- 127.** Hersfield MS, Kredich NM. Resistance of an adenosine kinase-deficient human lymphoblastoid cell line to effects of deoxyadenosine on growth, s-adenosyl-homocystein hydrolase inactivation, and dATP accumulation. *Proc Natl Acad Sci* 1980; 77: 4292-6.
- 128.** Saracoğlu U, Güven O, I. Durak. Adenosine deaminase and 5'-nucleotidase activities in saliva from patients with oral and laryngeal cancer. *Oral Diseases* 2005; 11, 323-5.
- 129.** Camici M, Tozzi MG, Allegrini S. Purine salvage enzyme activities in normal and neoplastic human tissues. *Cancer Biochem Biophys* 1990; 11: 201-9.

- 130.** Durak İ. Perk H. Kavutçu M. Adenosine deaminase, 5' nucleotidase, xantine oxidase, superoxide dismutase and catalase activities in cancerous and noncancerous human bladder tissues. *Free Radic Biol Med* 1993; 16: 825-31.
- 131.** Öztürk HS, Karaayvaz M. Kaçmaz M, Kavutçu M, Akgül H, Durak İ. Activities of enzymes participating in purine and free radical metabolism in cancerous human colorectal tissues. *Cancer Biochem Biophys*. 1998; 16: 157-68.
- 132.** Dasmahapatra KS, Facs HZK, Dasmahapatra A. Suarez S. Evaluation of adenosine deaminase activity in patients with head and neck cancer . *J Surg Res* 1986; 40: 363-73.
- 133.** Durak I, Işık ACÜ, Canpolat O. Akyol Ö. Kavutçu M.. Adenosine deaminase 5' nucleotidase superoxide dismutase and catalase activities in cancerous and noncancerous human laryngeal tissues . *Free Radic Biol Med* 1993;15: 681-684.
- 134.** Uberti J, Johnson RM, Talley R. Decreased lymphocyte adenosine deaminase activity in tumor patients. *Cancer Res*. 1976; 36: 2046.
- 135.** Russo M, Giancane R, Apice G. Adenosine deaminase and purine nucleoside phosphorylase activities in peripheral lymphocytes from patients with solid tumors. *Brit J.Cancer* 1981; 43: 196.
- 136.** Harbans L, Munjal S, Wig U. Serum enzymes in head and neck cancer. III. *J Laryngol Otol*. 1987; 101: 1062-5.

- 137.** Sufrin G, Tritsch GL, Mittelman A, Murphy GP. Adenosine deaminase activity in patients with carcinoma of the bladder. *J Urol* 1978; 119: 343-6.
- 138.** Formeister JF, Tritsh GL. Adenosine deaminase levels in blood type A patients with metastatic tumor. *Surgery* 1976; 79: 111.
- 139.** Aghaei M, Karami- Tehrani F, Salami S, Atri M. Adenosine deaminase activity in the serum and malignant tumors of breast cancer: The assessment of isoenzyme ADA1 and ADA2 activities. *Clin Biochem* 2008; 38: 887-91.
- 140.** Walia M, Mahajan M, Singh K. Serum adenosine deaminase, 5' nucleotidase and alkaline phosphate in breast cancer patients. *Indian J Med Res* 1995; 101: 247-9.
- 141.** Canbolat O, Akyol Ö, Kavutçu M, Isık AÜ, Durak İ. Serum adenosine deaminase and total superoxide dismutase activities before and after sugical removal of cancerous laryngeal tissue. *J Laryngol Otol* 1994; 108: 849-51.
- 142.** Lal H, Munjal SK, Wig U, Saini AS. Serum enzymes in head and neck cancer 3. *J Laryngol Otol* 1987; 101: 1062-5.
- 143.** Sufrin G, Tritsch GL, Mittelman A, Murphy GP. Adenosine deaminase in patients with carcinoma of the bladder. *J Urol* 1978; 119: 343-6.

- 144.** Zhang Y, Dawson VL, Dawson TM. Oxidative stress and genetics in the pathogenesis of Parkinson's disease. *Neurobiol Dis* 2000; 7: 240-50.
- 145.** Choi BH. Oxidative stress and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 1995; 16: 675-8.
- 146.** Shi H, Noguchi N, Niki E. Introducing natural antioxidants. In *antioxidants in Food: Practical Applications* 2001: 147-158.
- 147.** Hearse DJ, Manning AS, Downey JM, Yellon DM. Xanthine oxidase: a critical mediator of myocardial injury during ischemia and reperfusion? *Acta Physiol Scand* 1986; 548: 65-78.
- 148.** Bowman WC, Rand MJ. The blood: drugs affecting coagulation, fibrinolysis, hematopoiesis and the functioning of blood cells. In *Textbook of Pharmacology*, Bowman WC 1980: 21-3.
- 149.** Prajda N, Weber G. Malignant Transformation- Linked Imbalance: Decreased Xanthine Oxidase Activity in Hepatomas. *FEBS Lett* 1975; 59-2: 245-249.
- 150.** Durak I, Ormeci N, Akyol O, Canbolat O, Kavutcu M, Bulbul M. Adenosine deaminase, 5'-nucleotidase, xanthine oxidase, superoxide dismutase, and catalase activities in gastric juices from patients with gastric cancer, ulcer, and atrophic gastritis. *Dig Dis Sci* 1994; 39: 721-8.
- 151.** Alsabti E. Serum xanthine oxidase in breast carcinoma Neoplasma 1980; 27: 95-9.

- 152.** Akyol O, Gokbulut I, Koksall N, Akin H, Ozyurt H, Yildirim Z. The activities of purine catabolizing enzymes in plasma and bronchial washing fluid in patients with lung cancer and pneumonia. Clin Biochem 2001; 34: 251-4.
- 153.** Durak I, Isik AC, Canbolat O, Akyol O, Kavutcu M. Adenosine deaminase, 5' nucleotidase, xanthine oxidase, superoxide dismutase, and catalase activities in cancerous and noncancerous human laryngeal tissues. Free Radic Biol Med 1993; 15: 681-4.
- 154.** Durak I, Perk H, Kavutcu M, Canbolat O, Akyol O, Beduk Y. Adenosine deaminase, 5' nucleotidase, xanthine oxidase, superoxide dismutase, and catalase activities in cancerous and noncancerous human bladder tissues. Free Radic Biol Med 1994; 16: 825-31.
- 155.** Kalcıoğlu MT, Kızılay A, Yılmaz R, Uz E, Gulec M, Ozturan O, Akyol O. Adenosine deaminase, xanthine oxidase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase activities and malondialdehyde levels in the serum of patients with head and neck carcinoma Kulak Burun Bogaz Ihtis Derg 2004; 12 (1-2): 16-22.

EK.1

GAZİ ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU				
DEĞERLENDİRME FORMU				
DEĞERLENDİRME KURULUNUN ADI	Gazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu			
AÇIK ADRES	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası 06500 Beşevler/Ankara			
TELEFON	0312 202 69 58			
FAKS	0312 202 46 73			
E-POSTA	tipetikkurul@gazi.edu.tr			
BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Baş-boyun Kanseri hastalarda DNA turnover enzimlerinin (Adenozin Deaminaz, 5'Nükleotidaz, Ksantin Oksidaz), Nitrikoksit Sentetaz enziminin ve Nitrik oksit molekülünün çalışılması		
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI/SOYADI	Prof.Dr.Erdoğan İNAL		
	UZMANLIK TEZİ/AKADEMİK AMAÇLI	UZMANLIK TEZİ ☐	AKADEMİK AMAÇLI ☐	
		DİĞER ☐	İLAÇ DIŞI GİRİŞİMSEL: ☐ İLAÇ DIŞI GİRİŞİMSEL OLMAYAN (C.3) Rutin takip ve tedavi sırasında elde edilmiş materyallerle yapılan araştırmalar ☒	
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon No	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	BİL. GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	Belge Adı			Açıklama
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒		
	SİGORTA	☐		
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 117 Toplantı tarihi: 27.04.2011 Üniversitemiz Tıp Fakültesinde Prof.Dr.Erdoğan İnal'ın sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıdaki künnyede kayıtlı başvuru bilgileri verilen, klinik araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıda belirtilen eksiklikler tamamlandıktan sonra tekrar görüşülmesine, G.Ü.T.F Klinik Araştırmalar Etik Kurulu üyelerinin oybirliği ile karar verilmiştir. 1- Madde 3; araştırmanın niteliği bölümünde iki alan işaretlenmiş olup, gerekli düzeltmenin yapılması gerekmektedir. 2- Çalışılacak enzim düzeylerinin prognoza etkisi için gerekli olan takip süresi yeterli midir? açıklanmalıdır. 3- Uygulanacak yaklaşım ve yöntemler başlığında; tedavi amaçlı yapılan cerrahi işlem sonrası patolojiden ifadesi ile başlayan cümle net olarak anlaşılamamaktadır. Cerrahi olarak çıkarılan ve hastanın tümörünün tanısı amacıyla Patolojiye gönderilecek olan rezeksiyon materyali ifade ediliyorsa, bu materyalde cerrahi sınır ve tümör örneklenmesi, patoloji tanı raporu öncesinde materyalin bütünlüğünü bozacak, patoloğun değerlendirmesini zorlaştıracak, patolojik evrelemeyi etkileyebilecek ve patolojik tanıyı da zorlaştıracaktır. Rezeksiyon materyallerinde tümörün tipi yanı sıra patoloğun değerlendirmesi gereken kriterlerden biri de tümörün cerrahi sınırdaki devamlılığıdır. Bu nedenle hastanın tanısı, ileriki tedavisi ve prognozunda çok önemli bir rolü olan cerrahi rezeksiyon materyalinden, patolojik tanı öncesi örneklemenin patolojik gözetiminde yapılması uygun olacaktır. 4- Gönüllü olur formunun hastanın anlayabileceği bir dilde yeniden düzenlenmesi gereklidir. Ayrıca bu araştırmanın hastayı bir zarara uğratma olasılığı yoktur, zaten hastanın tedavisi cerrahidir ve alınan patolojik materyalden örneklemeye yapılacaktır. Bu nedenle onam formunda ilgili bölümün bu şekilde yeniden düzenlenmesi ve formun normal puntolarla yeniden yazılması uygun görülmüştür.			
ETİK KURUL ÜYELERİ				