

T.C
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

KARACİĞER PRİMER VE METASTAZ KANSERLİ HASTALARDA
KATALAZ VE KARBONİK ANHİDRAZ ENZİM AKTİVİTELERİ VE BAZI
MİNERAL, ESER ELEMENT VE AĞIR METAL DÜZEYLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

DOKTORA TEZİ

HAZIRLAYAN: Ayşe ARSLAN
DANIŞMAN: Prof. Dr. Halit DEMİR

VAN-2012

TC
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

KARACİĞER PRİMER VE METASTAZ KANSERLİ HASTALARDA
KATALAZ VE KARBONİK ANHİDRAZ ENZİM AKTİVİTELERİ VE BAZI
MİNERAL, ESER ELEMENT VE AĞIR METAL DÜZEYLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

DOKTORA TEZİ

HAZIRLAYAN: Ayşe ARSLAN

VAN-2012

KABUL VE ONAY SAYFASI

Kimya Anabilim Dalı'nda Prof. Dr. Halit DEMİR danışmanlığında, Ayşe ARSLAN tarafından hazırlanan “**Karaciğer Primer ve Metastaz Kanserli Hastalarda Katalaz ve Karbonik Anhidraz Enzim Aktiviteleri ve Bazı Mineral, Eser Element ve Ağır Metal Düzeylerinin Araştırılması**” isimli bu çalışma Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili hükümleri gereğince 20/11/2012 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile başarılı bulunmuş ve Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Vedat TÜRKOĞLU

İmza:

Üye : Prof. Dr. Halit DEMİR

İmza:

Üye : Doç. Dr. İbrahim YÖRÜK

İmza:

Üye : Doç. Dr. Suat EKİN

İmza

Üye : Yrd. Doç. Dr. Semih YAŞAR

İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun/....../2012 gün ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

İmza

.....

Enstitü Müdürü

ÖZET

KARACİĞER PRİMER VE METASTAZ KANSERLİ HASTALARDA KATALAZ VE KARBONİK ANHİDRAZ ENZİM AKTİVİTELERİ VE BAZI MİNERAL, ESER ELEMENT VE AĞIR METAL DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Arslan, Ayşe

Doktora Tezi, Kimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Halit DEMİR

Kasım 2012, 66 Sayfa

Bu çalışmada, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Onkoloji Anabilim Dalında primer ve metastaz karaciğer kanseri tanısı konulmuş toplam 40 hasta ve sağlıklı 29 kişiden alınan kanlar materyal olarak kullanıldı. Kanserli hastalar ile sağlıklı bireylerin serumlarında, element düzeyleri ile katalaz ve karbonik anhidraz enzim aktiviteleri tayin edildi. Primer ve metastaz karaciğer kanserli grupta serum bakır, magnezyum, mangan, çinko düzeyleri kontrol grubuna göre daha düşük bulundu ($p<0.05$). Buna karşın, serum demir, kobalt, kadmiyum ve kurşun düzeyleri ise hasta grubunda, kontrol grubuna göre daha yüksek saptandı ($p<0.05$). Ayrıca serum katalaz düzeyi, primer ve metastaz kanserli grupta, kontrol grubuna göre daha düşük, karbonik anhidraz düzeyi ise daha yüksek saptandı ($p<0.05$).

Anahtar kelimeler: Primer ve metastaz karaciğer kanseri, Katalaz, Karbonik anhidraz, Eser element, Ağır metal

ABSTRACT

INVESTIGATION OF CATALASE, CARBONIC ANHYDRASE ENZYME ACTIVITIES AND SOME MINERALS, TRACE ELEMENTS AND HEAVY METALS LEVELS IN PATIENTS WITH PRIMARY AND METASTATIC LIVER CANCER

Arslan, Ayşe

Doctora Thesis, Department of Chemistry

Thesis Advisor: Prof. Dr. Halit DEMİR

November 2012, 66 Pages

In this study, it was used blood samples from total of 40 patients diagnosed with primary and metastatic liver cancer and 29 healthy subject in Oncology Department of Medical School of Yuzuncu Yil University. The element levels, catalase and carbonic anhydrase enzyme activities were determined in serum of cancer patients and healthy subjects. It was found serum copper, magnesium, manganese and zinc levels lower at the primary and metastatic cancer group than the control group ($p<0.05$). Although this serum iron, cobalt, cadmium and lead levels were higher in patient group than the control group ($p<0.05$). In addition, it was found serum levels of catalase lower in primary and metastatic cancer group than the control group and serum levels of carbonic anhydrase is higher in primary and metastatic cancer group than the control group ($p<0.05$).

Key words: Primary and metastatic liver cancer, Catalase, Carbonic anhydrase, Trace element, Heavy metal

ÖN SÖZ

Kanser vücudun belli bir bölgesindeki hücrelerin kontrolsüz olarak çoğalıp, o bölgenin dışına yayılmasından ileri gelen hastalıkların genel adıdır. Kanser kelimesi belli bir hastalığı değil, aşırı hücre çoğalmaları ve doku büyümeleri şeklinde kendini belli eden çeşitli bozuklukları anlatır. Bu çalışmanın amacı; Van ve yöresinde karşılaşılan primer ve metastaz karaciğer kanserli hastalarda, katalaz, karbonik anhidraz enzim aktivitesi, mineral madde ve ağır metal düzeylerini saptamaktır. Bu çalışmanın, karaciğer kanserinin temel ve klinik tanısına yarar sağlaması hedeflenmiştir. Çalışmanın planlanmasında ve yürütülmesinde her türlü yardımını esirgemeyen danışman hocam, Sayın Prof. Dr. Halit DEMİR 'e ve Prof. Dr. Çetin KOTAN'a en içten teşekkürlerimi sunarım. Yine çalışmam boyunca kan, hasta takibi konusunda bana yardım eden Dr. Fatih ÖZBAY'a ve istatistik analizlere katkılarından dolayı Doç. Dr. Suat EKİN'e teşekkür ederim. Ayrıca bu zorlu süreçte bana her türlü yardımlarını esirgemeyen eşim Harun ARSLAN'a teşekkür ederim.

Ayşe ARSLAN

Kasım 2012

İÇİNDEKİLER

	sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	iii
ÖNSÖZ	v
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
1.GİRİŞ VE LİTERATÜR BİLDİRİŞLERİ	1
1.1.Kanser	1
1.2..Karaciğer Kanseri	2
1.3. Mineral madde, Ağır metal ve Eser elementler	3
1.3.1. Magnezyum (Mg)	5
1.3.2. Çinko (Zn)	6
1.3.3. Manganez (Mn)	7
1.3.4. Kurşun (Pb)	8
1.3.5. Bakır (Cu)	9
1.3.6. Kadmiyum (Cd)	10
1.3.7. Kobalt (Co)	11
1.3.8. Demir (Fe)	12
1.4. Reaktif Oksijen Türleri	13
1.5. Antioksidan Enzim Savunma Sistemleri	18
1.5.1. Katalaz Enzimi ve Biyokimyasal Önemi	23
1.5.2. Karbonik Anhidraz Enzimi ve Biyokimyasal Önemi	24
2. MATERYAL ve YÖNTEM	27
2.1. Materyal	27
2.1.1. Cihaz ve Malzemeler	27
2.1.2. Reaktifler ve Kimyasal Maddeler	27
2.2. Yöntem	28
2.3. Analiz Metotları	28

2.3.1. Ağır Metal, Eser Element Tayini	28
2.3.2. Karbonik Anhidraz Aktivite Tayini	29
2.3.3. Katalaz Enzimi Aktivite Tayini	29
2.4. İstatistiksel Yorum	30
3. BULGULAR	31
4. TARTIŞMA ve SONUÇ	39
KAYNAKLAR	50
ÖZGEÇMİŞ	66

ŞEKİLLER DİZİNİ

	sayfa
Şekil 1.1. Moleküler oksijenden ROS oluşumu.....	14
Şekil 1.2. Serbest Radikallerin Oluşumu.....	15
Şekil 1.3. Antioksidan olarak glutatyonun rolü.....	22
Şekil 1.4. CA izoenzimlerinin hücredeki lokalizasyonları.....	25
Şekil 3.1. Karaciğer primer ve metastaz kanserli hastalarda ve kontrol grubunda Magnezyum (Mg) düzeyleri.....	34
Şekil 3.2. Karaciğer primer ve metastaz kanserli hastalarda ve kontrol grubunda Çinko (Zn) düzeyleri.....	34
Şekil 3.3. Karaciğer primer ve metastaz kanserli hastalarda ve kontrol grubunda Mangan (Mn) düzeyleri.....	35
Şekil 3.4. Karaciğer primer ve metastaz kanserli hastalarda ve kontrol grubunda Kurşun (Pb) düzeyleri.....	35
Şekil 3.5. Karaciğer primer ve metastaz kanserli hastalarda ve kontrol grubunda Bakır (Cu) düzeyleri.....	36
Şekil 3.6. Karaciğer primer ve metastaz kanserli hastalarda ve kontrol grubunda Kadmiyum (Cd) düzeyleri.....	36
Şekil 3.7. Karaciğer primer ve metastaz kanserli hastalarda ve kontrol grubunda Kobalt (Co) düzeyleri.....	37
Şekil 3.8. Karaciğer primer ve metastaz kanserli hastalarda ve kontrol grubunda Demir (Fe) düzeyleri.....	37
Şekil 3.9. Karaciğer primer ve metastaz kanserli hastalarda ve kontrol grubunda Katalaz (CAT) enzim aktivite değerleri.....	38
Şekil 3.10. Karaciğer primer ve metastaz kanserli hastalarda ve kontrol grubunda Karbonik anhidraz (CA) enzim aktivite değerleri.....	38

ÇİZELGELER DİZİNİ

sayfa

Çizelge 3.1. Karaciğer primer ve metastaz kanserli hastalarda ve kontrol grubunda katalaz ve karbonik anhidraz enzim aktivite değerleri	31
Çizelge 3.2. Karaciğer primer ve metastaz kanserli hastalarda ve kontrol grubunda bazı mineral, eser element ve ağır metal düzeyleri	32

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AAS	:Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi
Al	:Alüminyum
As	:Arsenik
Ca	:Kalsiyum
CA	:Karbonik Anhidraz
CAT	:Katalaz
Cl	:Klor
Cd	:Kadmiyum
Co	:Kobalt
CO₂	:Karbondiyoksit
Cr	:Krom
Cu	:Bakır
DNA	:Deoksiribonükleik asit
EDTA	:Ethylenediaminetetrasetate
EÜ	:Enzim Ünitesi
Fe	:Demir
GR	:Glutasyon redüktaz
GSH	:Glutasyon
GSSG	: Okside glutasyon
GSHPx	:Glutasyon Peroksidaz
HBV	:Hepatit B Virüsü
HCC	:Hepatosellüler Karsinoma
HCV	:Hepatit C Virüsü
HCO₃⁻	:Bikarbonat
H₂O₂	:Hidrojen Peroksit
Hg	:Civa
I	:İyot
IARC	:İnternational Agency for Reseaarch on Cancer (Uluslararası Kanser Araştırmaları Kurumu)

K	:Potasyum
MDA	:Malondialdehit
ml	:Mililitre
µg	:Mikrogram
Mg	:Magnezyum
Mg	:Miligram
Mn	:Mangan
Mo	:Molibden
Na	:Sodyum
Ni	:Nikel
nm	:Nanometre
O₂⁻	:Süperoksit Radikali
OH⁻	:Hidroksi Radikali
P	:Fosfor
Pb	:Kurşun
PbO₂	:Kurşun oksit
ROS	:Reaktif Oxygen Species (Reaktif Oksijen Türleri)
RNA	:Ribonükleik asit
Se	:Selenyum
Sn	:Kalay
SOD	:Süperoksit Dismutaz
V	:Vanadyum
WHO	:World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)
Zn	:Çinko

1.GİRİŞ

1.1. Kanser

Kanser, hücrelerde DNA'nın hasarı sonucu, hücrelerin kontrolsüz veya anormal bir şekilde büyümesi ve çoğalmasıdır. Kanser hücreleri kontrolsüz bir şekilde çoğalarak kan ya da lenf dolaşımı aracılığı ile vücudun diğer bölgelerine gidebilirler. Gittikleri yerlerde tümör kolonileri oluşturur ve büyümeye devam ederler. Kanserin bu şekilde vücudun diğer bölgelerine yayılması olayına metastaz adı verilir (<http://wikipedia.org/Wiki/Kanser>).

Dünya çapında her yıl 10 milyondan fazla yeni kanser vakası ortaya çıkmaktadır. Ayrıca bütün ölümlerin % 12'si kanser nedeniyle meydana gelmektedir. Kanserin bu derecede önemli bir sağlık sorunu olması, kanserle ilgili birçok araştırma yapılmasına neden olmaktadır (Navarro Silvera ve Rohan, 2007).

Bir kanser hücresi oluştuğunda immün sistem bu hücreyi tanır ve parçalar. Her hücrede onkogenlerin aktivasyonunu baskılayan tümör baskılayıcı genler bulunmaktadır. Tümör baskılayıcı genlerin kaybolması veya inaktive olması durumunda onkogen aktivitesine izin verilmiş olur. Bu da kanser oluşumuna neden olur (<http://wikipedia.org/Wiki/Kanser>). Kanserojen etkenler ya doğrudan DNA hasarı yaparak ya da hücre proliferasyonunu artırarak ya da her ikisine birden neden olarak kanser riskini artırırlar (Manson ve ark., 2000).

Kanserin üç farklı aşaması vardır. Bu aşamalar; başlangıç evresi (initiation), gelişim evresi (promotion) ve ilerleme evresi (progression) olarak adlandırılır. (Chan ve Sell, 1994).

Başlangıç evresi geri dönüşümsüz bir olaydır. Normal dokuda yer alan hücrenin karsinojenle karşılaşması sonucu DNA hasarı oluşur. Oluşan hasarın tamiri söz konusu değildir. Somatik mutasyona yol açan genotoksik hasar, mitoz sırasında mutasyonlu hücre kolonisinin oluşmasına yol açar (Kumar ve ark., 1995).

Gelişim evresi kısaca premalign tümör hücre popülasyonunun aktif çoğalmasını sağlamak üzere hasarlı hücrelerin büyümesi olarak tanımlanabilir. İlerleme evresi ise geri dönüşümsüz bir mekanizmadır. Yeni bir tümör hücre klonu meydana getirir, bunun sonucu proliferatif kapasite ve invazyon artarak metastaz potansiyeli gelişir (Surh, 1999).

Kansere yolaçan nedenler; Sigara, kimyasallar (benzen, asbest, kadmiyum vb.) radyasyon (x ışınları, gama ışınları), infeksiyöz organizmalar (virüsler), genetik faktörler, metabolizmadan kaynaklanan mutasyonlar, beslenme alışkanlığı ve sedanter yaşamdır (<http://wikipedia.org/Wiki/Kanser>)

1.2. Karaciğer Kanseri

Karaciğer kanseri her yıl dünya çapında 650.000 insanın ölümüne yol açan ve sık rastlanan solid kanserlerden birisidir. Karaciğer tümörleri, primer benign, primer malign ve sekonder (metastatik) tümörler olarak üç gruba ayrılır. Primer ve metastatik tümör oranı 1/20'dir. Benign karaciğer tümörleri nadir olup, bütün karaciğer tümörlerinin % 5'inden azını oluştururlar. Primer malign tümörler içinde en sık görüleni, hepatosellüler karsinoma (HCC)' dir. Bunun dışında, kolanjiokarsinoma, hepatoblastoma, anjiosarkom da primer malign tümörler arasında yer alır. Hepatosellüler karsinoma primer malign karaciğer tümörlerinin % 70'ten fazlasını oluşturur. HCC, dünya çapında en sık görülen kanserler arasında 5. sırada yer almaktadır. (Mazzanti ve ark., 2008; Bosch ve Ark., 1999; Cole ve Morrison, 1980). Az gelişmiş ülkelerde HCC insidansı ve mortalitesi gelişmiş ülkelere göre daha yüksektir (Varolğüneş ve ark., 1997). Ancak son yıllarda yapılan çalışmalar, HCC insidansının Avrupa ve ABD'de de yükseldiğini göstermektedir (El-Serag ve Mason., 1999). ABD' de 65 yaş ve üzerindeki bireylerde HCC insidansı 1993 te 100.000 de 14 iken, 1999' da 100.000' de 18' e yükselmiştir. Hepatit C (HCV) ile ilişkili HCC' nin oranı ise 1993' te % 11 iken, 1999' da % 21' e yükselmiştir. Buna karşılık Hepatit B (HBV) ile ilişkili HCC oranı ise % 6' dan % 11' e çıkmıştır (Kim ve ark., 2005).

HCC gelişmesinde temel risk faktörleri HBV ve HCV'dir ve dünya çapındaki HCC vakalarının % 70'inden sorumludur. (Cougot, ve ark, 2005; Wurmbach ve ark., 2007). HBV ilişkili HCC belirgin olarak erkeklerde daha sık görülmektedir ve erkek kadın oranı 5-7:1' dir. HBV' de bulunan HBx proteinin androjen reseptörlerini uyarak, androjen seviyesini yükselttiği ve bu nedenle erkeklerin daha çok etkilendiği saptanmıştır (Chiu ve ark., 2007). HCC gelişmesinde, altta yatan karaciğer hastalığı dışında başka risk faktörlerinin de önemli olduğu bilinmektedir. Örneğin HCC ile diyabetes mellitus arasında bir ilişki olduğu bildirilmişse de bu henüz tam olarak aydınlatılamamıştır (El Serag ve ark., 2001). Ayrıca, aflatoksin, alkol, hemakromatozis

de HCC gelişme riskini arttıran başka faktörlerdir (Sun Wong ve Yuen Chan, 2012).

Karaciğer tümörlerinin çoğunluğunu metastatik kanserler oluşturur. Primer/sekonder kanser görülme oranı 1/20'dir. Lenf nodundan sonra metastazların en sık görüldüğü organ karaciğerdir. En sık kolon ve mide tümörleri karaciğere metastaz yapmaktadır (Varolgüneş ve ark., 1997).

Hepatosellüler karsinomanın en sık rastlanan semptom ve bulguları; karında kitle, karın ağrısı, kilo kaybı, epigastrik şikayetler, hepatomegali, ateş, bulantı, kusma, halsizlik ve bazen sarılıktır (Varolgüneş ve ark., 1997).

Tedavi yöntemleri: 1-Parsiyel hepatic rezeksiyon: Tümörün çapı rezeksiyon yapılan hastalarda yaşam süresi üzerinde etkili bir faktördür. 5 cm'den küçük tümörlerde 2 yıllık sağkalım % 80 iken, 5 cm'den büyük tümörü olan hastalarda bu şans %40'dır. Rezeksiyon yapılan hastaların % 57'sinde rekkürens görülmektedir.

2-Karaciğer transplantasyonu: Karaciğer transplantasyonu altta yatan karaciğer hastalığı da olan HCC' li hastalar için en uygun tedavi yöntemidir. Genellikle 5 cm'den küçük tek nodülü olan yada 3 cm yada yukarısında 2-3 nodülü olan hastalar karaciğer transplantasyonu için uygun adaylardır (Mazzaferro ve ark., 1996). Transplantasyon yapılan hastalarda 5 yıllık sağkalım % 70 ve rekürrens oranı % 10 civarındadır (Llovet, 2006).

3-Kemoterapi: Sistemik kemoterapide birçok ilaç kullanılmaktadır ancak çok az hastada etkili olmaktadır. Ayrıca bu ilaçların toksik etkileri yüksektir ve beklenen yaşam süresini etkilememektedir (Bruix ve Sherman, 2005).

4-Transarteriyel kemoembolizasyon: Karaciğer tümörleri % 100'e yakın hepatic arterden beslenir. Bu sebeple hepatic arterin kemoterapötik ajanlar ve yağ ile embolize edilmesi sonucunda tümörün beslenmesi engellenmiş olur. Ancak kısa sürede kollateral gelişmesi bu işlemin de etkinliğini azaltmaktadır (Varolgüneş ve ark., 1997).

5-Radyoterapi: Karaciğerin kendisi radiosensitif olduğu için kullanımı sınırlıdır.

6-İmmünoterapi: Bazı vakalarda rekombinant lökosit a interferon ve g interferon kullanılmış ancak çok başarılı sonuçlar alınamamıştır (Varolgüneş ve ark., 1997)

1.3. Mineral Madde, Ağır Metal ve Eser Elementler

İnsan vücudunda önemli biyolojik görevi alan elementler, makro ve eser elementler olmak üzere ikiye ayrılır. Bu elementlerin vücut içindeki miktarı 100

mg/kg'dan fazla ise makro, az ise eser element olarak kabul edilmektedir. Kalsiyum (Ca), fosfor (P), potasyum (K), sodyum (Na), magnezyum (Mg), klor (Cl) gibi elementler vücudumuz için makro, demir (Fe), çinko (Zn), bakır (Cu), iyot (I), mangan (Mn), selenyum (Se), krom (Cr), kobalt (Co), alüminyum (Al), vanadyum (V), molibden (Mo), kalay (Sn), arsenik (As), civa (Hg), nikel (Ni), kadmiyum (Cd), kurşun (Pb) eser elementlerdir. Bütün bunların ışığında eser elementler, canlı dokularda çok az miktarlarda ama mutlaka bulunması gereken elementlerdir şeklinde tanımlanabilir (Copius-Peereboom, 1985).

İnsan sağlığının dengeli bir şekilde devam ettirilmesinde hücre sıvısı, vücut dokuları ve organlarda bulunan otuza yakın eser elementin önemli rol oynadığı bilinmektedir. Eser elementlerin insan vücuduna alınması başlıca besinler ve hava yoluyla olmaktadır. Örneğin bazı toksik eser elementler (Cd, Pb) kirlenmiş şehir havasından, termik santrallerden ve bazı endüstriyel kuruluşların neden olduğu kirli havanın solunmasıyla vücuda alınırken, diğer eser elementler ise beslenme yoluyla vücuda alınmaktadır (Copius-Peereboom, 1985).

Eser elementler biyolojik sistemlerde enzim bileşeni yada hücrelerde gerçekleşen kimyasal reaksiyonlarda katalizör olarak rol alırlar. Bu nedenle çok sayıda elementin aşırı yada yetersiz alınmasının çeşitli kanser türlerini de içeren çok sayıda hastalığa neden olduğu bilinmektedir (Aras ve Ataman., 2006).

Bir element yetersiz alındığında herhangi bir olumsuzluğa sebep oluyorsa o elementin vücut için gerekli olduğuna inanılır. Gerekli eser elementlerin günlük 15-80 µg arasında mutlaka alınmaları gerekir. Gerekli eser elementlerin günlük alınmaları gereken miktarın altında, toksik elementlerin ise üzerinde alınmaları durumunda çeşitli olumsuzluklar görülmektedir. Örneğin krom ve vanadyumun yetersiz alınması durumunda şeker hastalığının ortaya çıktığı belirlenmiştir (Kargın ve ark., 2004; Alexander, 1995).

Eser elementler vücutta denge halinde bulundukları zaman birçok yaşamsal olayda görev almaktadırlar. Bunlara örnek olarak antioksidan olarak görev yapmaları, çeşitli enzimlerin kofaktörü olmaları, membranlar için dengeleyici görev yapmaları, hormonların fonksiyonlarına yardımcı olmaları (örneğin tiroit hormonundaki iyot gibi), metalloenzim ve metalloproteinlerin yapısal bileşeni olmaları, insan sağlığı için toksik olan minerallere karşı koruyucu görev yapmaları, çeşitli maddelerin dolaşım sisteminde

taşınmasına yardımcı olmaları, yaraların tamirine katkıda bulunmaları, çalışma ve öğrenme kabiliyetlerini hızlandırmaları örnek verilebilir. Ayrıca vücudumuzda her gün küçük elektriksel uyarıların üretilmesinde ve ilgili dokulara iletilmesinde bu iyonik ve eser elementler rol oynamaktadır. Bu uyarılar olmadan kalbimizdeki tek bir kas bile görevini yerine getiremediği gibi, beyin fonksiyonlarını gerçekleştirememekte, hatta hücreler su basıncını dengelemek için osmozı başaramamakta ve besinleri alamamaktadır (Alexander, 1995; Reusser ve Mc Carron, 1994).

1.3.1. Magnezyum (Mg)

Magnezyum intrasellüler alanda en çok bulunan makroelementtir. İnsan vücudunda yaklaşık 20–28 mg magnezyum vardır. Magnezyumun ana deposu kemikler olup, % 60'ı kalsiyum ve fosfatla beraber bulunur. Ancak, magnezyumun asıl fonksiyonu, % 60'ının bulunduğu kemiklerde değil, % 40'ının bulunduğu kan ve kas sistemindedir. Kasların güçlenmesi, protein sentezi, enzim sistemi aktivitesinde, hücrelerin büyümesi ve yenilenmesinde önemli bir rol üstlenir. Magnezyum vücut tarafından kolaylıkla absorbe edilen bir madde olup, normal bir beslenme ile günlük magnezyum ihtiyacı rahatlıkla karşılanabilir. Besinlerdeki magnezyum miktarının yaklaşık % 40-60'ı vücut tarafından kolayca emilir. Bütün yeşil yapraklı bitkiler, tahıl ürünlerinde, balık, ceviz, ayçiçeği, kakao, taze fasulye, bezelye ve kuşkonmaz gibi besinler magnezyum açısından zengindirler. Alkol, idrarla atılan Mg miktarını arttırdığı ve Mg emilimini bozduğu için uzun süre alkol kullanan kişilerde Mg eksikliği görülebilir. Ayrıca bazı diüretik ilaçlar da idrarla Mg atılımını artırarak Mg eksikliğine neden olabilir (Onat ve Emerk, 1995). Mg eksikliğinin belirtileri; zayıflık ve konfüzyon, sinirsel rahatsızlıklar, kas kasılması, titreme (0.5 mM'ın altında) halüsinasyon, yutma zorlukları ve çocuklarda büyüme yetersizliğidir. Mg fazlalığında ise, kan basıncında düşme, koordinasyon bozukluğu, koma ve ölüm görülür (www.traceminerals.com/inorganic.html).

Hem Mg eksikliği hem de oksidatif stres, yaşlanmada ve yaşlılıkta sık görülen hastalıkların ortaya çıkmasında rol oynayan önemli faktörlerdir. İnsanlarda bu ilişki kesin kanıtlanmamış olmasına rağmen, deney hayvanlarında şiddetli Mg eksikliğinin oksidatif stresi arttırdığı gösterilmiştir (Manuel ve ark., 2000). Akciğer kanserli

hastalarda yapılan bir çalışmada kanserli grupta Mg düzeyi, kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur (Çobanoğlu ve ark., 2010a).

1.3.2. Çinko (Zn)

İnsan vücudundaki çinko miktarı 2–3 mg kadardır. Çinko kanda, alyuvarlarda, prostatta, karaciğerde, pankreasta, bazı kaslarda ve kemiklerde bulunur. Çinkonun vücutta çok çeşitli fonksiyonları vardır. Çinko, hücre bölünmesi ve büyümesinde, DNA sentezinde, RNA transkripsiyonunda, immün sistemin çalışmasında, kan şekerinin düzenlenmesinde ve insülinin aktivitesini arttırmada önemli rol oynar (Prasad, 1998) Diyetle alınması gereken günlük çinko miktarı yetişkinler için, 10-15 mg'dır. Gebelik sırasında günlük ihtiyaç 20 mg'a kadar çıkar. Çinko-bağlayan bir protein olan metallothionein üretimi çinko tarafından indüklenir. Bu protein barsak mukozasında çinkoyu bağlar ve aşırı çinko emilimini engeller (Barceloux, 1999). Diyetle alınan çinkonun yaklaşık %20-30'u absorbe edilmektedir. Absorpsiyon yeri çoğunlukla duodenum ve proksimal jejunumdur (Lee ve ark., 1989). Toprak yeme (pika) alışkanlığı olan kişilerde, bağırsak paraziti olanlarda ve devamlı olarak lifli besinleri bol tüketenlerde çinko eksikliği görülebilir. Zinko eksikliği unutkanlığa ve hareket gücünün azalmasına, koku ve tat alma duyusunun zayıflamasına neden olur. Çinko; pancar, yulaf ezmesi, mercimek, bezelye, et, tuzsuz beyaz peynir ve deniz ürünlerinde bulunur (Onat ve Emerk, 1995).

Çinko eksikliğinde; stomatit, alopesi, tat almada bozukluk, büyüme ve cinsel gelişmede gerilik, bağışıklık sisteminin zayıflaması, bilişsel fonksiyonlarda bozulma ve deride dermatit gibi semptomlar görülür (Wada, 2004; Prasad, 1998). Diyetle yetersiz Zn alınması, kronik hastalıklar, diyetle aşırı fitat alınması yada fazla miktarda Fe ve Cu takviyesi çinko eksikliğine neden olabilir (Lee ve ark., 2012).

Çinko, proteinlerin sülfidril gruplarını serbest radikal saldırısına karşı korur ve redoks-aktif geçiş metallerini (Fe, Cu) inhibe ederek serbest radikal oluşumunu azaltır (Valko ve ark., 2006). Deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda Zn eksikliğinde, ROS üretiminin, lipid ve lipoprotein oksidasyonunun ve MDA düzeyinin arttığı bildirilmiştir. Bu da, Zn eksikliğiyle oksidatif hasar arasında pozitif bir korelasyon olduğunu kanıtlamıştır (Valko ve ark., 2004). Bu sonuçlar göstermektedir ki Zn; kanser, metabolik bozukluklar ve kronik hastalıklara karşı koruyucu antioksidan etki

göstermektedir (Prasad ve ark., 2009). Zn eksikliğinin immun fonksiyon bozukluğu yaparak ve bakır absorpsiyonunu artırarak kanser gelişmesinde etkili olabileceği gösterilmiştir (Costello ve ark., 2005). HCC'li hastalarda yapılmış bazı çalışmalarda hasta grubunda serum Zn düzeyinin, kontrol grubuna göre daha düşük olduğu saptanmıştır (Maeda ve ark.,2005; Liaw ve ark., 1997).

1.3.3. Manganez (Mn)

Manganez (mangan), yağ ve karbonhidrat metabolizmasında, immünitelerde, kemik metabolizmasında önemli rol oynar. Manganez, süperoksit dismutaz, pirüvat karboksilaz, arjinaz gibi enzimlerin yapısında bulunur. Manganez eksikliğinde, kan pıhtılaşmasında defektler, dermatit, büyüme geriliği, serum kolesterolünde azalma gibi semptomlar görülür. Vücutta Mn fazlalığı durumunda ise; güç kaybı, iştahsızlık, ödem, başağrısı, yorgunluk ve parkinson benzeri semptomlar görülebilmektedir (Wada, 2004).

Manganez toprakta, suda, tahıllarda bolca bulunmaktadır. Manganez ayrıca; maden suları, avokado, ananas, bezelye, yumurta, yeşil yapraklı sebzeler, fındık, deniz ürünleri, tahıl tanelerinde de bolca bulunur (Onat ve Emerk, 1995). Manganez, fetal gelişimde, laktasyonda, iskelet gelişimi, hidrolazlar, kinazlar, dekarboksilazlar ve transferazların aktivitelerinde, protein ve polisakkarit sentezinde, glikozil transferaz aktivitesinde ve kolesterol sentezinde görev almaktadır. Bütün dokulara yayılmış manganez 12-20 mg dır. Günlük gereksinim 3-8 mg' dır. Kalsiyum, fosfor ve soya proteini manganez emilimini azaltır. Kronik mangan zehirlenmesi ağır maden işçilerinde, ilaç sektöründe, seramik-cam sanayinde çalışanlarda görülebilir ve bu kişilerde şizofreniye benzer psikiyatrik septomlar görülebilmektedir (www.traceminerals.com/inorganic.html).

Mangan madenlerinde çalışan işçilerde uzun süreli maruziyet sonucunda pulmoner ve nörotoksik etkilerin ortaya çıktığı bildirilmiştir. Yüksek doz mangan enjeksiyonunun deney hayvanlarında sarkoma gelişmesine neden olduğu bildirilmiştir. Buna karşın manganın insanlarda kanserojen olduğuna dair yeterli veri yoktur (Kazantzis, 1981). Prostat ve beyin tümörlerinde yapılan bazı çalışmalarda serum eser element incelemesi yapılmış ve kanserli grupta serum Mn düzeyinin, kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu saptanmıştır (Arslan ve ark., 2011; Geçit ve ark., 2012).

1.3.4. Kurşun (Pb)

Kurşun endüstriyel alanda (akümülatör, seramik, porselen, kauçuk endüstrisinde) oldukça yaygın bulunan bir ağır metaldir. Ayrıca, benzin dumanında, kurşunlu boyalarda, teneke kutularda ve kurşunlu içme suyu borularında da kurşun bulunmaktadır (Brannvall ve ark., 1999). Kurşun da civa, kadmiyum vb. ağır metaller gibi suda, toprakta, tozda, canlı organizmalarda uzun süre kalabilir (Jomova ve Valko, 2011). Kandaki değeri 10 µg/dl yada üzerine çıktığında insan için toksiktir ve başta kanser olmak üzere nörolojik bozukluklar, kardiyovasküler hastalıklar, bilişsel bozukluklar ve hipertansiyona yol açabilir (Jakubowski, 2011; Iqbal, 2012). Kurşun Uluslararası Kanser Araştırmaları Kurumu (IARC) tarafından grup 2A. (insanda muhtemelen karsinogenik etkili) madde olarak tanımlanmıştır (IARC, 2006)

Çevreye yayılan kurşun kendiliğinden parçalanmaz, havada 10 gün kalabilir, topraktaki kurşunun çoğu havadan kaynaklanır. Kurşun toprak partiküllerine yapışır ve topraktaki kurşun asidik ve yumuşak olmadıkça yeraltı ve içme sularına karışmaz. Toprak ve suda uzun süre kalabilir. Toz ve buhar şeklindeki bileşiklerinin solunmasıyla kolayca absorbe olup kana geçebilir. Dolaşımda kurşun büyük ölçüde kırmızı kan hücrelerine (% 80-90) ve az bir kısmı da plazma proteinlerine bağlanır (WHO, 1996). Kurşun vücuda başlıca sindirim ve solunum yolu ile girer. Kurşun, atmosferde katı (toz ve özellikle PbO₂-kurşun oksit partikülleri) ve gaz (Alkil-Pb, egsoz gazlarından çıkar) halde bulunur. Atmosferdeki kurşunun % 90'ı akciğerler tarafından alınır. Emilen kurşunun % 90'ından fazlası kırmızı kan hücrelerinde toplanır. Genellikle havadaki kurşun konsantrasyonu 1 µg/m³ düzeyinde olduğunda, kandaki kurşun oranı 1 µg/dl'ye yükselir. Vücuttaki kurşun başlıca iskelet sisteminde birikir. Burada kurşunun yarı ömrü 20 yıldan fazladır. Kurşunun yoğun olarak bulunduğu diğer birikim yeri yumuşak dokudur. Kurşun, başlıca idrar yoluyla (% 76); ikinci derecede gayta ile atılır , ayrıca saç, tırnak ve ter ile de atılmaktadır (% 8) (Klassen ve ark., 1986). Yapılan literatür çalışmalarında, akciğer kanserli olgularda serum Pb düzeylerinin yüksek olduğu saptanmıştır (Çobanoğlu, 2010a). Yine başka bir çalışmada, prostat kanserli hastalarda Pb düzeyi yüksek saptanmıştır (Geçit ve ark., 2011).

1.3.5. Bakır (Cu)

Bakır bütün canlı organizmalarda oksidize (II) ve redükte (I) halde bulunan esansiyel bir metaldir. Bakır büyüme ve gelişme için gerekli olan ve organizmada temel biyolojik fonksiyonları yerine getiren proteinlerin katalizinde kofaktör görevi gören, yaşamsal bir elementtir. Yetişkin bir insanın diyetle aldığı günlük bakır miktarı 0.6-1.6 mg/dl arasında değişmektedir (Linder, 1991). Bakır aralarında SOD, seruloplazmin, sitokrom c oksidaz, tirozinaz'ın da bulunduğu 30'dan fazla proteinin fonksiyon görebilmesi için gereklidir (Arredondo ve Nunez., 2005). Diyetteki temel bakır kaynakları; Kuru fasulye, nohut, fındık, kabuklu deniz ürünleri ve karaciğerdir. Bakır mide ve ince barsaktan kolayca absorbe olur. Bakırın depolandığı esas organ karaciğerdir ve vücuttaki bakırın % 10'u karaciğerde bulunur (Gissen, 1994). Kandaki bakır esas olarak seculoplazmin tarafından, kısmen albümin tarafından taşınır (Raju ve ark., 1982; Pena ve ark., 1999). İnsan vücudunda yaklaşık 100–150 mg kadar bakır elementi bulunur. Bakır en çok karaciğerde olmak üzere böbrek, kalp, kemik, kas, beyin ve saç telinde bulunur ([http:// veterinary. ankara edu.tr/~fidancı](http://veterinary.ankara.edu.tr/~fidanci)). Bakır, kemik ve bağ doku metabolizmasında, hemopoezis (kan yapımı)'de rol alır. Bakır eksikliğinde anemi, lökopeni, çeşitli kemik değişiklikleri görülürken, bakır fazlalığında bulantı, kusma, diare, sarılık, hematüri, hipotansiyon ve koma görülebilmektedir (Wada, 2004).

Bakır ihtiyaçtan fazla alındığında hücreler için toksik olabilir. Bakır fazlalığında (demire benzer şekilde) membranlardaki lipidlerin peroksidasyonuna, proteinlerin direkt oksidasyonuna ve DNA ve RNA moleküllerinin hasarına yolaçan yüksek derecede reaktif oksijen türlerinin oluşumu artar (Halliwell ve Gutteridge, 1984). Bakır metabolizması neoplastik hastalıklarda belirgin şekilde değişmektedir. Cu özellikle erken evrelerde tümör anjiogenesisinde (yeni damar oluşumu) önemli rol oynamaktadır (Brem ve Wotoczek-Obadia, 1998). Yapılan bazı çalışmalarda kc, mide, mesane ve metastatik beyin kanseri olan kişilerde serum bakır düzeyleri yüksek saptanmıştır (Gupta ve ark., 2005; Margalioth ve ark., 1983; Yoshida ve ark., 1993; Ebara ve ark., 1999; Ebara ve ark., 2003). Buna karşın bazı çalışmalarda ise karaciğer kanserli hastalarda serum bakır düzeyi düşük bulunmuştur (Liaw ve ark., 1997).

1.3.6. Kadmiyum (Cd)

Kadmiyum (Cd) gümüş beyazı renğinde toksik bir ağır metaldir. Havada hızla kadmiyum oksite dönüşür. Kadmiyum sülfat, kadmiyum nitrat, kadmiyum klorür gibi inorganik tuzları suda çözünür. Kadmiyum doğada çinko ile birlikte bulunur. Çinkonun rafinasyonu sırasında yan ürün olarak elde edilir (www.rshm.saglik.gov.tr). Kadmiyum yer kabuğunda, havada, suda yaygın olarak bulunur. Temel kadmiyum kaynakları sigara, besinler ve Cd ilişkili endüstri alanlarıdır (boya, plastik, seramik ve cam sanayi ve nikel-kadmiyum piller) (Jomova ve Valko, 2011). Havadan günlük olarak alınan kadmiyum miktarı $1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 'dür. İçme suyundaki kadmiyum konsantrasyonu $0.1-2 \mu\text{g}/\text{lt}$. değerleri arasında değişim gösterir, günlük olarak 2 lt. su tüketimi sonucunda, sadece su ile meydana gelen kadmiyum maruziyeti $1-10 \mu\text{g}/\text{gün}$ arasındadır. Beslenme alışkanlıklarına göre, besinler ile günlük olarak alınan kadmiyum miktarı $10-30 \mu\text{g}$ 'dır Karaciğer, mantar, kabuklu deniz ürünleri, midye, kakao tozu ve deniz yosunu kadmiyum içeren besinlerdir (www.rshm.saglik.gov.tr).

Kadmiyum yaklaşık 20-35 yıl arasında uzun bir biyolojik yarılanma ömrüne sahiptir. İnsan vücudu Cd'ü atamadığı için, zamanla vücutta birikerek hücrelere ve dokulara zarar verir. Cd öncelikle akciğerlerde olmak üzere, karaciğer, pankreas ve böbreklerde birikir (Nath ve ark., 1984). Kemiklerde biriken Cd osteoporoz gelişmesine neden olan faktörlerden birisidir (Lui ve ark., 1991). Kadmiyum, vücutta solunum ve sindirim yolu ile girer. Solunum ile alınan kadmiyumun % 15-30'u absorbe edilir. En önemli kadmiyum kaynaklarından birisi de sigaradır. Bir sigadara $1-2 \mu\text{g}$ kadmiyum bulunur. Bu miktarın % 10'u ($0.1-0.2 \mu\text{g}$) inhalasyon yolu ile alınır (Klassen ve ark., 1986).

Kadmiyum, IARC ve Amerikan Ulusal Toksikoloji Programı tarafından grup I insan karsinojeni olarak kabul edilmiştir. Cd hücre içerisinde tek zincir DNA kırılımı gibi genotoksik mekanizmaları aktive eder ve DNA tamiri inhibisyonuna neden olur. Ayrıca protoonkogen aktivasyonu yaparak apoptozu inhibe eder ve kanserleşmeye neden olur (Shimada ve ark., 1998; Waalkes, 2000; Zheng ve ark., 1996). Kadmiyum insanda güçlü bir kanserojendir ve çevresel maruziyette başta akciğer olmak üzere, prostat, böbrek ve pankreas kanserine neden olduğu saptanmıştır (Waisberg ve ark., 2003).

Pasha ve ark. (2008), 112 kanserli hastada yaptıkları bir çalışmada serum Cd düzeyinin kanserli hastalarda, kontrol grubuna göre 1.6-7.4 kat daha yüksek olduğunu saptamışlardır.

1.3.7. Kobalt (Co)

Kobalt, organik ve inorganik tuz halinde bulunan, 4 farklı formu olan (0, +2, +3, +4 -en yaygın formu +2'dir) tabii bir eser elementtir. Kobalt genellikle nikel, gümüş, bakır ve demir gibi diğer metallerle birlikte bulunur. Kobalt suda, toprakda, bitkilerde ve hayvanlarda birçok farklı kimyasal formda bulunur (Lison ve ark., 2001). Vitamin B₁₂'nin komponenti olan Co insan için gerekli bir elementtir. Ancak yüksek dozlarda alındığında karsinojenik olabilir. Son yapılan çalışmalarda kobalt tozlarının kanserojen olduğu ve bu tozların inhalasyonu sonucu, astım, pnömoni, kanser gibi hastalıkların ortaya çıktığı saptanmıştır (Kim ve ark., 2008; De Boeck ve ark., 2003; Bucher ve ark., 1999). IARC'nin sınıflandırmasına göre Co muhtemel insan karsinojenidir (Leonard ve ark., 1998).

Kobalt bileşiklerinin kanserin başlamasında yada ilerlemesindeki rolü henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Ancak kobalt metalinin ve kobalt tozlarının genotoksik olduğu, ROS (reaktif oksijen türleri) üretimine neden olarak oksidatif DNA hasarına sebep olduğu bildirilmiştir (Simonsen ve ark., 2012). Kobalt bileşiklerinin insanlar üzerinde kansere neden olduğuna dair henüz kesin bulgular olmamasına rağmen, hayvanlar üzerinde yapılan deneylerde, kobalt tozlarının (Kobalt oksit ve kobalt sülfid) kansere yol açtığı kanıtlanmıştır (Kazantzis, 1981).

Günlük besin ihtiyacımızda çok küçük bir yer teşkil eden kobalt, kırmızı kan hücresi üretimi ve sinir uyarılarının düzenlenmesinde rol alan B₁₂ vitaminin bileşenidir. Bu nedenle vücuttaki kobalt eksikliği, eritrosit oluşumunu engellediğinden, "pernisyöz anemi" adı verilen ağır bir kansızlık ve dejeneratif sinir sistemi hastalığına neden olur. Kobaltın vücuttaki normal miktarı 80-300 µg'dır ve kırmızı kan hücrelerinde, karaciğerde, dalakta, böbrekte, pankreasta depolanır. Et, karaciğer, böbrek, midye, ıstiridye, süt, balık ve deniz yosunları ve daha düşük miktarda olmakla beraber sebzeler (bakla tohumu, ıspanak, lahana, salata, pancar, incir) de kobalt içerir. Diğer taraftan sigara dumanında da kobalt bulunmaktadır (Kendrick ve May, 1992). Co çoğunlukla serumda albümine bağlı halde bulunur. Ancak vücuttaki total Co miktarının % 5-12'si

serbest iyonize halde bulunur (Simonsen ve ark., 2012). 112 kanserli hastanın kontrol grubuyla karşılaştırıldığı bir çalışmada Co düzeyi açısından, kanserli hasta grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmamıştır (Pasha ve ark., 2008).

1.3.8. Demir (Fe)

Demir birçok metaloproteinin komponentidir ve oksijen taşınması, elektron transferi gibi birçok yaşamsal, biyokimyasal aktivitede rol alan bir elementtir (Aisen ve ark., 2001). Demirin, esas olarak ferröz (II) iyon ve ferrik (III) iyon olmak üzere iki oksidan formu vardır. Ferröz iyon formu biyolojik sıvılarda çözünebilir ve moleküler oksijenle reaksiyona girerek ferrik iyon ve serbest radikallere dönüşebilir. Demirin okside formu olan ferrik iyon nötral pH'da suda çözülmez ve ferrik hidroksit oluşumunu hızlandırır (Kurz ve ark., 2011). Fe (II) hücre içinde, hidrojen peroksitten fenton reaksiyonu vasıtasıyla yüksek derecede toksik OH⁻ radikalinin üretilmesini katalizler (Prousek, 2007). Demir, porfirin ve miyoglobinin yapısında ve bazı enzimlerde (sitokromlar) heme molekülü şeklinde bulunur (Kazantzis, 1981).

İnsan vücudunda yaklaşık 3-5 gr Fe bulunur. Vücuttaki demirin büyük çoğunluğu (% 60-70) hemoglobinde bulunur (Andrews., 1999). Diğer demir zengini organlar karaciğer ve kaslardır. Vücut demirinin % 20-30'u hepatositlerde (ferritin ve hemosiderin) ve makrofajlarda bulunur. Fe'nin geri kalanı ise myoglobinde (kas), sitokromlarda ve demir içeren enzimlerde bulunur. Sağlıklı bir kişide, diyetle 1-2 mg/gün Fe absorpsiyonu gerçekleşir (Papanikolaou ve Pantopoulos, 2005).

Besin olarak alınan demir iki formda bulunur: 1. Kırmızı et, tavuk, deniz ürünü ve diğer hayvansal ürünlerde bulunan "heme" demir, 2. Koyu yeşil sebzeler, tüm tahıllar, çerezler, kurutulmuş meyve ve diğer bitkisel besinlerde bulunan "heme olmayan" demir. Heme demirini vücut daha kolay absorbe eder. Ayrıca bu yiyeceklerle beraber C vitamini alınması demir absorpsiyonunu artırır. Demir eksikliği anemiye neden olur. Bu durumun belirtileri; yorgunluk, solgunluk, baş dönmesi, üşüme hissi, sinirlilik, halsizlik, konsantrasyon bozukluğu ve çarpıntıdır. Kahve, çay, soya bazlı yiyecekler, asit önleyiciler ve tetrasiklinler demir emilimini engeller. Ayrıca aşırı miktarlarda kalsiyum, çinko ve manganez alınması da demir emilimini engeller. Maden suları, badem, avokado, fasulye, kırmızı pancar, mısır gevreği, hurma, yeşil yapraklı sebzeler,

akciğer, böbrek, karaciğer, et, yumurta, balık, tavuk, fındık, midye, şeftali, armut, kabak, kuru üzüm, pirinç, kahve, tahıl, deniz ürünleri, ıstırdyede bol miktarda demir bulunur (Onat ve Emerk, 1995). Vücutta aşırı miktarlarda demir birikimi özellikle karaciğer, pankreas ve diğer endokrin organlar ve kalp başta olmak üzere çeşitli organ ve sistemlerde hasara yol açar. Hemokromatozis terimi, bütün demir birikim hastalıklarını kapsamaktadır (Bacon ve ark., 1999). Karaciğerde fazla miktarda demir birikmesi hepatosellüler karsinoma gelişmesine neden olmaktadır (Papanikolaou ve Pantopoulos, 2005).

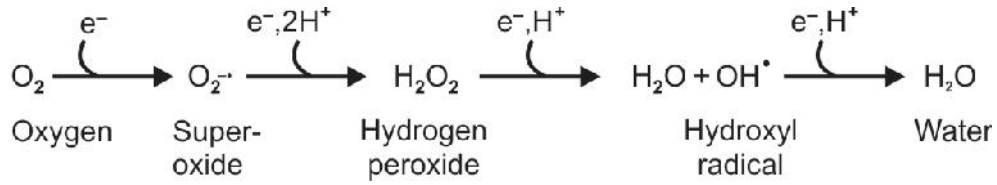
Biyolojik sistemlerde oksijen taşınması, ATP üretimi, DNA ve klorofil sentezinde önemli role sahip olan demirin serbest formları canlı hücrelerde toksik etki yapabilmektedir. Bu toksisite sonucunda oluşan aktif oksijen türleri lipid oksidasyonunu teşvik edebilmekte veya DNA moleküllerine saldırabilmektedir. Gerçekte tüm canlı hücreler, serbest demirin toksik etkisini yok eden ve demirin fazlasını toksik olmayan formlarda hücre içinde depolayan mekanizmalara sahiptir (Miller, 1996).

Meme kanserli hastalarda yapılmış bir çalışmada serum Fe düzeyinin, hasta grubuyla kontrol grubu arasında farklılık göstermediği saptanmıştır (Huang ve ark., 1999).

1.4. Reaktif Oksijen Türleri (ROS)

Oksijen canlıların yaşamlarını sürdürmeleri için mutlak gerekli bir elementtir. Hücre içinde çeşitli reaksiyonlardan geçerek su haline dönüşmektedir. Bu sırada hücre kendisi için gerekli enerjiyi sağlamaktadır. Fakat bu süreçte oksijenin %1-3' ü tam olarak suya dönüşemez ve serbest radikaller oluşur (Nakazawa ve ark., 1996). Çoğunu serbest radikallerin oluşturduğu reaktif oksijen türleri normal oksijen molekülüyle karşılaştırıldığında, kimyasal reaktivitesi daha yüksek olan oksijen formlarıdır (Nawar, 1996). Reaktif oksijen türleri (ROS), normal oksijen metabolizması sırasında az miktarda oluşan süperoksit radikali (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali (OH^-) ve singlet oksijen 'dir. Reaktif oksijen türleri, çeşitli serbest radikallerin oluştuğu serbest radikal zincir reaksiyonlarını başlatabilirler ve hücrede karbon merkezli organik radikaller (R^-), peroksit radikalleri (ROO^-), alkoksi radikalleri (RO^-), tiyil radikalleri (RS^-), sülfenil radikalleri (RSO^-), tiyil peroksit radikalleri (RSO_2^-) gibi çeşitli serbest radikallerin oluşumuna neden olurlar (Halliwell, 1991b).

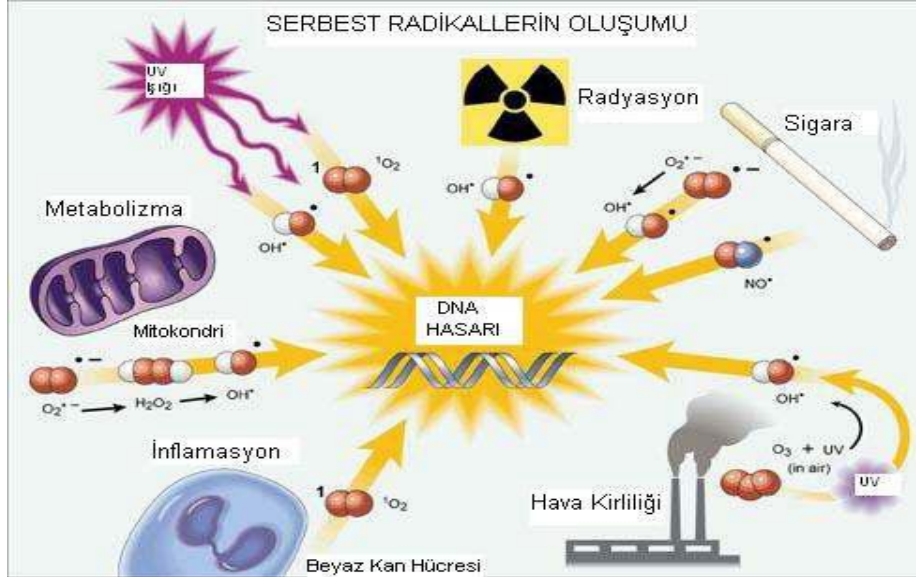
Normal koşullarda iki elektron bir bağın yapısına girebilir. Elektron çiftleri oldukça kararlıdır ve insan vücudunun neredeyse tüm elektronları elektron çifti halinde bulunur. Elektronlar orbital denilen bölgelerde dönerler. Her orbital normal şartlarda birbirine zıt yönde dönen 2 elektron içerir (Cherubini ve ark., 2005). Serbest radikaller, dış atomik orbitallerinde bir veya daha fazla çift oluşturmamış elektron içeren yüksek enerjili, stabil olmayan bileşiklerdir. Bu çiftlenmemiş elektron serbest radikallere büyük bir reaktivite kazandırarak protein, lipid, DNA ve nükleotid koenzimler gibi birçok biyolojik materyale zarar vermelerine neden olmaktadır. Bu zararın yaşlanmayı teşvik ettiği ve ayrıca kalp-damar hastalıkları, çeşitli kanser türleri, katarakt, bağışıklık sisteminde zayıflama, sinir sistemi dejeneratif hastalıkları gibi birçok hastalığa sebep olduğuna dair bilgiler bulunmaktadır (Diplock, 1998).



Şekil 1.1. Moleküler oksijenden ROS oluşumu (Pankaja, 2012).

Ultraviyole ışınlar, metal katalizli reaksiyonlar, atmosferik kirlilik, inflamasyon nedeniyle makrofaj ve nötrofillerin aktivasyonu ve elektron transport zinciri ROS üretimine neden olan faktörlerdir (Cadenas, 1989). Ayrıca, çoklu doymamış yağ asitlerinden zengin beslenme, alkol, fazla kalorili beslenme (obesite), hayvansal proteinleri fazla tüketme, az sebze ve meyve yenmesi, sigara, radyasyon, asbest, pestisitler, kemoterapi ilaçları, fazla fiziksel egzersiz yada sedanter yaşam, stres, yaşlılık doku hasarı ve kronik inflamasyon serbest radikal oluşumunu artıran faktörlerdir (Uysal, 1998).

Demir ve bakır gibi geçiş metal iyonları da canlı sistemlerde serbest radikal oluşturan güçlü birer oksidatif katalist olarak görev yapmaktadırlar. Fe; oksidatif reaksiyonları teşvik etmede daha etkili bir metal iken, Cu'nun katalizlediği reaksiyonlar henüz tam olarak aydınlatılamamıştır (Halliwell ve Gutteridge, 1990).



Şekil 1.2. Serbest Radikallerin Oluşumu
(<http://www.stayhealthy100.com/freeradicals.html>)

Reaktif oksijen türlerinin başlıcaları şunlardır (Sözmen, 2002)

<u>Radikaller</u>	<u>Radikal olmayanlar</u>
Süperoksit anyon radikali (O_2^-)	Hidrojen peroksit (H_2O_2)
Hidroksil ($HO^\bullet$)	Singlet oksijen ($^1O_2$)
Peroksil ($ROO^\bullet$)	Ozon (O_3)
Alkoksil ($RO^\bullet$)	Hipokloröz asit ($HOCl$)
Nitrik oksit ($NO^\bullet$)	Lipit hidroperoksit ($LOOH$)
Semikinon radikali ($HQ^\bullet$)	Peroksinitrit ($ONOO^\bullet$)
Hemoproteine bağlı serbest radikaller	Azot dioksit (NO_2)
Organik radikaller ($R^\bullet$)	N-halojenli aminler ($R-NH-X$)
Organik peroksit radikali ($RCOO^\bullet$)	Hipohalöz asit (HOX)

Serbest radikaller üç şekilde oluşur :

- 1- Normal bir molekülün kovalent bir bağının her kısmında bir ortaklanmamış elektron kalacak şekilde homolitik parçalanması
- 2- Normal bir molekülün tek bir elektronunu kaybetmesi
- 3- Normal bir moleküle tek bir elektron ilavesi

Serbest radikaller pozitif yüklü veya elektriksel olarak nötr olabilirler.

Elektron transferi ile radikal oluşumu: $A + e^- \rightarrow A^\bullet$

Homolitik füzyonla radikal oluşumu: $X : Y \rightarrow X^\bullet + Y^\bullet$

Heterolitik füzyonla radikal oluşumu: $X : Y \rightarrow X^{\cdot-} + Y^+$ (Cheeseman ve Slater, 1993).

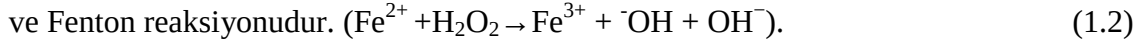
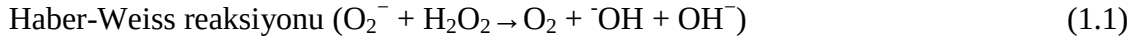
Biyolojik sistemlerde elektron transferi ile radikal oluşumu homolitik füzyondan daha yaygındır. Homolitik füzyon; yüksek sıcaklık, ultraviyole ısıyı veya iyonize radyasyondan elde edilecek enerjiye ihtiyaç duymaktadır. Heterolitik füzyonda ise serbest radikaller oluşmamakta ve ürün olarak sadece yüklü gruplar meydana gelmektedir (Cheeseman ve Slater, 1993).

Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), moleküler oksijenin indirgenmesinde ara basamaktır ve oluştuğu yerden fazla uzağa diffüze olamaz. Bu radikalın moleküler düzeyde önemli özelliği, sekonder olarak ürettiği radikallerdir. Doğal oksijen molekülünün başka bir molekülden elektron almış hali olan $O_2^{\cdot-}$ mitokondriyal elektron transfer zincirinde redükte nikotinamid adenin dinükleotid (NADH)'ın nikotinamid adenin dinükleotid (NAD^+)'a okside olması ile üretilir. Ayrıca pek çok oksidaz tarafından da üretilir. $O_2^{\cdot-}$ genel olarak anyon şeklinde tarif edildiği halde, ortamın pH sına bağlı olarak protonlanarak katyon haline dönüşebilir. Zayıf bir oksidan olan süperoksit radikalının kendi başına önemli hücre hasarlarına yol açması mümkün görülmemektedir. Ancak süperoksit radikalleri oksidatif strese yol açabilen bir dizi reaksiyonları başlatabilir. Süperoksit radikali zararlı etkilerinin yanında organizma için faydalı etkilere de sahiptir. İnfeksiyöz ajanlara karşı nötrofillerin aktivitesini artırır. Ayrıca hücre sel sinyalizasyon, apoptozis ve inflamasyonda da önemli rolleri vardır. $O_2^{\cdot-}$ radikali organizmada aşırı üretilirse hücre hasarına neden olur. Süperoksit radikalleri çok kısa bir yarı ömre sahip olup dismutasyon reaksiyonu ile H_2O_2 ve oksijen oluştururlar. Dismutasyon reaksiyonu spontan olarak meydana gelmekte ve reaksiyon süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile katalizlenmektedir (Vincent ve ark., 2004; Valko ve ark., 2004; Poli ve ark., 2004).

Hidrojen peroksit radikali (H_2O_2), oksijen molekülüne iki adet elektron eklenmesi ile oluşur. Süperoksit radikali sulu ortamlarda dismutasyona uğrayarak hidrojen peroksit radikalini oluşturur. H_2O_2 bir serbest radikal değildir, fakat biyolojik membranlara kolaylıkla girebilmesinden dolayı oldukça önemlidir (Pryor ve Church, 1991). H_2O_2 süperoksidin ulaşamadığı membranla korunan yapılara kolaylıkla ulaşabilir. Burada süperoksidle reaksiyona girerek en reaktif ve zarar verici radikal olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir (Vincent ve ark., 2004).

Hidroksil Radikali ($OH^{\cdot}$), oksijen molekülüne üç elektron eklenmesi ile oluşur.

OH^- radikalinin hücre içi yarılanma ömrü çok kısa (10^{-9} s)'dır ve yüksek derecede reaktif bir serbest radikaldir OH^- radikalının ana kaynağı metal katalizli,



(Pastor ve ark., 2000).

OH^- radikali biyolojik sistemlere diğer ROS' lardan daha fazla hasar veren, fosfolipidler, şekerler, amino asitler, nükleik asitler, organik asitlerle reaksiyona girebilen güçlü bir radikaldir. Lipit peroksidasyonunu başlatabilir, DNA iplikçiklerinde kırılmalara neden olabilir ve hemen her organik molekülü, okside edebilir (Young ve Woodside, 2001)

Singlet Oksijen ($^1\text{O}_2$), normal oksijenden çok daha hızlı bir biyolojik moleküldür. Singlet oksijen molekülü, yapısında iki adet çiftlenmemiş elektron taşır. Singlet oksijen hücre membranındaki poliansatüre yağ asitleriyle doğrudan reaksiyona girerek lipid peroksitlerin oluşumuna yol açar (Halliwell, 1991a). Singlet oksijen, radyasyon sonucu oluşabileceği gibi *invivo* olarak sitokrom P-450, prostaglandin endoperoksit sentetaz ve miyeloperoksidaz reaksiyonlarıyla da oluşabilmektedir (Slater, 1984).

Serbest radikaller birçok hücre ve dokuda hasar oluşturabilmektedir. Bunların başlıcaları şunlardır:

- a) DNA' yı tahrip ederler
- b) Nükleotit yapılı koenzimlerin yıkarlar,
- c) Lipit peroksidasyonu, zar yapısı ve fonksiyonunu değiştirirler,
- d) Enzim aktivitelerinde ve lipit metabolizmasındaki değişiklikler,
- e) Protein ve lipitlerle kovalan bağlantılar yaparlar,
- f) Zar proteinlerinin tahribi, taşıma sistemlerinin bozulmasına neden olurlar,
- g) Elastaz, proteaz, fosfolipaz, lipoksigenaz, siklooksigenaz, ksantinoksidaz, indolamin dioksigenaz, triptofan dioksigenaz, galaktoz oksidaz gibi litik enzimleri aktive ederler,
- h) Trombosit agregasyonunu arttırırlar,
- i) Tiollere bağımlı enzimlerin yapı ve fonksiyonlarının bozarlar, hücre ortamının tiol/disülfid oranını değiştirirler,
- j) Hücrenin potasyum kaybını arttırırlar
- k) Mukopolisakkaritleri yıkarlar (Uysal, 1998; Halliwell, 1991b).

Serbest radikaller vücuttaki her tür hücreye saldırır ve tahrip edebilir. İlk saldırıda öncelikli olarak yeni bir serbest radikal oluşur ve kontrol edilemeyen zincirleme bir reaksiyon başlar. Biyolojik hasarla karakterize radikal reaksiyonlar arasında en belirgin olanı lipid peroksidasyonudur. Serbest radikaller, hücre zarındaki yağlardan birine saldırdığında yağ molekülü değişime uğrar. Yağların değişimi sonucunda; hücre zarının yapısı ve fonksiyonları zarar görür, hücre zarı besinlerin, oksijenin ve suyun uzun süreli olarak transferini yapamaz, artık ürünlerin atılmasını düzenleyemez. Lipit peroksidasyonu, organizmada oluşan bir serbest radikal etkisi sonucu membran yapısında bulunan poliansatüre yağ asidi zincirindeki α -metilen gruplarından hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlar. Yağ asidi zincirinden hidrojen atomunun uzaklaşması, bu yağ asidi zincirinin radikal niteliği kazanmasına neden olmaktadır. Lipit peroksidasyonu, lipit hidroperoksitlerinin aldehit ve diğer karbonil bileşiklere dönüşmesi ile sonlanır. Bu bileşiklerden biri malondialdehit (MDA)'dır ve MDA düzeyi lipit peroksidasyonunun bir göstergesidir (Floyd, 1990; Akkuş, 1995; Halliwell, 1996).

Serbest radikallerin DNA üzerine etkileri önemlidir. Özellikle OH⁻ radikali, serbest radikallerin sebep olduğu bir takım değişimlere (DNA ayrılması, pürinlerin oksidasyonu gibi) sebep olmaktadır. DNA onarım sistemi hemen DNA'yı rejenere etmezse replikasyon sırasındaki yanlış baz çifti mutasyonla sonuçlanacaktır. Bunun sonucunda oksidatif strese maruz kalmış kişilerde kanser gelişme riski artmaktadır (Nordberg ve Arner, 2001).

Serbest radikaller özellikle doymamış bağ ve sülfür içeren aminoasitlerle reaksiyona girerek enzimlerin aktivitelerini bozarlar ve proteinlerin üç boyutlu yapısının bozulmasına neden olurlar. Triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin gibi halkalı amino asidler oksidasyona en fazla maruz kalan aminoasitlerdir (Nordberg ve Arner, 2001; Akkuş, 1995). Serbest radikaller aminoasitlerin oksidasyonu yanında, peptid bağlarının hidrolizi, disülfid bağlarının oluşumu ve çapraz bağlanmalara yol açabilirler (Seven ve Candan, 1995).

1.5. Antioksidan Enzim Savunma Sistemleri

Serbest radikallerin neden olduğu oksidasyonları önleyen, serbest radikalleri yakalama ve stabilize etme yeteneğine sahip maddelere “antioksidan” adı verilir (Elliot, 1999). Antioksidanlar farklı mekanizmalarla oksidanları etkisizleştirirler.

- a) Scavenging (temizleme) etkisi: Oksidanları, enzimler tarafından zayıf bir moleküle çevrilir.
- b) Onarma etkisi.
- c) Quencher (baskılama) etkisi: Oksidanlara, vitaminler ve flavonoidler tarafından bir hidrojen aktarılarak etkisiz hale getirilir.
- d) Zincir koparma etkisi: Oksidanları bağlayarak fonksiyonlarını engelleme. Hemoglobin, seruloplazmin ve E vitamini tarafından yapılır (Cherubini ve ark.,2005; Young ve Woodside, 2001; Taysi ve ark., 2002)

Belirli bir düzeye kadar olabilen oksidan molekül artışı yine vücutta daima belirli bir düzeyde bulunan doğal antioksidan moleküller tarafından etkisiz hale getirilmektedir. Böylece sağlıklı bir organizmada oksidan düzeyi ve antioksidanların bunları etkisizleştirme gücü bir denge içindedir (Halliwell, 1991b). Serbest radikaller ile antioksidan savunma sistemi arasındaki hassas dengenin, prooksidan ve oksidan maddelerin lehine kayması oksidatif stresin gelişmesine yol açar. Oksidatif stresin doku hasarına yol açtığı, kanser, diyabet ve ateroskleroz gibi patolojik durumların gelişmesinde etkin olduğu gösterilmiştir (Cross ve ark., 1987; Asayama ve ark., 1994).

Antioksidanlar mekanizmalarına göre, endojen ve eksojen antioksidanlar olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Endojen antioksidanlar; mevcut radikallerle reaksiyona girerek bunların daha zararlı formlara dönüşmelerini ve yeni serbest radikal oluşumunu önleyen bileşiklerdir. Endojen antioksidan kategorisinde yer alan süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSHPx) ve katalaz (CAT) gibi enzim sistemleri serbest radikalleri yok etme yeteneğindedir. Bu enzimler genel olarak serbest radikallerin DNA, proteinler ve lipidler gibi hücresel bileşenlere zarar vermesini sınırlandırmak suretiyle bir hücresel bölgeden diğerine geçişini de önleyebilmektedirler (Diplock, 1998). Mitokondriler ROS üretiminin yoğun olduğu alanlardır. Mitokondri matriksinde ve intermembran alanda antioksidanlar da bol miktarda bulunur (Mari ve ark., 2009). Zn-SOD intermembran boşlukta, Mn-SOD ise mitokondri matriksinde bulunur (Suski ve

ark., 2012). Süperoksit anyonu (O_2^-) mitokondri iç membranında SOD tarafından H_2O_2 'e çevrilir. H_2O_2 ise daha sonra CAT tarafından suya çevrilir.



Süperoksit Dismutaz (SOD) (EC 1.15.1.1.) SOD enzimleri kofaktör olarak içerdiği metal iyonuna göre 3 grupta toplanırlar (Kılınç, 1985). Bunların hepsi aynı reaksiyonu katalizler. Demir içeren (FeSOD) ve mangan içeren (MnSOD) enzimleri prokaryotlarda görülür. Hem bakır hemde çinko içeren enzimler (CuZnSOD) ise ökaryotlarda görülür (Fridovich, 1978).

Bakır ve çinko içeren süperoksit dismutaz (CuZn SOD): ökaryotik hücrelerin sitoplazması 32.000 molekül ağırlığında, tek disülfid bağı ile birbirine bağlı iki aynı alt birimden oluşan ve alt birim başına birer atom çinko ile bakır içeren SOD içerirler. Bu enzimin bütün özellikleri aminoasit içeriğindeki küçük farklılıklar dışında evrimsel değişikliklere karşı korunmaktadır. Enzimin etkinliği için bakır mutlaka gerekli iken; çinko Co^{2+} , Hg^{2+} , veya Cd^{2+} ile yer değiştirebilir. Dismutasyon bakır ile O_2^- radikali arasındaki etkileşimle meydana gelir (Kılınç, 1985).

Mangan içeren dismutazlar; molekül ağırlığı 40.000 olan, birbirinin aynı iki altbirimden oluşan ve enzimin altbirimi başına birer atom mangan içeren bir enzimdir. Mitokondri dismutazı da diğer prokaryotik hücrelerdeki dismutaza benzer, ancak 80.000 molekül ağırlığında ve tetramerik yapıdadır. Aynı tepkimeyi katalizlemeleri dışında Mn-SOD ile Cu-Zn SOD arasında hiçbir ortak yapısal özellik yoktur. (Kılınç, 1985).

Demir içeren süperoksit dismutaz; demir içeren SOD'ler genelde iki protein alt ünitesi içerirler. Buna karşın bazılarının 4 alt ünite içerdiği belirtilmiştir. Dimerik enzimler genelde enzim molekülü başına 1 yada 2 demir iyonu içerirler. Fe-SOD'lerdeki demir temel halde Fe^{3+} halindedir ve katalitik döngü sırasında Fe^{3+} ve Fe^{2+} basamakları arasında gidip gelir. Süperoksit ile reaksiyonunun hız sabiti Fe-SOD'lerde diğer tip SOD'lerden hafifçe daha düşüktür (Halliwell ve Gutteridge, 1999).

Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) (EC 1.11.1.9): Bu enzimin substratı küçük molekül ağırlıklı bir tiyol bileşiği olan GSH'dır. Glutasyon, f-glutamil sisteinil glisin'den oluşmuş bir tripeptiddir. Serbest glutasyonun büyük çoğunluğu GSH şeklinde bulunur, az bir kısmı ise okside glutasyon (GSSG) halindedir. GSH-Px, aşırı H_2O_2

varlığında GSH'ın GSSG'ye oksidasyonunu katalize eder ve bu arada H_2O_2 de suya dönüştürerek detoksifiye etmiş olur (Aydın ve ark., 2001; Eskandari ve ark., 2001).

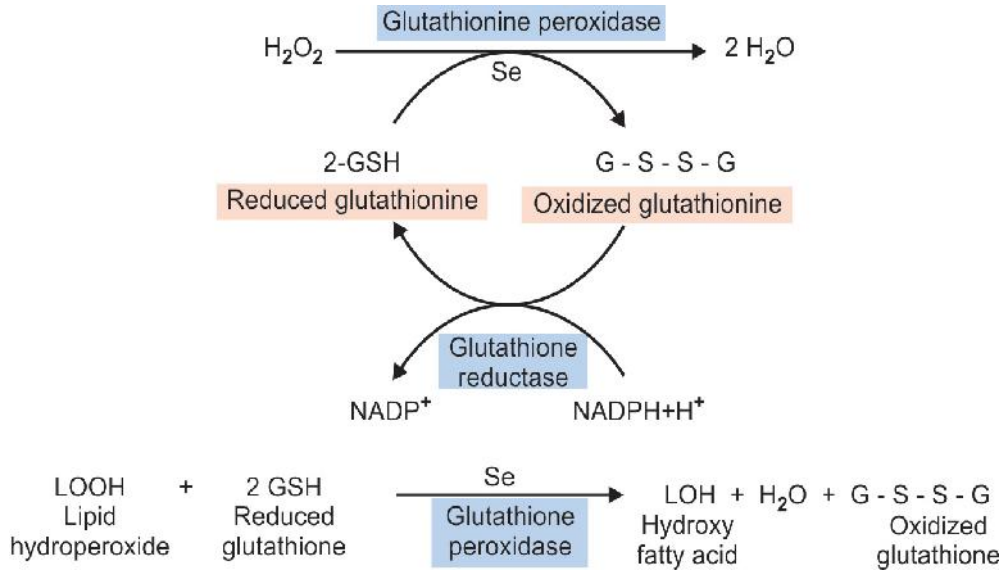
Bu enzim, karaciğerde yüksek, kalp, akciğer ve beyinde orta ve kas da düşük aktivitede bulunur. Dört protein alt ünitesinden oluşan tetrametrik bir enzimdir ve her ünite aktif bölgesinde bir atom Se (selenyum) elementi içerir. Molekül ağırlığı yaklaşık 85 000 dir ve sitozolde ve mitokondride bulunur. GSH, enzim içerisindeki Se'yi indirger ve indirgenmiş enzim H_2O_2 ile reaksiyon verir. Se-GSHPx'in selomat formu (E-Se.) peroksit substratını (ROOH) alkole indirgerken, kendisi okside aside dönüşür (E-Se-OH). GSH bu devrede reaksiyona katılarak selenosülfidi oluşturur (E-Se-S-G). İkinci bir glutatyonun selenosülfide bağlanması ile enzim aktif formu olan selenolat formuna dönerken, GSH'da GSSG'ye okside olur. (Aydın ve ark., 2001; Young ve Woodside, 2001).

Glutatyon redüktaz (GR) (EC 1.6.4.2): GSH-Px tarafından H_2O_2 veya diğer lipid peroksitlerin indirgenmesi sırasında GSH GSSG'ye dönüşür, bu okside formun tekrar redükte forma dönüşerek reaksiyonlarda kullanılması gerekir, çünkü organizmanın GSH stoğu sınırlıdır. İşte GR enzimi NADPH varlığında bu indirgeme olayını yürütmekten sorumlu bir enzimdir (Aydın ve ark., 2001).

Glutatyon (GSH), birçok ökaryotik hücrede yüksek konsantrasyonlarda bulunan enzim yapısında olmayan bir tripeptit yapısında bir antioksidandır. Yüksek konsantrasyonda oksijene maruz kalarak inaktive olmuş bazı enzimleri rejenere edebilir. GSH yetersizliği sonucunda eritrositlerde hemoliz meydana gelir (Aydın ve ark., 2001).

GSH, glioksalaz, maleilasetoasetat izomeraz, prostoglandin endoperoksit izomeraz gibi değişik metabolizma yollarındaki enzimlerin kofaktörü olarak rol oynar. Ayrıca tiroid hormonu sentezinde de rol oynamaktadır. Kolesterol biyosentezinde hız kısıtlayıcı basamak olan hidroksimetil glutaril CoA redüktaz enziminin kofaktörüdür. Bazı moleküllerin hücre içerisinde taşınmasında aracılık eder. Memelilerde insülinin degradasyonu, pestisit ve diğer yabancı kimyasal maddelerin metabolizmasında da rol oynar (Aydın ve ark., 2001).

Bir doku eğer fazla miktarda H_2O_2 ve/veya HO' ya maruz kalırsa, GSH/GSSG oranı düşer ve GSSG birikir. Biriken GSSG bazı enzimlerin inaktivasyonuna ve aynı zamanda protein sentezininin de inhibe olmasına neden olur (Aydın ve ark., 2001).



Şekil 1.3. Antioksidan olarak glutatyonun rolü (Pankaja, 2012)

Eksojen antioksidanlar ise; oksijen radikalini yakalayan ve radikal zincir reaksiyonlarını kıran C vitamini, E vitamini, A vitamini, ürik asit, bilirubin, polifenoller, metallotionin, poliaminler, melatonin, NADPH, koenzim Q-10, ubikuinol, flavonoidler, fitoöstrojenler, sistein, homosistein, taurin, metionin, resveratrol, nitroksidler gibi bileşiklerdir (Ou ve ark., 2002; Mates, 2000). Ayrıca selenyum, bakır, manganez ve çinko gibi mineraller de koruyucu antioksidan enzimlerin yapıları ve katalitik aktiviteleri için gereklidir. (Diplock 1998). Selenyum, glutatyon peroksidazın aktivitesi için, Mn, Zn ve Cu ise süperoksit dismutaz enziminin aktivitesi için gereklidir (Pankaja, 2012).

C vitamini: Suda eriyen vitaminlerden biridir. Yeşil renkli taze sebze, meyve ve turuncgillerde bol miktarda bulunur. İnce barsaktan kolayca emilir. Isıtılmaya dayanıksız olup dondurulmaya ise dayanıklıdır. Plazma konsantrasyonu 0.5-1.5 mg/dl kadardır. C vitamini organizmada bir çok hidroksilasyon reaksiyonlarında indirgeyici ajan olarak görev yapar. Güçlü indirgeyici aktivitesinden dolayı aynı zamanda güçlü bir antioksidandır. O_2^- ve HO^- ile kolayca reaksiyona girerek onları temizler. (Aydın ve ark., 1985; Young ve Woodside, 2001).

Karotenoidler, (β -karoten, Likopen), genelde sarı ve turuncu renkli bileşikler olup bazı bakteriler ve alglerde, çoğunlukla da bitkilerde bulunan pigmentlerdir. İnsan ve hayvanlar karotenoid biyosentezini gerçekleştiremedikleri için bu bileşikleri diyetle almak zorundadırlar. Karotenoidler organizmada, triplet uyarıcıların zararlı etkilerini

baskılama, singlet oksijeni baskılama ve bazı oksijen radikallerini temizleme gibi koruyucu etkilere sahiptir.(Gruszecki ve Strzalka, 2005).

E vitamini, yağda çözünen vitaminler içerisinde önemli bir yere sahiptir. Özellikle membranlardaki lipoproteinleri ve fosfolipidleri, çoklu doymamış yağ asitlerini serbest radikal etkisinden koruyarak antioksidan etki gösterir. α -Tokoferol vitamin E türevleri içerisinde en aktif bileşik olup, peroksil radikalini temizleyerek lipid peroksidasyonunu engeller. Bununla birlikte α -Tokoferol, singlet oksijen, alkoksil radikali, peroksinitrit, nitrojen dioksit, ozon ve süperoksit radikalleri ile de tepkimeye girer (Steinberg, 2000; Wang ve Quinn, 1999).

Ürik asit (Ürat), fizyolojik koşullarda singlet oksijen ve hidroksil radikali gibi reaktif bileşikleri baskılar fakat süperoksit radikali ile doğrudan reaksiyona girmez, peroksit kaynaklı lipid peroksidasyonuna karşı korur (Becker ve ark., 1991).

Bilirubin, singlet oksijen, peroksinitrit ve hipokloröz asit gibi reaktif oksijen ve nitrojen türevlerini, baskılarken, peroksil radikallerine karşı hidrojen donörü görevi yaparak lipid peroksidasyonunun zincir devam ettirici radikalini de etkisiz hale getirmektedir (Stocker, 2004).

Melatonin, hidroksil radikali, hidrojen peroksit, peroksil radikali, singlet oksijen, nitrik oksit ve peroksinitrit anyonu gibi reaktif türlerin temizlenmesinde veya baskılanmasında etkilidir (Aydoğan ve ark., 2006).

1.5.1. Katalaz enzimi ve biyokimyasal önemi

Katalaz (CAT: EC 1.11.1.6), protein yapısında güçlü bir antioksidan enzimdir. Katalaz, her biri bir prostetik grup olan ve yapısında Fe^{+3} bulunduran 4 hem grubundan oluşmuş bir hemoproteindir. Katalaz enzimi genel olarak insan, hayvan, bitki ve mikroorganizmalarda bol bulunur. Katalaz'ın en önemli görevi toksik hidrojen peroksidi hücrelerden uzaklaştırmaktır. SOD'ın oluşturduğu H_2O_2 'i peroksidazlarla beraber oksijen ve suya parçalar. ($2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$) Glutasyon peroksidazın H_2O_2 'e karşı K_m 'i katalaza göre daha düşüktür. Yani düşük konsantrasyonlarda H_2O_2 'i glutasyon peroksidaz parçalar, yüksek konsantrasyonlarda ise katalaz bu işlevi gerçekleştirir. Özellikle eritrosit, karaciğer ve böbrekte katalaz aktivitesi yükündür. Katalaz esas olarak peroksizomlarda daha az olarak sitozolde ve mikrozomal fraksiyonda bulunur. Katalaz tüm enzimler içinde en yüksek turnover'a sahip

enzimlerden biridir. Yaklaşık bir dakikada ~6 milyon hidrojen peroksit molekülünü suya ve moleküler oksijene dönüştürür (Valko ve ark., 2006; Cherubini ve ark.,2005; Young ve Woodside, 2001; Taysi ve ark., 2002).

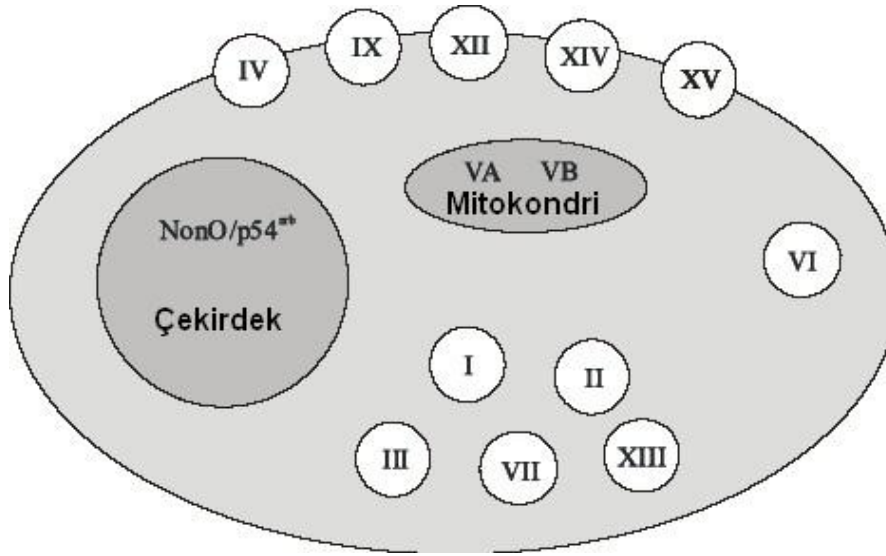
Çeşitli kanser türlerinde (akciğer, baş-boyun, meme, sindirim sistemi ve lenfoma) ve 125 hastada yapılan bir çalışmada, katalaz ve SOD aktiviteleri incelenmiş ve katalaz düzeylerinin kanserli grupta, kontrol grubuna göre daha düşük olduğu saptanmıştır. SOD düzeyi açısından ise gruplar arasında farklılık saptanmamıştır (Casado ve ark.,1995).

1.4.2. Karbonik anhidraz enzimi ve biyokimyasal önemi

Karbonik anhidraz enzimi (CA) (karbonat hidrolizaz, karbonat dehidrataz E.C 4.2.1.1.) vücutta asit-baz dengesini sağlamada önemli rol oynar. CA, aynı zamanda CO₂'nin dönüşümlü hidrasyonunu ve HCO₃⁻'in dehidrasyonunu katalizleyen ve Zn⁺² iyonu içeren bir enzimdir. Karbonik anhidrazın en önemli görevi CO₂'in ve protonların intrasellüler, ekstrasellüler ve intersellüler alanlardaki membranlardan transportunu sağlamaktır (Hassan ve ark.,2012; Missner ve ark., 2008; Parkilla ve ark., 2001). Ayrıca CA izoenzimleri, kemik rezorpsiyonu, gastrik, serebrospinal ve pankreatik sıvıların sekresyonu, biyosentetik reaksiyonlar (glukoneogenezis, lipogenezis), kalsifikasyon gibi birçok fizyolojik ve patolojik olaylarda da rol alırlar (Chegwidden ve ark., 2000; Supuran ve ark., 2004).

CA'nın şimdiye kadar memelilerde belirlenen 15 aktif izoenzim formu belirlenmiştir. Beş sitoplazmik (CAI, CAII, CAIII, CAVII ve CAXIII), beş membrana bağlı (CAIV, CAIX, CAXII, CAXIV ve CAXV), iki mitokondriyal (CA VA ve CA VB) ve bir salgısal (CA VI) ve henüz sınıflandırılmamış bir formu vardır (Supuran, 2004). CAI eritrositlerde bulunur, aktivitesi düşüktür ve biyolojik rolü tam olarak anlaşılamamıştır. CAII geniş ölçüde sitoplazmaya dağılmış halde bulunan aktivitesi yüksek bir CA izoenzimidir (Hewett-Emmett, ve Tashian., 1996). CAI ve CAII enzimlerinin ifadesi birçok neoplastik ve hematolojik hastalıkta araştırılmıştır (Venta, 1991). İmmünolojik çalışmalar sonucunda karbonik anhidrazların, malign beyin tümörlerinde, gastrik ve pankreatik kanserlerde rol oynadığı saptanmıştır (Parkkila, 1995).

Karbonik anhidrazlar, çinko içeren, geri dönüşümlü olarak karbondioksitin hidratasyonu reaksiyonunu ($\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{HCO}_3 + \text{H}$) katalizleyen enzimlerdir. Evrimsel açıdan beş gen ailesi (α -, β -, γ -, δ - ve ϵ -) ile temsil edilirler. α -CA lar, hayvanlar ve yeşil alglerde; β -CA lar, bitkiler, düşük ökaryotlar, ve omurgasızlarda; γ -CA lar arkeabakteri ve obakterilerde bulunurlar. α -CA lar, omurgalılarda dominanttır. α -CA ların, farklı hücre lokalizasyonları, farklı dokularda dağılımları ve fonksiyonları vardır (Hewett-Emmett ve Tashian., 1996, Almajan ve ark., 2005).



Şekil: 1.4. CA izoenzimlerinin hücredeki lokalizasyonları (Pastorek, 1994)

Karbonik anhidraz, memeli dokularında en bol olarak eritrositlerde, kaslarda ve karaciğerde bulunur. Ortalama 100 ml kanda yaklaşık 15-17 mg hemoglobin bulunduğu göz önüne alındığında, karbonik anhidraz bunun %1'ini oluşturmaktadır. Çözünebilen kas proteinlerinin yaklaşık %5'ini karbonik anhidraz enziminin oluşturduğu bildirilmiştir (Register ve ark., 1978; Park ve ark., 2000).

Malign hastalıklarda ekstrasellüler sıvının asidifikasyonu tümörün yayılma davranışını arttırmaktadır (Chegwidden ve ark., 2000; Bonapace ve ark., 2004). Ekstrasellüler sıvının asidik olmasında, karbonik anhidraz izoenzimlerinin geri dönüşümlü olarak katalizlediği CO_2 ' in H_2CO_3 'e hidrasyonunun önemli rol oynadığı ileri sürülmüştür (Nogradi, 1998).

Çeşitli kanser türlerinde (mide, prostat, akciğer, over) sitozolik eritrosit CA düzeylerinin incelendiği bir çalışmada, kanserli grupta CAI ve CAII düzeyinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu saptanmıştır (Özensoy ve ark., 2006). Başka bir çalışmada başta lösemi olmak üzere çeşitli kan hastalıklarında CA düzeyleri incelenmiş ve kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, hasta grubunda CA (I,II) düzeylerinin anlamlı şekilde yüksek olduğu saptanmıştır (Bonapace ve ark., 2004).

2. MATERYAL ve YÖNTEM

2.1. Materyal

Araştırmamızda kullanılan kan ve serum örnekleri, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim Araştırma ve Uygulama Hastanesi Onkoloji kliniğine başvuran ve karaciğer kanseri teşhisi konulan hastalardan ve sağlıklı gönüllülerden temin edildi.

2.1.1. Cihaz ve malzemeler

Atomik Absorpsiyon Spektrofotometre (UNICAM-929 Spektrofotometre, Unicam Ltd, York Street, Cambridge, UK).

Klinik santrifuj: Hettich EBA 3-S

Soğutmalı santrifuj: Hereaeus Sepatech

pH metre: CG 840 Schott

Hassas terazi: Gee Avery

Karıştırıcı(vorteks): Vortex- Genine.

Otomatik pipetler: Volac R 880/D.

Kronometre:Larus JAPAN

2.1.2. Reaktifler ve kimyasal maddeler

Hidroklorik Asit,

Perklorik Asit,

Nitrik Asit,

Sodyum Bor hidrür,

Sodyum Hidroksit,

Sodyum sülfat,

Tris tamponu,

Hidrojen peroksit,

Dekstroz,

Sülfürik asit (H_2SO_4),

Sodyum asetat ($NaCH_3COO$),

Sodyum karbonat (Na_2CO_3),
 Sodyum bikarbonat (NaHCO_3),
 Fenol kırmızısı ve Aseton (Merck),
 Natrium perchlorat (NaClO_4),
 Amonyum sülfat (Sigma).

2.2. Yöntem

Bu çalışmaya, Ocak-Ekim-2010 tarihleri arasında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim Araştırma ve Uygulama Hastanesi Onkoloji kliniğine başvuran, kanser tanısı konmuş 40 hasta birey dahil edildi. Ayrıca hasta gruptan alınan sonuçları karşılaştırmak amacıyla, gönüllü sağlıklı bireylerden oluşan 29 kişilik grup, kontrol grubu olarak tayin edildi. Çalışma öncesi tüm katılımcıların onayı alındı. Bu çalışmada kan örnekleri toplanmadan önce Yüzüncü Yıl Üniversitesi Eğitim Araştırma ve Uygulama Hastanesi Klinik ve Laboratuar Araştırmaları Yerel Etik Kurulu'nun onayı alındı.

Çalışmada denek olarak seçilen sağlıklı ve hasta bireylerden 7 ml venöz kan alındı. 3500 rpm/dk yaklaşık 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Çalışmaya dahil edilen hastalardan alınan serum örneklerinden, eser element, mineral madde ve ağır metaller (Pb, Cd, Mn, Cu, Mg, Zn ve Co) Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi (AAS) ile tayin edildi. Katalaz ve karbonik anhidraz enzim aktivitelerinin ölçümü için ise, eritrosit örnekleri hazırlandı. Hazırlanan bu örneklerden aktivite tayini yapıldı.

2.3. Analiz Metotları

2.3.1. Ağır metal ve eser element tayini

Serum element düzeyleri (Cu, Zn, Mg, Mn, Pb, Co, Cd ve Fe) Yüzüncü Yıl Üniversitesi Merkezi Araştırma laboratuvarında Atomik Absorpsiyon Spektrofotometre yöntemi ile tayin edildi (UNICAM-929 Spektrofotometre, Unicam Ltd, York Street, Cambridge, UK). Çalışmaya dahil edilen hastalardan ve sağlıklı bireylerden alınan serum örneklerinden, 1 ml alındı üzerine 4 ml saf su eklenerek eser element, mineral madde ve metaller (Cu, Zn, Mg, Mn, Pb, Co, Cd ve Fe) çalışıldı.

2.3.2. Karbonik anhidraz aktivite tayini

Bu metotta kullanılan yöntem, Maren ve arkadaşlarının geliştirmiş oldukları metodun, yine Maren tarafından modifiye edilmiş şeklidir. Bu yöntem, CO₂'nin hidratasyonu sonucu açığa çıkan H⁺ iyonu sebebiyle pH'nın 10'dan 7.4'e düşmesi için geçen sürenin ölçülmesi esasına dayanmaktadır. pH 7.4'te renk değişimi gösterdiğinden dolayı fenol kırmızısı indikatör olarak kullanıldı. Fenol kırmızısı indikatör çözeltisinin hazırlanması: 0.0125 g fenol kırmızısı ve 0.2184 g NaHCO₃ bir miktar saf suda çözüldü. Toplam hacim saf su ile 1 litreye tamamlandı. Tampon olarak ise pH'sı 10 olan karbonat tamponu kullanıldı. Karbonat tamponunun hazırlanması: 15.9 g (0.15 mol) Na₂CO₃ ve 8.4 g (0.1 mol) NaHCO₃ bir miktar saf suda çözüldü ve toplam hacim 1 litreye tamamlandı (Maren, 1967).

Aktivitelerin tespiti şu prosedüre göre yapıldı: Reaksiyon tüpüne önce 2 ml indikatör (fenol kırmızısı) ve 1.5 ml doymun CO₂ çözeltisi konuldu. (Doymun CO₂ çözeltisi hazırlamak için, CO₂ gazı, 0 °C deki saf suyun içerisinde yarım saat süre ile geçirildi). Bu karışıma 0.1 ml enzim çözeltisi eklendi. Aynı anda bu çözelti karışımına 0.4 ml karbonat tamponu katılarak, kırmızı rengin sarıya dönmesi için geçen süre kronometre ile ölçüldü ve T_c olarak belirlendi. Kör olarak kullanılan tüpe 0.1 ml enzim çözeltisi yerine saf su eklendi ve aynı işlemler tekrarlanıp T_o belirlendi. Bu yöntemde CA enzim aktivitesi için bir enzim ünitesi (EÜ), enzimsiz olarak meydana gelen CO₂ hidrasyonu süresini yarıya indiren enzim miktarı olarak tarif edilmektedir.

Yani,

$$EU = (t_o - t_c) / t_c \quad (2.1)$$

Formülüne göre, kullanılan elüat hacmindeki enzim ünitesi hesaplandı (Maren, 1967).

2.3.3. Katalaz enzimi aktivitesi tayini

Katalaz enzim aktivitesi Aebi metoduna göre ölçüldü. H₂O₂ nin parçalanıp ortamdan uzaklaştırılmasıyla oluşan absorbans azalması 240 nm de takip edildi. Deney süresince enzimin inhibe olmasını veya O₂'nin açığa çıkmasıyla küvette oluşan

baloncukları önlemek için bağıl olarak düşük konsantrasyonlarda H_2O_2 kullanılması gerekir. Substrat konsantrasyonu ile bozunma hızı arasında doğrusal bir oran olduğundan dolayı H_2O_2 konsantrasyonu önem taşımaktadır.

Eritrosit paketi hazırlama: Kan örnekleri EDTA (Ethylenediaminetetrasetat)'lı tüplere alındıktan sonra 3500 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı. Üsteki plazma kısmı atıldı ve altta kalan kısım serum fizyolojik (%0.9 NaCl) ile yıkandı. Elde edilen üst fazlar ayrılıp atıldı ve bu işlemler üç defa tekrarlanarak saf eritrosit paketi hazırlandı. Elde edilen eritrosit paketi örneklerinden karbonik anhidraz ve katalaz enzim aktivitesi tayin edildi.

Hidrojen peroksidin substrat olarak kullanıldığı bu çalışmada Aebi yöntemine göre katalaz aktivitesi belirlendi. Önce fosfat tamponu hazırlandı. Bunun için 5.9485 gr $NaHPO_3$ bir miktar saf suda çözöldü. Toplam hacim saf su ile 1 litreye tamamlandı.

Aktivite tayini şu şekilde yapıldı. Önce iki tüp alındı birinci tüpe 0.1 ml enzim (eritrosit), ikinci tüpe ise eritrosit yerine saf su alınıp iki tüpe de aynı anda 2.8 ml fosfat tampon çözeltisi eklendi. Sonra her iki tüpe de 0.1 ml H_2O_2 ilave edildi ve vortexle karıştırıldı. 3 dk boyunca 30 sn aralıklarla aktivite ölçümü yapıldı. 240 nm de absorbans okundu ve böylece aktivite tayin edildi (Aebi, 1974). Aktivite formülü şöyledir:

$$E\ddot{U}=1000 \times A_{240} / 4.36 \times 0.1 \quad (2.2)$$

2.4. İstatistiksel Yorum

Gruplar arası grafikler ve çizelgeler, genel hasta ve kontrol grubu parametreleri ortalama ve standart hata bulunarak hazırlandı.

Aritmetik ortalama ve standart hata, Microsoft Excel programı kullanılarak yapıldı. p değerleri ise SPSS 15.0 for Windows' bilgisayar programı kullanılarak yapıldı. Student t-testine göre istatistiksel analiz yapıldı. İstatistiksel analizde $p < 0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR

Çalışmaya 40 karaciğer kanserli ve 29 sağlıklı birey dahil edildi. Kanserli olguların yaş ortalaması 45-65 olup, 8'i kadın, 32'si erkek hastalardı. Kanser vakalarının histopatolojik tipleri incelendiğinde, 14'ü primer, 26'sı metastaz olarak tespit edildi. Olguların 26'sında metastaz (özefagus, mide, kolon ve ince bağırsak) tespit edildi. Kanserli olgular, kemoterapi ve/veya radyoterapi almamış ve cerrahi uygulanmamış hastalardı. Kontrol grubunu oluşturan sağlıklı bireylerin 6' sını kadın, 23' ü erkek hastalar olup, yaş ortalamaları 48-65 olarak belirlendi.

Çizelge 3.1. Karaciğer primer ve metastaz kanserli hastalarda ve kontrol grubunda katalaz ve karbonik anhidraz enzim aktivite değerleri

	Primer (n=14)	Metastaz (n=26)	Kontrol (n=29)
CA (EU/gHb)	0.452±0.0368 a *	1.161±0.0401 A	0.111±0.00806
CAT (EU/gHb)	16.094±1.774 b	13.599±0.516 B	61.480±0.210

* Primer ve metastaz karaciğer kanserli hasta grupları arasındaki istatistiksel önemi (P < 0.05) ifade etmektedir

(a, b) Primer karaciğer kanserli hasta grubu ile kontrol grubu arasındaki istatistiksel önemi (P < 0.05) ifade etmektedir

(A, B) Metastaz karaciğer kanserli hasta grubu ile kontrol grubu arasındaki istatistiksel önemi (P < 0.05) ifade etmektedir

Karbonik anhidraz değerleri primer ve metastatik karaciğer kanserli hastalarda, kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu. Ve bu fark istatistiksel açıdan anlamlı bulundu (p<0.05). Ayrıca metastaz karaciğer kanseri olan grupta, serum CA değeri primer gruba göre anlamlı şekilde yüksek bulundu (p<0.05).

Katalaz düzeyi primer ve metastaz karaciğer kanseri olan grupta, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında daha düşük bulundu. Gruplar arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlı bulundu (p<0.05). Primer ve metastaz grubun katalaz değerleri arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlı değildi (p>0.05).

Çizelge 3.2. Karaciğer primer ve metastaz kanserli hastalarda ve kontrol grubunda bazı mineral, eser element ve ağır metal düzeyleri

	Primer (n=14)	Metastaz (n=26)	Kontrol (n=29)
Fe (µg/dl)	0.917±0.182 c	0.49±0.0311 C	0.0871±0.009
Mg (µg/dl)	11.711±0.567 d*	6.044±0.114 D	23.877±0.418
Mn (µg/dl)	0.047±0.003 e	0.0642±0.00454 E	0.253±0.012
Zn (µg/dl)	0.917±0.083 f*	0.0455±0.0102 F	2.243±0.0339
Cu (µg/dl)	0.953±0.068 g*	2.348±0.032 G	3.231±0.0487
Co (µg/dl)	0.024±0.004 h *	0.211±0.0112 H	0.00571±0.000317
Cd (µg/dl)	0.004±0.00072 k*	0.0619±0.00496 K	0.00056±0.00004
Pb (µg/dl)	0.273±0.035 m*	0.937±0.020 M	0.0587±0.018

* Primer ve metastaz karaciğer kanserli hasta grupları arasındaki istatistiksel önemi (P < 0.05) ifade etmektedir

(c, d, e, f, g, h, k, m) Primer karaciğer kanserli hasta grubu ile kontrol grubu arasındaki istatistiksel önemi (P < 0.05) ifade etmektedir

(C, D, E, F, G, H, K, M) Metastaz karaciğer kanserli hasta grubu ile kontrol grubu arasındaki istatistiksel önemi (P < 0.05) ifade etmektedir

Serum Fe düzeyi primer ve metastaz karaciğer kanserli hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek bulundu (p<0.05). Primer ve metastaz karaciğer kanserli gruplar arasında ise Fe düzeyi açısından anlamlı farklılık saptanmadı (p>0.05).

Primer ve metastaz karaciğer kanserli hastalarda, serum Mg düzeyi kontrol grubuna göre daha düşük saptandı (p<0.05). Ayrıca metastaz grupta serum Mg düzeyi, primer gruba göre daha düşük bulundu. Bu fark istatistiksel açıdan anlamlı bulundu (p<0.05).

Karaciğer primer ve metastaz kanserli hastalarda serum Mn düzeyi kontrol grubuna göre daha düşük saptandı ve bu fark istatistiksel açıdan önemli bulundu (p<0.05). Ayrıca primer grupta Mn düzeyi metastaz gruba göre daha düşük bulundu ancak bu fark istatistiksel açıdan önemli bulunmadı (p>0.05).

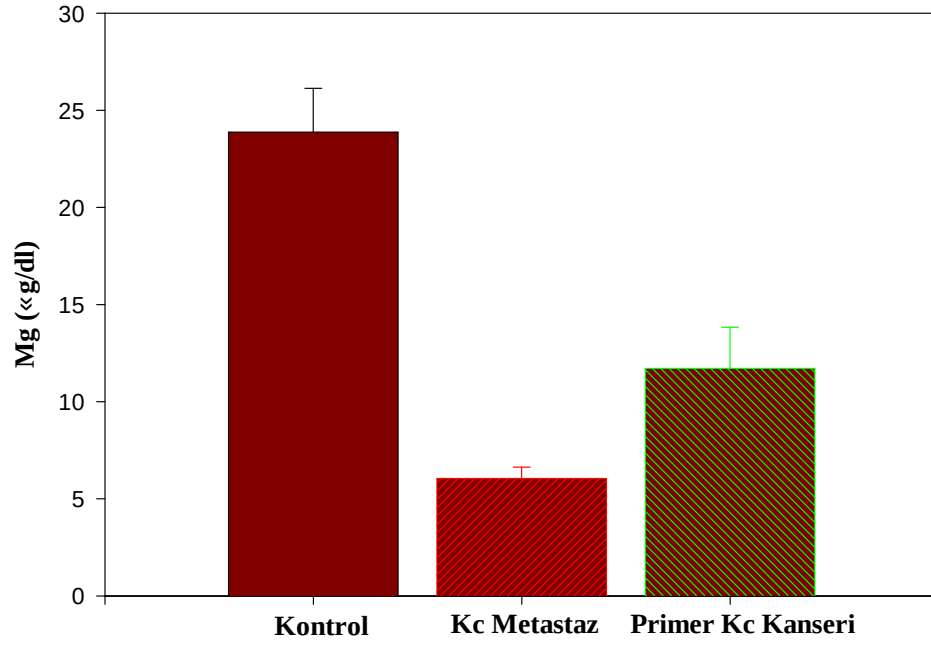
Serum Zn düzeyi her iki kanserli grupta kontrol grubuna göre anlamlı şekilde düşük saptandı (p<0.05). Ayrıca metastaz grupta serum Zn düzeyi primer gruba göre daha da düşük bulundu. Bu fark istatistiksel açıdan anlamlı bulundu (p<0.05).

Primer ve metastatik karaciğer kanserli hastalarda serum Cu düzeyi, kontrol grubuna göre daha düşük bulundu ($p<0.05$). Ayrıca primer gruptaki kanserli hastaların, serum Cu düzeyi, metastatik gruba göre daha düşük bulundu. Bu fark istatistiksel açıdan anlamlı bulundu ($p<0.05$).

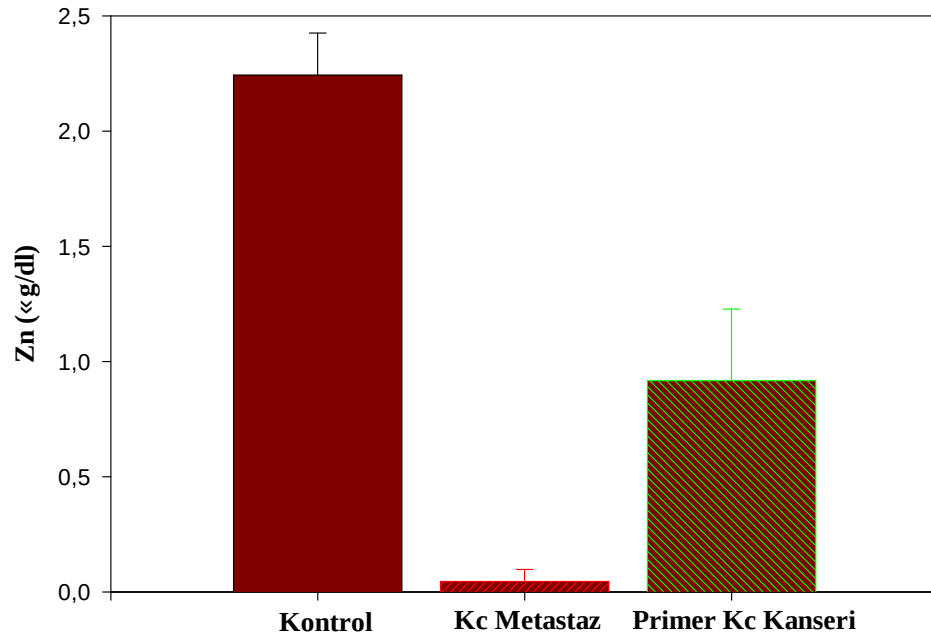
Hem primer hem de metastaz kanserli hastalarda serum Co düzeyi kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu ($p<0.05$). Yine metastaz grupta serum Co düzeyi, primer gruba göre daha yüksek bulundu. Gruplar arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlı bulundu ($p<0.05$).

Serum Cd düzeyi karaciğer primer ve metastaz kanserli hastalarda, kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu ($p<0.05$). Ayrıca metastaz grupta serum Cd düzeyi primer gruba göre daha yüksek bulundu ($p<0.05$).

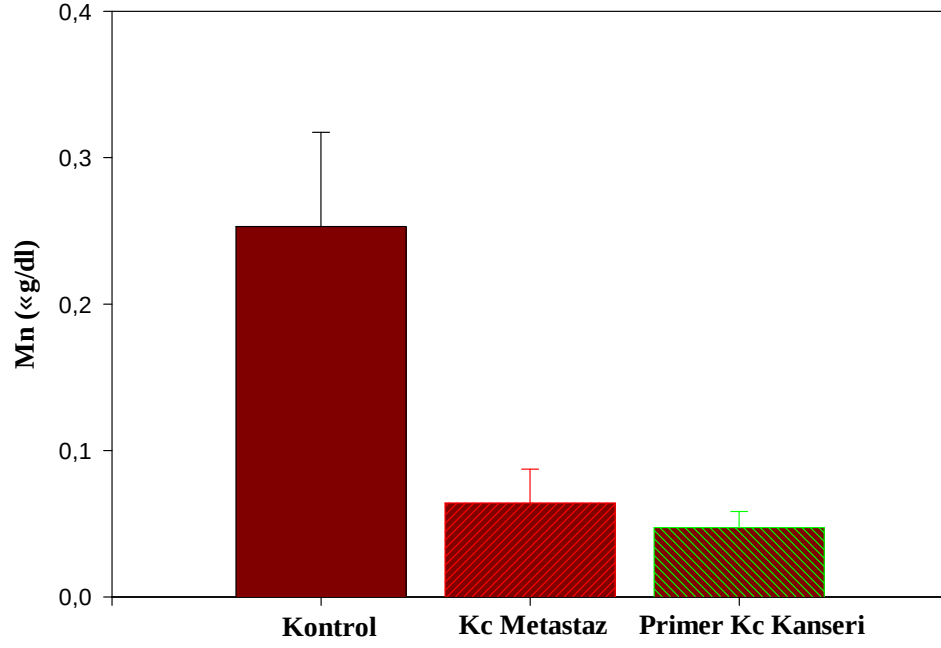
Karaciğer primer ve metastaz kanserli hastalarda serum Pb düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek bulundu ($p<0.05$). Ayrıca metastaz grupta serum Pb düzeyi primer gruba göre daha yüksek bulundu ($p<0.05$).



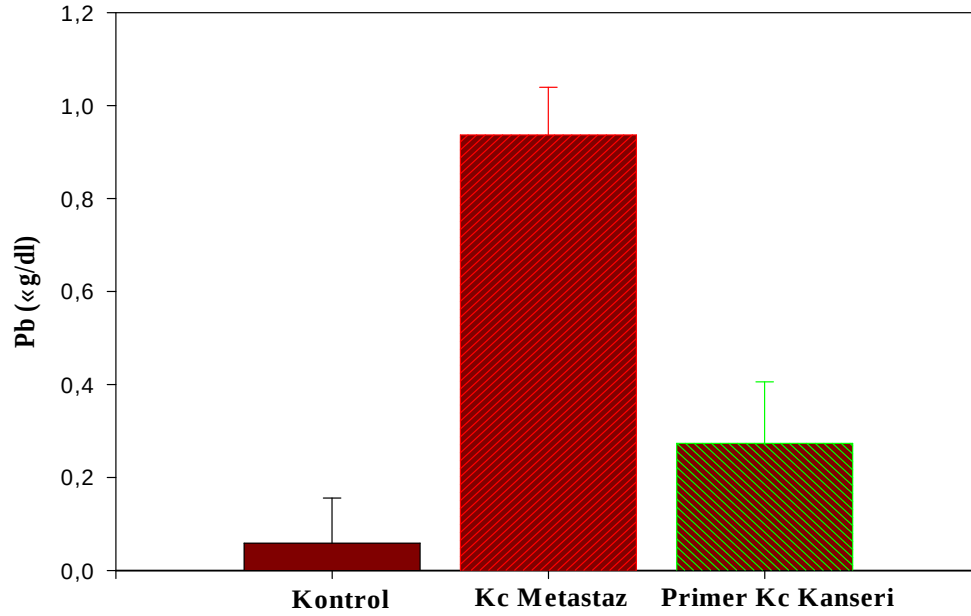
Şekil 3.1. Karaciğer primer ve metastaz kanserli hastalarda ve kontrol grubunda magnezyum (Mg) düzeyleri



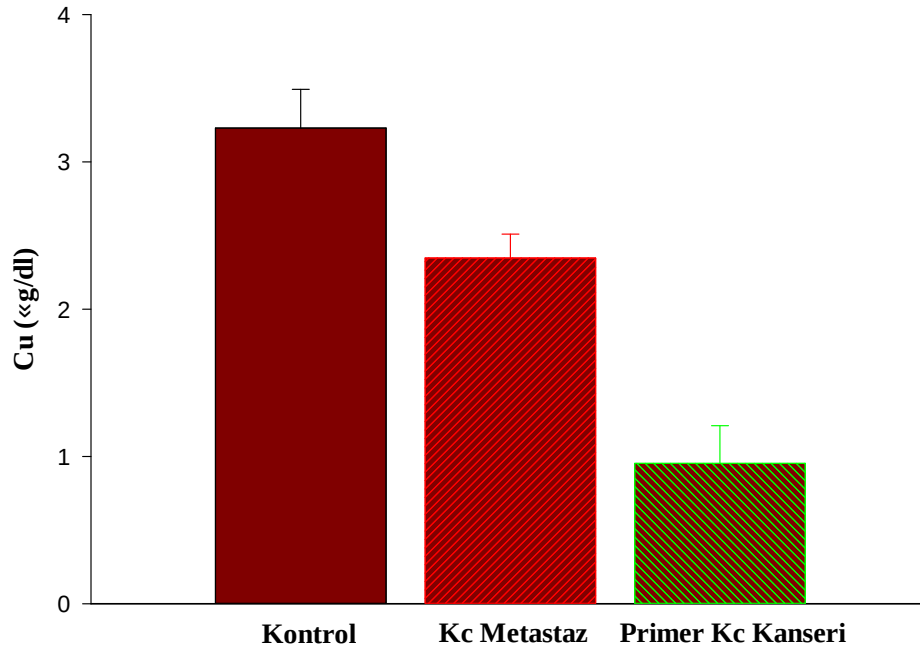
Şekil 3.2. Karaciğer primer ve metastaz kanserli hastalarda ve kontrol grubunda çinko (Zn) düzeyleri



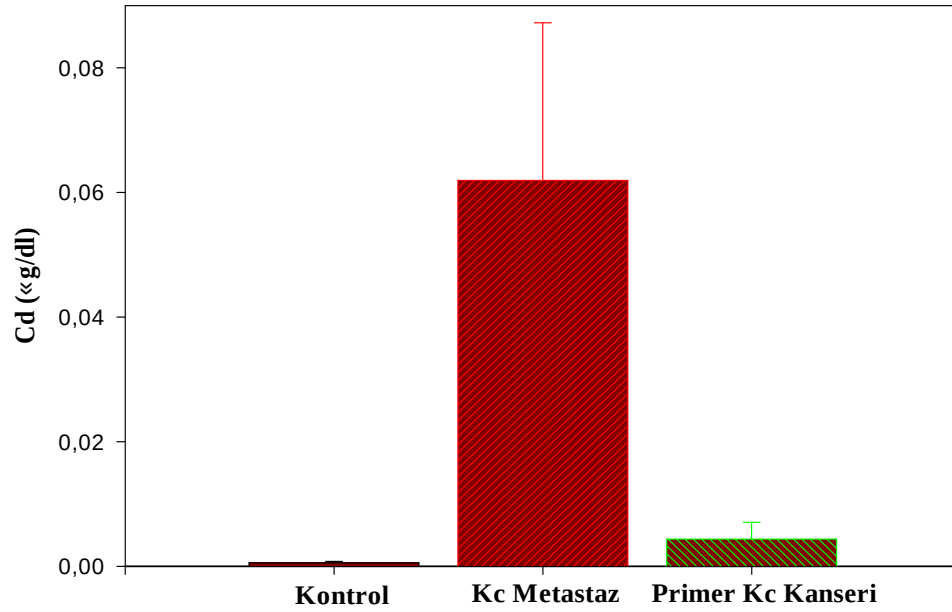
Şekil 3.3. Karaciğer primer ve metastaz kanserli hastalarda ve kontrol grubunda mangan (Mn) düzeyleri



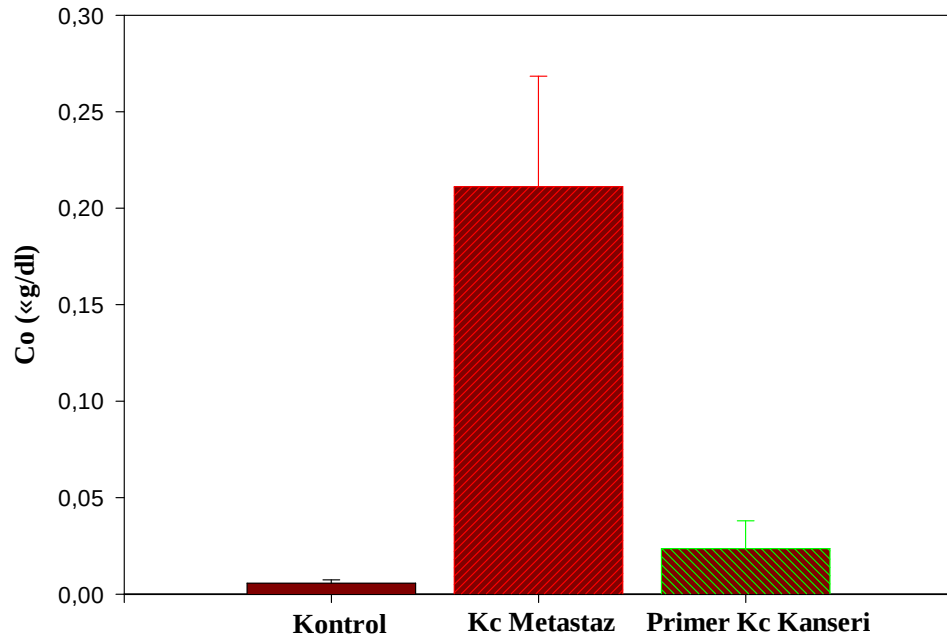
Şekil 3.4. Karaciğer primer ve metastaz kanserli hastalarda ve kontrol grubunda kurşun (Pb) düzeyleri



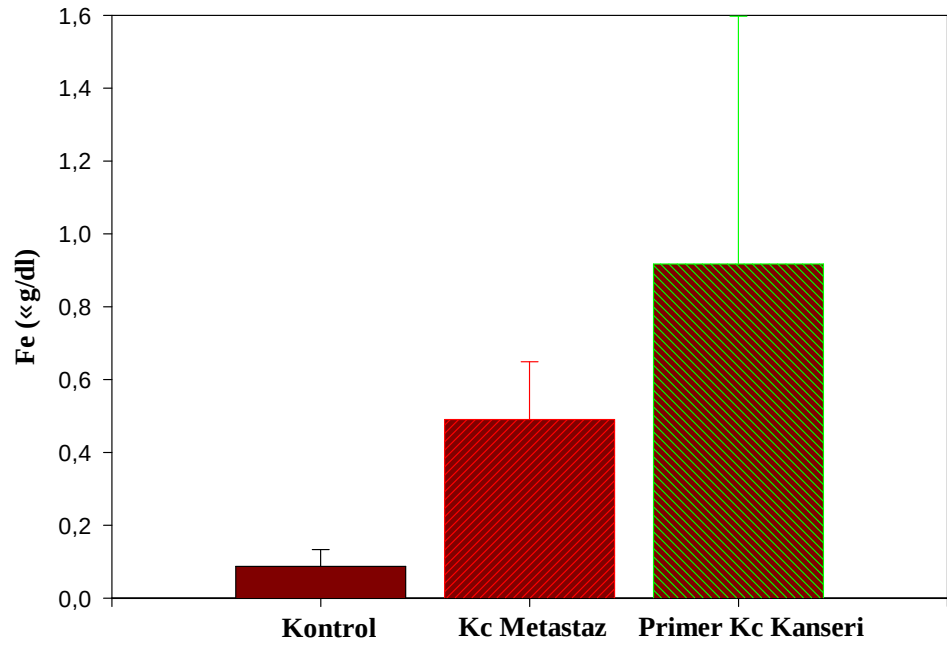
Şekil 3.5. Karaciğer primer ve metastaz kanserli hastalarda ve kontrol grubunda bakır (Cu) düzeyleri



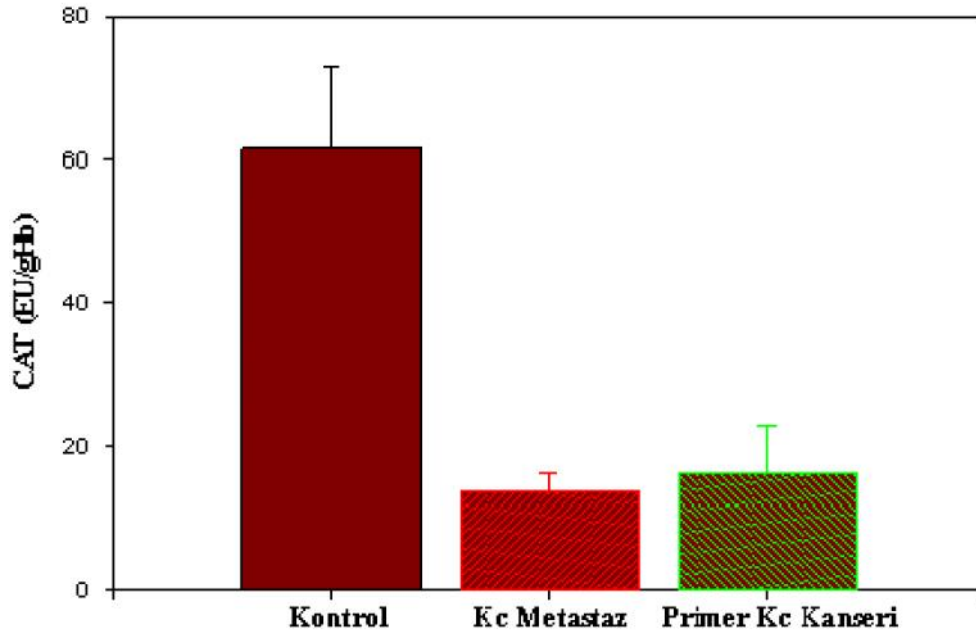
Şekil 3.6. Karaciğer primer ve metastaz kanserli hastalarda ve kontrol grubunda kadmiyum (Cd) düzeyleri



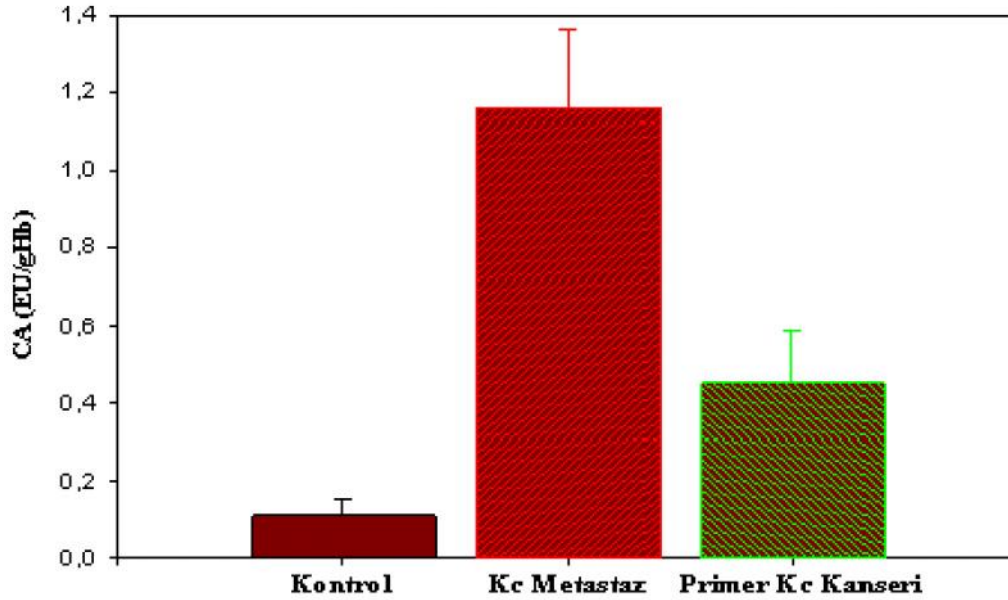
Şekil 3.7. Karaciğer primer ve metastaz kanserli hastalarda ve kontrol grubunda kobalt (Co) düzeyleri



Şekil 3.8. Karaciğer primer ve metastaz kanserli hastalarda ve kontrol grubunda demir (Fe) düzeyleri



Şekil 3.9. Karaciğer primer ve metastaz kanserli hastalarda ve kontrol grubunda katalaz (CAT) enzim aktivite değerleri



Şekil 3.10. Karaciğer primer ve metastaz kanserli hastalarda ve kontrol grubunda karbonik anhidraz (CA) enzim aktivite değerleri

4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Temel organik yapıyı oluşturan C, H, O, N elementleri dışında biyokürenin yapısında bulunan biyoelementleri iki sınıfta toplamak mümkündür. Na, K, Ca, Mg, P, Cl, S makroelement olarak Fe, Cu, Co, Zn, Mn, Mo, Se, Cr, Br, F ve I ise eser element olarak adlandırılan elementleri oluşturmaktadırlar. Mineraller canlılardaki organik yapının kül edilmesi halinde ele geçen doku ağırlığının % 3-5 oluşturur. Bu miktarın % 99 unu makro elementler geri kalanını ise eser elementler oluşturmaktadır (Onat ve Emerk, 1995).

Reaktif oksijen türleri (ROS), normal oksijen metabolizması sırasında az miktarda oluşan süperoksit radikali (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali (OH^-) ve singlet oksijen 'dir. Reaktif oksijen türleri, çeşitli serbest radikallerin oluştuğu serbest radikal zincir reaksiyonlarını başlatabilirler ve hücrede karbon merkezli organik radikaller (R^-), peroksit radikalleri (ROO^-), alkoksi radikalleri (RO^-), tiyil radikalleri (RS^-), sülfenil radikalleri (RSO^-), tiyil peroksit radikalleri (RSO_2^-) gibi çeşitli serbest radikallerin oluşumuna neden olurlar (Halliwell, 1991b). Serbest radikaller, dış atomik orbitallerinde bir veya daha fazla çift oluşturmamış elektron içeren yüksek enerjili, stabil olmayan bileşiklerdir. Bu çiftlenmemiş elektron serbest radikallere büyük bir reaktivite kazandırarak protein, lipid, DNA ve nükleotid koenzimler gibi birçok biyolojik materyale zarar vermelerine neden olmaktadır. Bu zararın yaşlanmayı teşvik ettiği ve ayrıca kalp-damar hastalıkları, çeşitli kanser türleri, katarakt, bağışıklık sisteminde zayıflama, sinir sistemi dejeneratif hastalıkları gibi birçok hastalığa sebep olduğuna dair bilgiler bulunmaktadır (Diplock, 1998). Ultraviyole ışınlar, metal katalizli reaksiyonlar, atmosferik kirlilik, inflamasyon nedeniyle makrofaj ve nötrofillerin aktivasyonu ve elektron transport zinciri ROS üretimine neden olan faktörlerdir (Cadenas, 1989).

Serbest radikallerin neden olduğu oksidasyonları önleyen, serbest radikalleri yakalama ve stabilize etme yeteneğine sahip maddelere "antioksidan" adı verilir (Elliot, 1999). Katalaz, protein yapısında güçlü antioksidan bir enzimdir. Katalaz, her biri bir prostetik grup olan ve yapısında Fe^{+3} bulunduran 4 hem grubundan oluşmuş bir hemoproteindir. Katalaz tüm enzimler içinde en yüksek turnover'a sahip enzimlerden biridir. Yaklaşık bir dakikada ~6 milyon hidrojen peroksit molekülünü suya ve

moleküler oksijene dönüştürür (Valko ve ark., 2006; Cherubini ve ark., 2005; Young ve Woodside, 2001; Taysi ve ark., 2002).

Akciğer, lenfoma, meme, baş-boyun kanserli toplam 125 hastada CAT düzeylerinin araştırıldığı bir çalışmada, belirgin olarak lenfomada olmak üzere tüm kanser tiplerinde, kontrol grubuna göre CAT seviyesinin daha düşük olduğu saptanmıştır (Casado ve ark., 1995).

Çeşitli kanser türlerinde (mide, prostat, akciğer, over) 108 hastayı kapsayan bir çalışmada katalaz enzim aktivitesinin, hasta grubuyla kontrol grubu arasında farklılık göstermediği saptanmıştır (Özensoy ve ark., 2006). Yine yapılan bir çalışmada kolon kanserli hastalarda katalaz enzim aktivitesi sağlıklı bireylere göre daha düşük saptanmıştır (Gür, 2010). Hepatosellüler karsinoma teşhisini yeni almış ve henüz hiçbir tedavi uygulanmamış 37-80 yaş arasındaki 40 hastada CAT ve SOD düzeylerinin araştırıldığı bir çalışmada ise, serum CAT ve SOD düzeyi hasta grubunda anlamlı şekilde düşük bulunmuştur (Lin ve Yin, 2007). Meme kanseri olan hastalarda ameliyat öncesi ve ameliyat sonrası serum katalaz düzeyleri araştırılmış ve ameliyat öncesi düşük olan katalaz düzeyinin ameliyat sonrasında yükseldiği saptanmıştır (Baskaran ve Singh, 2011).

Literatürde yapılmış bir çalışmada HCC'li hastalarda tümör dokusunda katalaz enzim aktivitesinin düşük olduğu saptanmış ve karaciğer kanserinde antioksidan sistemin bozulduğu sonucuna varılmıştır (Bellisola ve ark., 1987). Solmaz ve ark., (2001) yaptıkları bir çalışmada, baş-boyun epidermoid kanserlerinde tümöral dokudaki CAT ve SOD enzim aktivitelerinin evre ilerledikçe giderek azaldığını ve Malondialdehit (MDA) düzeyinin ise giderek arttığını bildirmişlerdir. Yapılan bir çalışmada beyin kanseri olan hastalarda katalaz aktivitesi araştırılmış, hasta grubunda katalaz enzim aktivitesinin anlamlı şekilde azaldığı tespit edilmiştir (Arslan ve ark., 2011). Mide kanserli hastalarda yapılmış bir çalışmada eritosit CAT ve SOD aktiviteleri düşük bulunurken, lipid peroksidasyon düzeyi yüksek saptanmıştır (Arivazhagan ve ark., 1997). Literatürde yapılmış başka bir çalışmada, akciğer kanserli hastalarda katalaz düzeyi düşük bulunmuştur (Çobanoğlu ve ark., 2010b). Bu tez çalışmasında karaciğer kanserli hastalar ile sağlıklı bireylerin katalaz aktivite değerleri sırasıyla; primer karaciğer kanseri için 16.094 ± 1.774 (EU/gHb), metastatik karaciğer kanseri için 13.599 ± 0.516 (EU/gHb) iken, kontrol grubunda bu değer; 61.480 ± 0.210 (EU/gHb)

olarak saptandı. Primer ve metastaz karaciğer kanseri grup ile kontrol grubu arasında katalaz değerleri açısından önemli fark saptandı ($p < 0.05$). Buna karşın primer grup ile metastaz karaciğer kanserli grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmadı ($p > 0.05$). Yapılan bu tez çalışmasında katalaz enzim aktivitesinin hem primer hem de metastaz grupta önemli düzeyde azaldığı belirlendi. Mevcut bulgular literatür verilerini destekler niteliktedir.

Karbonik anhidraz enzimi, vücutta asit-baz dengesini sağlamada önemli rol oynar. CA, aynı zamanda CO_2 'nin dönüşümlü hidrasyonunu ve HCO_3^- 'in dehidrasyonunu katalizleyen ve Zn^{+2} iyonu içeren bir enzimdir. Karbonik anhidrazın en önemli görevi CO_2 'in ve protonların intrasellüler, ekstrasellüler ve intersellüler alanlardaki membranlardan transportunu sağlamaktır (Hassan ve ark., 2012; Missner ve ark., 2008; Parkilla ve ark., 2001). CA ayrıca, kemik rezorpsiyonu, gastrik, serebrospinal ve pankreatik sıvıların sekresyonu gibi farklı olaylarda da rol oynar (Chegwidden ve ark., 2000). CA'nın şimdiye kadar memelilerde belirlenen 15 aktif izoenzim formu belirlenmiştir. Beş sitoplazmik (CAI, CAII, CAIII, CAVII ve CAXIII), beş membrana bağlı (CAIV, CAIX, CAXII, CAXIV ve CAXV), iki mitokondriyal (CA VA ve CA VB) ve bir salgısal (CA VI) ve henüz sınıflandırılmamış bir formu vardır (Supuran, 2004). CAI eritrositlerde bulunur, aktivitesi düşüktür ve biyolojik rolü tam olarak anlaşılamamıştır. CAII geniş ölçüde sitoplazmaya dağılmış halde bulunan aktivitesi yüksek bir CA izoenzimidir (Hewett-Emmett, ve Tashian., 1996). CAI ve CAII enzimlerinin ifadesi birçok neoplastik ve hematolojik hastalıkta araştırılmıştır (Venta, 1991). İmmünolojik çalışmalar sonucunda, karbonik anhidrazların malign beyin tümörlerinde, gastrik ve pankreatik kanserlerde rol oynadığı saptanmıştır (Parkilla, 1995).

Tüm vücut asit-baz regülasyonunun temel paradigması, ekstrasellüler pH (pHe)'nin 7.4 civarında tutulması şeklindedir. Henderson-Hasselbalch denkleminde gösterildiği gibi bu pH, karbonik tampon bileşenleri olan CO_2 ve HCO_3^- 'in konsatrasyonuna bağlıdır. Normalde bu pH, sırasıyla akciğerler ve böbrek yoluyla plazma CO_2 parsiyel basıncı ve HCO_3^- konsatrasyonunun iyi ayarlanması yoluyla sabit tutulur. Majör asit kaynağı sırasıyla CO_2 ve laktik asit üreten aerobik ve anaerobik hücre solunumdur. Asitler hücre içerisinde birikirse, intrasellüler pH (pHi) tehlikeli seviyelere düşebilir. Asidik ekstrasellüler pHe ise anjiogenik faktörlerin ve proteazların

aktivitesini arttırarak, immün fonksiyonu bozarak ve invazyonu arttırarak tümör gelişimine katkıda bulunur (Stubbs ve ark., 2000., Fischer ve ark., 2000). Karbonik anhidraz ailesi enzimleri ekstrasellüler asidifikasyonda önemli rol oynamaktadır ve yapılan bazı çalışmalarda asidik ortamın tümör gelişimini hızlandırdığı öne sürülmüştür (Bonapace ve ark.,2004).

Karaciğer kanserli hastalar ve sağlıklı bireyler arasında yapılan bu çalışmada karbonik anhidraz aktiviteleri primer, metastaz ve kontrol grubunda sırasıyla, 0.452 ± 0.0368 (EU/gHb); 1.161 ± 0.0401 (EU/gHb) ve 0.111 ± 0.00806 (EU/gHb) olarak bulundu.(Çizelge 3.1). CA değerleri primer ve metastatik karaciğer kanserli hastalarda, kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu. Ve bu fark istatistiksel açıdan anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Ayrıca metastaz karaciğer kanseri olan grupta, serum CA değeri primer gruba göre daha yüksek bulundu ($p < 0.05$).

Yapılan bir çalışmada CA (I-II) düzeyi, akut lenfoblastik lösemide ve akut myeloid lösemide kontrol grubuna göre daha yüksek saptanmıştır (Leppilampi ve ark., 2000). Başka bir araştırmada akut lösemi hastalarında karbonik anhidraz enzimi sağlıklı kişilere göre daha yüksek bulunmuştur (Demir ve ark., 2010). Çeşitli kanser türlerinde (mide, prostat, akciğer, over) sitozolik eritrosit CA düzeylerinin incelendiği başka bir çalışmada, kanserli grupta CA düzeyinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu saptanmıştır (Özensoy ve ark., 2006). Yine başta lösemi olmak üzere çeşitli kan hastalıklarında CA düzeylerinin incelendiği bir çalışmada, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, hasta grubunda CA (I,II) düzeylerinin anlamlı şekilde yüksek olduğu saptanmıştır (Bonapace ve ark., 2004). HCC'li hastalarda tümör dokusunda, CA I,II,III aktivitelerinin incelendiği bir çalışmada, normal dokularla karşılaştırıldığında tümör dokusunda enzim aktivitesinin daha düşük olduğu saptanmıştır (Kuo ve ark., 2003).

Eser element ve ağır metal çalışmaları, mide kanseri, baş-boyun kanseri, meme kanseri gibi kanser türlerinde araştırılmış olmasına karşın, karaciğer kanserli hastalarda buna yönelik çalışmalar kısıtlıdır.

Literatürlerde eser elementlerle ilgili yapılmış çalışmalar bu elementlerin karsinojenik etkilerini de kapsamaktadır. Bu araştırmaların büyük bir çoğunluğunu çevresel değişikliklerin etkisinde olan akciğerlerle ilgili çalışmalar oluşturmaktadır (Morgan ve Seaton, 1975; Sakula, 1983).

Magnezyum intrasellüler alanda en çok bulunan makroelementtir. Kasların güçlenmesi, protein sentezi, enzim sistemi aktivitesinde, hücrelerin büyümesi ve yenilenmesinde önemli bir rol üstlenir (Onat ve Emerk, 1995). Hem Mg eksikliği hem de oksidatif stres, yaşlanmada ve yaşlılıkta sık görülen hastalıkların ortaya çıkmasında rol oynayan önemli faktörlerdir. İnsanlarda bu ilişki kesin kanıtlanmamış olmasına rağmen, deney hayvanlarında şiddetli Mg eksikliğinin oksidatif stresi arttırdığı gösterilmiştir (Manuel ve ark., 2000) Yapılan çalışmalarda prostat ve beyin tümörlerinde, serum eser elementi olan Mg düzeyi kanserli hasta gruplarında, sağlıklı bireylere göre daha yüksek saptanmıştır (Arslan ve ark., 2011; Geçit ve ark., 2012). Birçok makroelement ve eser elementin incelendiği bir çalışmada kanserli hastalarla sağlıklı insanlar karşılaştırılmış ve kanserli grupta serum Mg düzeyinin daha düşük olduğu saptanmıştır (Pasha ve ark., 2008). Baş ve boyun kanseri olan hastalarda yapılan bir çalışmada serum Mg düzeyi, kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur (Kohli ve ark., 1989). Feng ve ark, (2012) meme kanserli 56 bayan hastada yaptıkları bir çalışmada serum Mg düzeyinin hasta grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı şekilde düşük olduğunu saptamışlardır. Bu tez çalışmasında da benzer şekilde, primer ve metastaz karaciğer kanserli hastalarda, serum Mg düzeyi kontrol grubuna göre daha düşük saptandı ($p<0.05$). Ayrıca metastaz grupta serum Mg düzeyi, primer gruba göre daha düşük bulundu. Bu fark istatistiksel açıdan anlamlı bulundu ($p<0.05$) (Çizelge 3. 2).

HCC gelişmesi, kandaki eser element düzeyleri ile ilişkili olabilir (Gurusamy, 2007). Bakır, hücre organellerine zarar veren serbest oksijen radikallerinin oluşmasında rol alır (Seth ve ark., 2004). Böylece fazla bakır karaciğer hasarına yolaçarak kanser gelişmesini kolaylaştırmaktadır. Yapılan bazı çalışmalarda kc, mide, mesane ve metastatik beyin kanseri olan kişilerde serum bakır düzeyleri yüksek saptanmıştır (Gupta ve ark., 2005; Margalioth ve ark., 1983; Yoshida ve ark., 1993; Ebara ve ark., 1999; Ebara ve ark., 2003). Buna karşın bazı çalışmalarda ise karaciğer kanserli hastalarda serum bakır düzeyi düşük bulunmuştur (Liaw ve ark., 1997). Akciğer kanserli hastalarda serum selenyum, çinko ve demir seviyeleri azalırken, bakır konsantrasyonunun arttığı saptanmıştır (Satar ve ark., 1997). Meme kanserli hastalarda yapılan bir çalışmada serum bakır düzeylerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu saptanmıştır (Huang ve ark., 1999). Akciğer kanseri olan, 44-80 yaş arası 36

erkek hastada eser element incelemesinin yapıldığı bir çalışmada, serum Cu düzeyinin hasta grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu saptanmıştır (Borella ve ark., 1997). Metastatik karaciğer kanserli hastalarda tümörlü dokuda Cu düzeyleri düşük bulunurken, tümörün etrafındaki normal dokuda Cu düzeyi yüksek saptanmıştır (Haratake ve ark., 1987). Bu tez çalışmasında primer ve metastatik karaciğer kanserli hastalarda serum Cu düzeyi, kontrol grubuna göre daha düşük bulundu ($p<0.05$). Ayrıca primer grupta, metastatik gruba göre Cu düzeyi daha düşük bulundu ($p<0.05$) (Çizelge 3. 2).

Mangan, yağ ve karbonhidrat metabolizmasında, immünitede, kemik metabolizmasında önemli rol oynar. Mangan, süperoksit dismutaz, pirüvat karboksilaz, arjinaz gibi enzimlerin yapısında bulunur (Wada, 2004). Mangan madenlerinde çalışan işçilerde uzun süreli maruziyet sonucunda pulmoner ve nörotoksik etkilerin ortaya çıktığı bildirilmiştir. Yüksek doz mangan enjeksiyonunun deney hayvanlarında sarkoma gelişmesine neden olduğu saptanmıştır. Buna karşın manganın insanlarda kanserojen olduğuna dair yeterli veri yoktur (Kazantzis, 1981). Kolorektal karsinomada yapılan bir çalışmada hasta grubunda serum Mn düzeyi kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur (Milde ve ark., 2001). Meme kanserli hastalarda eser element ve total antioksidan durumunun araştırıldığı başka bir çalışmada, serum Mn düzeyi hasta grubunda , kontrol grubuna göre anlamlı şekilde düşük saptanmıştır (Feng ve ark., 2012). Pasha ve ark, (2008) 112 kanserli hasta üzerinde yaptıkları bir çalışmada Mn düzeyini, kanserli hastalarda kontrol grubuna göre daha yüksek saptamışlardır. Akciğer kanseri tanısını yeni almış 45 kadın ve erkek hastada eser element düzeylerinin incelendiği başka bir çalışmada, serum mangan düzeyi hasta grubunda, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı şekilde düşük bulunmuştur (Sadat ve ark., 2008). Bu çalışmaya benzer şekilde, bu tez çalışmasında da karaciğer primer ve metastaz kanserli hastalarda serum Mn düzeyi sağlıklı bireylere göre daha düşük saptandı ($p<0.05$). Ayrıca primer grupta Mn düzeyi metastaz gruba göre daha düşük bulundu ancak bu fark istatistiksel açıdan önemli bulunmadı ($P>0.05$) (Çizelge 3. 2).

Biyolojik sistemlerde oksijen taşınması, ATP üretimi, DNA ve klorofil sentezinde önemli role sahip olan demirin serbest formları canlı hücrelerde toksik etki yapabilmektedir. Bu toksite sonucunda oluşan aktif oksijen türleri lipid oksidasyonunu teşvik edebilmekte veya DNA moleküllerine saldırabilmektedir. Gerçekte tüm canlı

hücreler, serbest demirin toksik etkisini yok eden ve demirin fazlasını toksik olmayan formlarda hücre içinde depolayan mekanizmalara sahiptir (Miller 1996). Primer hemakromatozisi olan kişilerde HCC gelişme riski normal popülasyona göre 20-200 kat artmaktadır (Haddow ve ark., 2003; Niederau ve ark., 1985). Yapılan bir çalışmada Fe'nin tümör hücrelerini besleyici bir faktör olarak kansere neden olabileceği, inflamasyonu başlatıp kanser büyümesini arttırabileceği sonucuna ulaşılmıştır. İndirgeyici aktif bir iyon olan Fe, biyolojik sistemlerde serbest oksijen radikalleri oluşumunda görev alır. Oluşan bu serbest radikaller nükleik asitlerde hasara yolaçarak kanser gelişmesine neden olabilir (Asare ve ark., 2005). Meme kanserli hastalarda yapılan bir çalışmada serum Fe ve Zn düzeylerinin hasta grubu ile kontrol grubu arasında farklılık göstermediği saptanmıştır (Huang ve ark., 1999). Yapılan başka bir araştırmada mide kanserli hastaların tümör dokularında, normal gastrik mukozal dokulara kıyasla, Fe, Mg ve Zn düzeylerinin önemli ölçüde yüksek olduğu belirlenmiştir (Wu ve ark., 1996).

Kolon kanserli 256 hastada yapılan başka bir çalışmada serum Fe ve Cu düzeyleri açısından hasta grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel açıdan önemli fark saptanmamıştır (Al Faris ve Ahmad., 2011). Meme kanseri olan bayan hastalarda yapılan bir çalışmada serum Fe düzeyi, kontrol grubuna göre daha yüksek saptanmıştır. Bu sonuçtan yola çıkarak, yüksek serum Fe düzeyinin meme kanseri için bir risk faktörü olduğu sonucuna varılmıştır (Feng ve ark., 2012). Metastatik karaciğer kanserli hastalarda tümörlü dokuda element düzeylerinin incelendiği bir çalışmada, tümör dokusunda Fe düzeyi düşük bulunurken, tümörün etrafındaki normal dokuda Fe düzeyi yüksek saptanmıştır (Roguljic ve ark., 1980). Yapılan bu tez çalışmasında karaciğer primer ve metastaz kanserli hastalarda serum Fe düzeyi kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu ($p<0.05$). Ayrıca primer ve metastaz karaciğer kanserli gruplar arasında da istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$).

Çinko, hücre bölünmesi ve büyümesinde, DNA sentezinde, RNA transkripsiyonund, immün sistemin çalışmasında, kan şekerinin düzenlenmesinde ve insülinin aktivitesini arttırmada önemli rol oynar (Prasad, 1998). Çinko, proteinlerin sülfidril gruplarını serbest radikal saldırısına karşı korur ve redoks-aktif geçiş metallerini (Fe, Cu) inhibe ederek serbest radikal oluşumunu azaltır (Valko ve ark., 2006). Deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda Zn eksikliğinde, ROS üretiminin,

lipid ve lipoprotein oksidasyonunun ve MDA düzeyinin arttığı bildirilmiştir. Bu da, Zn eksikliğiyle oksidatif hasar arasında pozitif bir korelasyon olduğunu kanıtlamıştır (Valko ve ark., 2004). Bu sonuçlar göstermektedir ki Zn; kanser, metabolik bozukluklar ve kronik hastalıklara karşı koruyucu antioksidan etki göstermektedir (Prasad ve ark., 2009). Çinko, bazı maddelerin aşırı yada eksik alınması sonucu oluşan prooksidant etkileri azaltarak karaciğeri koruyucu etki gösterir (Goel ve ark., 2005).

Metastatik karaciğer kanseri olan hastalarda tümör dokusunda eser element incelemesinin yapıldığı bir çalışmada, tümöral dokudaki Zn düzeyi, tümörün etrafındaki dokuyla ve kontrol grubuyla karşılaştırıldığında daha düşük bulunmuştur (Roguljic ve ark., 1980; Haratake ve ark., 1987). Meme kanserli hastalarda yapılmış bir çalışmada serum Zn ve Fe düzeyleri açısından hasta ve kontrol grubu arasında farklılık saptanmamıştır (Huang ve ark., 1999). Başka bir çalışmada mide- bağırsak sistemi kanseri olan hastalarda serum ve doku Cu düzeylerinin, sağlıklı bireylere göre yükselmiş olduğu, serum Zn değerlerinin ise belirgin derecede düşük olduğu saptanmıştır (Poo ve ark., 1997). Kolon kanserli hastalarda yapılan başka bir çalışmada, serum Zn düzeyi hasta grubunda, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında daha düşük bulunmuştur. (Al Faris ve Ahmad, 2011).

HCC'li hastalarda yapılmış bazı çalışmalarda serum Zn düzeyi sağlıklı kişilere göre daha düşük saptanmıştır (Maeda ve ark.,2005; Liaw ve ark., 1997). Yine başka bir çalışmada Zn düzeyinin, tümör rezeksiyonu sonrası normal düzeye geldiği fakat nonrezektabl tümörlü hastalarda serum Zn düzeyinin düşük olduğu saptanmıştır (Vasehus and Andersen, 1987). Otopsi ile elde edilen dokularda, eser element düzeylerinin incelendiği bir çalışmada, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kanserli dokuda Cu düzeyinin yükseldiği, Zn düzeyinin ise düştüğü tespit edilmiştir (Shuichi ve ark., 1991). İtalya'da yapılan bir çalışmada, 45-72 yaş arası, meme kanseri olan 80 kadın hastada serum, saç ve tümörlü dokuda eser element analizi yapılmış ve sonuçta kadın hastalarda serum Zn düzeyinin düşük olduğu saptanmıştır (Borella ve ark., 1997). Bu tez çalışmasında karaciğer primer ve metastaz kanserli hastalarda serum Zn düzeyi sağlıklı bireylere göre daha düşük saptandı ($p<0.05$). Ayrıca metastaz grupta serum Zn düzeyi primer gruba göre daha da düşük bulundu ($p<0.05$) (Çizelge 3.2). Elde edilen bu bulgular literatür çalışmalarını destekler niteliktedir.

Kadmiyum, IARC tarafından insan karsinojeni olarak kabul edilmiştir. Cd birçok farklı mekanizma ile kanser gelişmesine neden olur. Bunlardan bazıları, oksidatif strese neden olması, DNA hasarının tamirini engellemesi ve apoptozisi inhibe etmesidir (Joseph, 2009). Yapılan literatür çalışmalarında, mesleki Cd maruziyeti ile prostat kanseri arasındaki ilişki araştırılmış, bazı çalışmalarda ikisi arasında anlamlı bir ilişki saptanmış, bazılarında ise anlamlı bir ilişki saptanamamıştır. Sorahan ve Watherhouse, (1983) İngiltere’de Ni-Cd sanayisinde çalışan işçileri inceledikleri bir kohort araştırmasında, işçiler arasında prostat kanseri insidansının yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Bazı çalışmalarda ise prostat kanseri ile Cd maruziyeti arasında bir korelasyon saptanamamıştır (Kazantzis ve ark., 1988; Platz ve ark., 2002). Armstrong ve Kazantzis, (1985) kadmiyuma maruz kalan işçilerde, maruz kalınan süre ve dozla ilişkili olarak daha çok böbrek hastalıklarının ortaya çıktığını, yüksek yada orta derecede kadmiyuma maruz kalan işçilerde, prostat kanseri oranının hafifçe yükseldiğini ancak bunun istatistiksel açıdan anlamlı olmadığını saptamışlardır. West ve ark, (1991), yaptıkları bir çalışmada diyetle alınan Cd ile prostat kanseri arasında pozitif korelasyon olduğunu bildirmişlerdir. Pasha ve ark. (2008), 112 kanserli hasta üzerinde yaptıkları bir çalışmada serum Cd düzeyinin kanserli hastalarda kontrol grubuna göre 1.6-7.4 kat daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Gastrointestinal kanseri olan toplam 36 hasta üzerinde yapılmış başka bir çalışmada serum Cd düzeyi kanserli hasta grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek saptanmıştır (Pasha ve ark., 2010). Yapılan bu tez çalışmasında karaciğer primer ve metastaz kanserli hastalarda serum Cd düzeyi sağlıklı bireylere göre daha yüksek bulundu ($p<0.05$) (Çizelge 3.2). Ayrıca metastaz grupta serum Cd düzeyi primer gruba göre daha yüksek bulundu ($p<0.05$).

IARC’nin sınıflandırmasına göre Co muhtemel insan karsinojenidir (Leonard ve ark., 1998). Kobalt bileşiklerinin kanserin başlamasında yada ilerlemesindeki rolü henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Kobalt bileşiklerinin insanlar üzerinde kansere neden olduğuna dair henüz kesin bulgular olmamasına rağmen, hayvanlar üzerinde yapılan deneylerde, kobalt tozlarının (Kobalt oksit ve kobalt sülfat) kansere yolaştığı kanıtlanmıştır (Kazantzis, 1981). Deney hayvanlarında kobalt sülfat inhalasyonu sonucu alveolar ve bronşiyal kanserlerin arttığı ve solunum yolunda fibrotik ve inflamatuvar değişikliklerin olduğu saptanmıştır (Bucher ve ark., 1999).

Literatürde yapılmış bir çalışmada Co düzeyi açısından, kanserli hasta grubu ile kontrol grubu arasında fark saptanmamıştır (Pasha ve ark., 2008). Çobanoğlu, (2010a) yaptığı bir çalışmada, akciğer kanserli hastalarda serum Co düzeyinin, kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu saptamıştır. Larinks kanserli hastalarda yapılan bir çalışmada serum kobalt düzeyi, kontrol grubuna göre daha yüksek saptanmıştır (Collecchi ve ark., 1986). Prostat kanseri olan toplam 20 hastada bazı eser element ve vitaminlerin incelendiği başka bir çalışmada, kanserli hasta grubunda serum Co düzeyi kontrol grubuna göre daha yüksek saptanmıştır (Özmen ve ark., 2006). Bu tez çalışmasında da benzer şekilde karaciğer primer ve metastaz kanserli hastalarda serum Co düzeyi kontrol grubuna göre daha yüksek saptandı ($p<0.05$). Ayrıca metastaz grupta serum Co düzeyi, primer gruba göre daha yüksek bulundu (Çizelge 3.2). Gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$).

İsveç’de metal-döküm işinde çalışan ve bu nedenle kurşuna maruz kalan işçilerin vaka grubu olarak seçildiği kohort tipi bir çalışmada, kanser oranları araştırılmış ve bu işçilerde başta akciğer kanseri olmak üzere çeşitli kanser türlerinin daha sık görüldüğü saptanmıştır (Englyst ve ark., 2001). Akciğer kanserli olgularda serum Pb düzeylerinin araştırıldığı bir çalışmada kanserli hasta grubunda Pb düzeyi yüksek saptanmıştır (Çobanoğlu, 2010a). Yine başka bir çalışmada, prostat kanserli hastalarda Pb düzeyi yüksek saptanmıştır (Geçit ve ark., 2011). Literatürde beyin kanserinde Pb düzeyinin araştırıldığı başka bir çalışmada ise, kanserli hastalarda Pb düzeyinin yüksek olduğu saptanmıştır (Arslan ve ark., 2011). Böbrek kanseri tanısını yeni almış 154 hastada yapılmış bir çalışmada, serum Pb düzeyinin hasta grubunda, kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu saptanmış ve yüksek kan kurşun düzeyinin böbrek kanseri gelişmesiyle ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır (Southard ve ark., 2012). Sunulan bu tez çalışmasında ise karaciğer primer ve metastaz kanserli hastalarda serum Pb düzeyi sağlıklı bireylere göre daha yüksek bulundu ($p<0.05$). Yine metastaz grupta serum Pb düzeyi primer gruba göre daha yüksek bulundu ($p<0.05$) (Çizelge 3.2).

Sonuç olarak; eritrosit katalaz aktivitesi oksidatif stresin muhtemel bir işareti olabilir. Kanserli hastalarda prooksidan ve antioksidan arasındaki denge bozulmakta ve sonuçta oksidatif stres ve hücre hasarı meydana gelmektedir. Karaciğer kanserinde eritrosit katalaz aktivitesinin düşük bulunmuş olması, antioksidan sistemin kanserli hastalarda yetersizliğinin bir göstergesi olabilir.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda çeşitli kanser türlerinde karbonik anhidrazın bazı izoenzimlerinin yüksek bulunması dikkati bu enzim üzerine çekmiştir. Ancak bugüne kadar yapılan çalışmalar oldukça kısıtlıdır ve kanserle karbonik anhidraz enzimi arasındaki ilişki tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Karaciğer kanserli hastalarda eritrosit karbonik anhidraz enziminin yüksek bulunmuş olması bu enzimin kanserin teşhisinde faydalı bir belirteç olabileceğini aynı zamanda kanser tedavisinde yönlendirici bir faktör (CA inhibitör ve aktivatörlerinin kullanılması) olabileceğini düşündürmektedir. Ancak bu konuda daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Eser elementler, insan sağlığı için elzem olmalarına rağmen bunların aşırı miktarda yada az alınması hücrel fonksiyonları bozarak dejeneratif ve kronik hastalıkların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Eser elementler, birçok kanser türünde araştırılmış olmasına rağmen, bunların kanser yapıcı yada kansere karşı koruyucu etkilerinin olup olmadığı tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Birçok kanser türünde eser element düzeyleri farklılık göstermektedir. Bunun sebepleri ve mekanizmasının daha iyi anlaşılabilmesi için daha ileri araştırmalara ihtiyaç vardır.

Ek olarak; kanser günümüzde en önemli sağlık problemlerinden birisidir. Dünya çapında kansere bağlı ölümler giderek artmaktadır. Bu da hastalığın önemini, erken teşhis ve tedavinin gerekliliğini arttırmaktadır. Radyasyondan korunma, çevresel kirliliğinin azaltılması, dengeli ve düzenli beslenme (antioksidan besinler), egzersiz, sigara ve alkol ve uyuşturucudan uzak durulması, gereksiz ilaç kullanımının kontrol altına alınması hastalığı önleyici tedbirler olarak sayılabilir. Unutulmamalıdır ki kanserden korunmak, kanseri tedavi etmekten daha kolaydır.

Bu çalışmanın bundan sonra yapılacak çalışmalara ışık tutacağı kanısındayız.

KAYNAKLAR

- Aebi, H., 1974. *Catalase in vitro. Methods of enzymatic analysis*. New York and London: Academic Press, .673-667.
- Aisen, P., Enns, C., Wessling-Resnick, M., 2001. Chemistry and biology of eukaryotic iron metabolism. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **33**: 940–959.
- Akkuş, İ., 1995. *Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri.*: Mimoza Yayınları, 1. Baskı, Konya. 1-110
- Alexander, S., 1995. Minerals and human health, The rationale for optimal and balanced trace element levels. *Life Sciences*, 1-3.
- Al Faris, N.A., Ahmad, D., 2011. Distribution of trace elements like calcium, copper, iron and zinc in serum samples of colon cancer–A case control study. *Journal of King Saud University–Science*, **23**: 337–340.
- Almajan, G.L., Innocenti, A., Puccetti, L., Manole, G., Barbuceanu, S., Saramet, I., Scozzafava, A., Supuran, C.T., 2005. Carbonic anhydrase inhibitors. Inhibition of the cytosolic and tumor-associated carbonic anhydrase isozymes 116I, II, and IX with a series of 1,3,4-thiadiazole- and 1,2,4-triazole-thiols, *Bioorg Med Chem Letters*, **15**: 2347-2352.
- Andrews, N.C., 1999. Disorders of iron metabolism. *N. Engl. J. Med.*, **341**: 1986–1995.
- Aras, N.K., Ataman, O.Y., 2006. *Trace element analysis of food and diet*. RSC Publishing: Cambridge, UK. ISBN:978-1-84755-249-5
- Arredondo, M., Nuñez, MT., 2005. Iron and copper metabolism, *Molecular Aspects of Medicine*, **26**: 313–327.
- Arivazhagan, S., Kavitha, K., Nagini, S., 1997. Erythrocyte lipid peroxidation and antioxidants in gastric cancer patients. *Cell Biochem Funct*; **15**:15–8.
- Armstrong, B.G., Kazantzis, G., 1985. Prostatic cancer and chronic respiratory and renal disease in British cadmium workers: a case–control study. *Br J Ind Med*, **42**:540–545.
- Arslan, M., Demir, H., Arslan, H., Gökalp, AS., Demir, C., 2011. Trace elements, heavy metals and other biochemical parameters in malignant glioma patients, *Asian Pac J Cancer Prev.* **12**:447-51.

- Asare, G.A., Mossanda, K.S., Kew, M.C., Paterson, A.C., Kahler-Venter, C.P., Siziba, K., 2005. Hepatocellular carcinoma caused by iron overload: a possible mechanism of direct hepatocarcinogenicity. *Toxicolog*, **219**:41-52.
- Asayama, K., Nakane, T., Uchida, H., 1994. Serum antioxidant status in streptozosin-induced diabetic rat. *Horm Metab Res.*, **26**:617-20.
- Aydın, A., Sayal, A., Işimer, A., 2001. Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Sistemi. *Gülhane Askeri Tıp Akademisi*, **20**: 1-87.
- Aydoğan, S., Yerer, B., Göktaş, A., 2006. Melatonin and nitric oxide. *Journal of Endocrinological Investigation*, **29**: 281.
- Bacon, B.R., Powell, L.W., Adams, P.C., Kresina, T.F., Hoofnagle, J.H., 1999. Molecular medicine and hemochromatosis: At the crossroads. *Gastroenterology*, **116**:193-207.
- Barceloux, D.G., 1999. Zinc. *Clin Toxicology*, **37**: 279-292.
- Baskaran, S., Singh, AK., 2011. Antioxidant and lipid peroxidation status in pre and post operative breast carcinoma. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, **2**: 451-454.
- Becker, B.F., Reinholz, N., Leipert, B., Raschke, P., Permanetter, B., Gerlach, E., 1991. Role of uric acid as an endogenous radical scavenger and antioxidant. *Chest.*, **100**: 176-181.
- Bellisola, G., Casaril, M., Gabrielli, G.B., Caraffi, M., Corrocher, R., 1987. Catalase activity in human hepatocellular carcinoma (HCC). *Clinical Biochemistry*, **20**: 415-417.
- Bonapacea, G., Iuliano, F., Molica, S., Peta, A., Strisciuglio P., 2004. Cytosolic carbonic anhydrase activity in chronic myeloid disorders with different clinical phenotype. *Biochimica et Biophysica Acta* **1689**, 179–181.
- Borella, P., Bargellini, A., Caselgrandi, E., Piccinini, L., 1997. Observations on the Use of Plasma, Hair and Tissue to Evaluate Trace Element Status in Cancer. *Trace Elements Med. Biol.*, **2**: 162-165.
- Bosch, X., Ribes, J., Boras, J., 1999. Epidemiology of primary liver cancer. *Semin liver dis*, **19**: 271-285.

- Brannvall, M.L., Bindler, R., Renberg, I., Emteryd, O., Bartnicki, J., Billstrom, K., 1999. The Medieval metal industry was the cradle of modern large scale atmospheric lead pollution in northern Europe. *Environ. Sci. Technol.*, **33**: 4391–4395.
- Brem, S., Wotoczek-Obadia, M.C., 1998. Regulation of angiogenesis by copper reduction and penicillamine: antagonism of cytokine and growth factor activity. *AACR Special Conference: Angiogenesis and Cancer Research*, , January 24–28, 1998. Orlando, USA. Abstract A-16.
- Bruix, J., Sherman, M., 2005. Practice guidelines committee, American Association for the Study of Liver Diseases. Management of hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, **42**: 1208–1236.
- Bucher, J.R., Hailey, J.R., Roycroft, J.R., Haseman, J.K., Sills, R.C., Grumbein, S.L., Mellick, P.W., Chou, B.J., 1999. Inhalation toxicity and carcinogenicity studies of cobalt sulfate. *Toxicol. Sci.*, **49**: 56–67.
- Cadenas, E., 1989. Biochemistry of oxygen toxicity. *Ann. Rev. Biochem.*, **58**: 79–110.
- Casado, A., Torre, R., Lopez-Fernandez, M.E., Carrascosa, D., Casado, M.C., Ramirez, M.V., 1995. Superoxide dismutase and catalase blood levels in patients with malignant diseases. *Cancer Letters*, **93**: 187–192.
- Cheeseman, K.H., Slater, T.F., 1993. An Introduction to radical biochemistry. *Br. Med. Bull.*, **49**: 481–493.
- Chan, D.W., Sell, S., 1994. *Tumor Markers. in: "Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 2th Edition. Ed. Burtis, CA., and Ashwood, ER., WB. Saunders Company, Philadelphia. 897-927.
- Chegwidden, W.R., Dodgson, S.J., Spencer, I.M., 2000. The roles of carbonic anhydrase in metabolism, cell growth and cancer in animals, W.R. Chegwidden, N.D. Carter, Y.H. Edwards (Eds.), The Carbonic Anhydrases, *Birkhauser Verlag New Horizons*, 2000. Basel, Switzerland. 343–361.
- Cherubini, A., Ruggiero, C., Polidori, M.C., Mecocci, C., 2005. Potential markers of oxidative stress in stroke. *Free Radical Biology & Medicine*. **39**: 841–852.
- Chiu, C.M., Yeh, S.H., Chen, P.J., Kuo, T.J., Chang, C.J., Chen, P.J., Yang, W.J., Chen, D.S., 2007. Hepatitis B virus X protein enhances androgen receptor-responsive gene expression depending on androgen level. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**: 2571–2578.

- Cole, P., Morrison, A.S., 1980. Basic issues in population screening for cancer. *J Natl Cancer institue*, **64**: 1263-1272.
- Collecchi, P., Esposito, M., Brera, S., Mora, E., Mazzucotelli, A., Oddone, M., 1986. The distribution of arsenic and cobalt in patients with laryngeal carcinoma. *Journal of Applied Toxicology*, **6**: 287-289.
- Copius-Peereboom, J.W., 1985. General aspects of trace elements and health. *The Science of the Total Environment*; **42**: 1–27.
- Costello, L.C., Franklin, R.B., Tan, M., Bagasra, O., 2005. Zinc and prostate cancer: acritical scientific, medical and public interest issue. (United States). *Cancer Causes Control*, **16**: 901-915.
- Cougot, D., Neuveut, C., Buendia, M.A., 2005. HBV induced carcinogenesis. *J. Clin. Virol.*, **34**: 75–78.
- Cross, C.E., Halliwell, B., Borish, E.T., 1987. Oxygen radicals and human disease. *Ann Int Med.*, **107**:526-45.
- Çobanoğlu, U., Demir, H., Sayir, F., Duran, M., Meran, D., 2010.a Some Mineral, Trace Element and Heavy Metal Concentrations in Lung Cancer, *A. Pacific Journal of Cancer Prevention*, **11**:1383-1388.
- Çobanoğlu, U., Demir, H., Duran, M., Şahitoğulları, A, Meran, D., Demir, C., 2010.b Erythrocyte Catalase And Carbonic Anhydrase Activities In Lung Cancer, *A. Pacific Journal of Cancer Prevention*, **11**: 1377-1382.
- DeBoeck, M., KirschVolders, M., Lison, D., 2003. Cobalt and antimony: genotoxicity and carcinogenicity. *Mutat. Res.* **533**:135–152.
- Demir, C., Demir, Esen, R., Atmaca, M., Taşdemir, E., 2010. Erythrocyte catalase and carbonic anhydrase activities in acute leukemias, *A. Pacific Journal of Cancer Prevention*, **11**: 247-250.
- Diplock, A., 1998. Healty lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients. *ILSI Europe concise monograph series*, 1998. Belgium 59 p.,
- Ebara, M., Fukuda, H., Kojima, Y., Morimoto, N., Yoshikawa, M., Sugiura, N., Satoh, T., Kondo, F., Yukawa, M., Matsumoto, T., Saisho, H., 1999. Small hepatocellular carcinoma: relationship of signal intensity to histopathologic findings and metal content of the tumor and surrounding hepatic parenchyma. *Radiology*, **210**:81-88.

- Ebara, M., Fukuda, H., Hatano, R., Yoshikawa, M., Sugiura, N., Saisho, H., Kondo, F., Yukawa, M., 2003. Metal contents in the liver of patients with chronic liver disease caused by hepatitis C virus. Reference to hepatocellular carcinoma. ***Oncology*, 65:323-330.**
- Elliot, J.G., 1999. Application of antioxidant vitamins in foods and beverages. ***Food Tech.* 53 . 46-48.**
- El-Serag, H.B., Mason, A.C., 1999. Increasing Incidence Hepatocellular carcinoma in United States. ***N Engl J med*, 340-345.**
- El-Serag, H.B., Richardson, P.A., Everhart, J.E., 2001. The role of Diabetes in hepatocellular carcinoma: a case- control study among united states Veterans. ***Am J Gastroenterology*, 96: 2462-2467.**
- Englyst, V., Lundstroma, N.G., Gerhardsson, L., Rylander, L., Nordberg, G., 2001. Lung cancer risks among lead smelter workers also exposed to arsenic. ***The Science of the Total Environment* , 273: 77-82.**
- Eskandari, H.G., Acartürk, E., Yüreğir, G.T., Demir, M., Belge, E., 2001. Glutathione Concentration, Glutathione Peroxidase and Superoxide Dismutase Activity of Erythrocytes in the Early Onset of Acute Myocardial Infarction, ***Annals of Medicine Sciences*, 110-112**
- Feng, J.F., Lu, L., Zeng, P., Yang, Y.H., Luo, J., Yang, Y.W., Wang, D., 2012. Serum total oxidant/antioxidant status and trace element levels in breast cancer patients. ***Int J Clin Oncol*, 17:575–583.**
- Fidancı, U.R., <http://80.251.40.59/veterinary.ankara.edu.tr/fidanci/DersNotlari/BiyokimyaDersNotlari.html>. Erişim tarihi 25.11.2012
- Fischer, B., Muller, B., Fischer, K.G., Baur, N., Kreutz, W., 2000. Acidic pH inhibits non-MHC-restricted killer cell functions. ***Clin. Immunol.* 96: 252–263.**
- Floyd, R., 1990. Role of oxygen free radicals in carcinogenesis and brain ischemia. ***FASEB*, 4: 2587-2597.**
- Fridovich, I., 1978, The Biology of Oxygen Radicals. ***Science*, 201: 875-880.**
- Geçit İ, Kavak, S., Demir, H., Güneş, M., Pirinçci, N., Çetin, C., Ceylan, K., Benli, E., Yıldız, I., 2012. Serum Trace Element Levels in Patients with Bladder Cancer, ***Asian Pac J Cancer Prev.*, 12: 3409-3413.**

- Gissen, A.S., 1994. Copper: The Maligned Mineral,. **URL:**<http://www.oralchelation.com/technical/copper1.html>. erişim tarihi 11.11.2012.
- Goel, A., Dani, V., Dhawan, D.K., 2005. Protective effects of zinc on lipid peroxidation, antioxidant enzymes hepatic histoarchitecture in chlorpyrifos-induced toxicity. **Chem Biol Interact**, 156:131–140.
- Gruszecki, W.I., Strzalka, K., 2005. Carotenoids as modulators of lipid membrane physical properties. **Biochim Biophys Acta**, 30: 108-115.
- Gupta, S.K., Singh, S.P., Shukla, V.K., 2005. Copper, zinc, and Cu/Zn ratio in carcinoma of the gallbladder. **J Surg Oncol**, 91:204–208.
- Gurusamy, K., 2007. Trace Element Concentration in Primary Liver Cancers-A Systematic Review. **Biol Trace Elem Res**, 118:191–206.
- Gür, T., 2010. **Cerrahi Tedavi Yapılmış Kolon Kanserli Hastalarda Kemoterapi Öncesi ve Sonrası Tümör Belirleyicileri ve Bazı Biyokimyasal Parametrelerin İncelenmesi** (doktora tezi basılmamış), Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Van.
- Haddow, J.E., Palomaki, G.E., McClain, M., Craig, W., 2003. Hereditary haemochromatosis and hepatocellular carcinoma in males: a strategy for estimating the potential for primary prevention. **J Med Screen**, 10:11–13.
- Halliwell, B., 1991.a Drug antioxidant effects. **Drugs**; 42: 569-605.
- Halliwell, B., 1991b. Reactive oxygen species in living systems: Source, biochemistry and role in human disease. **Am J Med.**, 91: 14-21.
- Halliwell, B., 1996. Oxidative stress, nutrition and health. Experimental strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in humans. **Free Radic Res.**, 25: 57–74.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M., 1984. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and diseases. **Biochem J.**, 219:1–4.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M., 1990. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease. **Methods Enzymol.**, 186: 1-85.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M., 1999. **Free Radicals In Biology And Medicine**. Third Edition, Oxford University Press Inc., New York, 936s.

- Haratake, J., Horie, A., Takeda, S., Kobori, K., Sato, H., Tokudome, S., 1987. Tissue copper content in primary and metastatic liver cancers. *Acta Pathol Japonica*, **37**: 231–8.
- Hassan, I., Shajee, B., Waheed, A., Ahmad, F., Sly, W.S., 2012. Structure, function and applications of carbonic anhydrase isozymes. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* xxx -- xxx-xxx. journal homepage: www.elsevier.com/locate/bmc
- Hewett-Emmett, D., Tashian, R.E., 1996. Functional diversity, conservation, and convergence in the evolution of the [alpha]-, [beta]-, and [gamma]- carbonic anhydrase gene families, *Mol Phylogen and Evol*, **5**: 50-77.
- Huang, Y.L., Sheu, JY., Lin, T.H., 1999. Association Between Oxidative Stress and Changes of Trace Elements in Patients with Breast Cancer. *Clinical Biochemistry*, **32**: 131–136.
- IARC. *Inorganic and Organic Lead Compounds*. 2006. IARC Monograph. France: World Health Organization, **87**:10–17.
- Iqbal, M.P., 2012. Lead pollution a risk factor for cardiovascular disease in Asian developing countries. *Pak. J.Pharm.Sci.*, **25**:289–294.
- Jakubowski, M., 2011. Low-level environmental lead exposure and intellectual impairment in children-the current concepts of risk assessment. *Int. J. Occup. Med. Environ. Health*, **24**:1–7.
- Jomova, K., Valko, M., 2011. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology*, **283**:65–87.
- Joseph, P., 2009. Mechanisms of cadmium carcinogenesis. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **238**: 272–279.
- Kargın, F., Seyrek, K., Bildik, A., Aypak, S., 2004. Determination of levels of zinc, copper, calcium, phosphorus and magnesium of chios ewes in the Aydın region. *Turkish Journal of Veterinary Animal Sciences*, **28**: 609-612.
- Kazantzis, G., 1981. Role of cobalt, iron, lead, manganese, mercury, platinum, selenium and titanium in carcinogenesis. *Environ. Health Perspect*, **40**: 143-161.
- Kazantzis, G., Lam, T.H., Sullivan, K.R., 1988. Mortality of cadmium-exposed workers. *Scand J Work Environ Health*, **14**:220–223.
- Kendrick, M.J., May, M.T., Plishka, M.J., Robinson, K.D., 1992. Metals in biological systems. *Ellis Horwood*, New York and London, 1992. pp. 179.

- Kılınç, K., 1985. Oksijen Radikalleri: Üretilmeleri, Fonksiyonları ve Toksik etkileri, ***Biyokimya Der.***, 10: 60-89.
- Kim, J., Gherasim, C., Banerjee, R., 2008. Decyanation of vitamin B12 by a trafficking chaperone. ***Proc. Natl.Acad.Sci.USA***, **105**:14551–14554.
- Kim, WR., Gores, GJ., Benson, JT Et al. 2005. Mortality and hospitalutilization for hepatocellular carcinoma in the united States. ***Gastroenterology***, **129**: 486-493.
- Klassen, C.D., Amdur, M.O., Doull, J., 1986. Toxicology. 3th Ed. ***Macmillan Publishing Company***, Newyork, USA.
- Kohli, G.S., Bhargava, A., Goel, H., Yadav, S.P., Saini, A.S., Singh, G.P., Lal, H., 1989. Serum magnesium levels in patients with head and neck cancer. ***Magnesium***, **8**:77-86.
- Kumar, V., Cotran, R.S., Robbins, S.L., 1995. Neoplasia Ln: Robbins SI (ed), ***Basic Pathology***, WB Saunders–Philadelphia. 171-216.
- Kuo, W.H., Chiangb, W.L., Yang, S.F., Yeh, K.T., Yeh, C.M., Hsieh, Y.S., Chu, S.C., 2003. The differential expression of cytosolic carbonic anhydrase in human hepatocellular carcinoma. ***Life Sciences***, **73**: 2211–2223.
- Kurz, T., Eaton, J.W., Brunk, U.T., 2011. The role of lysosomes in iron metabolism and recycling. ***Int. J.Biochem.CellBiol***, **43**:1686–1697.
- Lee, H.H., Prasad, A.S., Brewer, G.J., Owyang, C., 1989. Zinc absorption in human small intestine. ***Am J Physiology***, 256: 87-91.
- Lee, J.C., Son, Y.O., Pratheeshkumar, P., Shi, X., 2012. Oxidative stress and metal carcinogenesis. ***Free Radical Biology and Medicine***, **53**: 742–757.
- Leonard, S., Gannett, P.M., Rojanasakul, Y., Schwegler-Berry, D., Castranova, V., Vallyathan, V., Shi, X., 1998. Cobalt-mediated generation of reactive oxygen species and its possible mechanism, ***Journal of Inorganic Biochemistry***, **70**: 239-244.
- Leppilampi, M., Koistinen, P., Savoleinen, E.R., Hannuksela, S., Parkkila, A.K., Niemela, O., Pastorekova, S., Pastorek, J., Waheed, A., Parkkila, W.S., Parkkila, S., Rajaniemi, H., 2000. The expression of carbonicanhydrase II in Hematological Malignancies, ***Clin. Cancer Res.***, **8** : 2240–2245.

- Liaw, K.Y., Lee, P.H., Wu, F.C., Tsai, J.S., Lin-Shiau, S.Y., 1997. Zinc, copper, and superoxide dismutase in hepatocellular carcinoma. *Am J Gastroenterol*, **92**:2260-2263.
- Lin, C.C., Yin, M.C., 2007. B vitamins deficiency and decreased anti-oxidative state in patients with liver cancer. *Eur J Nutr.*, **46**: 293–299.
- Linder, M.C., 1991. *Biochemistry of copper*. New York: Plenum Press.
- Lison, D., DeBoeck, M., Verougstraete, V., Kirsch-Volders, M., 2001. Update on the genotoxicity and carcinogenicity of cobalt compounds. *Occup. Environ.Med*, **58**:619–625.
- Llovet, J.M., 2006. Expanding HCC criteria for liver transplant: the urgent need for prospective, robust data. *Liver Transplant.*, **12**: 1741–1743.
- Lui, S.M.W., Krishnan, S.S., Harrison, J.E., Jervis, R.E, Fornasier,V., 1991. Effects of cadmium retention on bone. *J. Trace Elem. in Experimental Medicine*, **4**: 129-134.
- Maeda, T., Shimada, M., Harimoto, N., Tsujita, E., Maehara, S., Rikimaru, T., Tanaka, S., Shirabe, K., Maehara, Y., 2005. Role of tissue trace elements in liver cancers and non-cancerous liver parenchyma. *Hepatogastroenterology*, **52**:187-190.
- Manson, M.M., Gecher, A., Hudson, E.A., Plummer, S.M., Squires, M.S., Prigent S.A., 2000. Blocking and Supressing Mechanisms of Chemoprevention by Dietary Constituents. *Toxiology Letters*. **112**: 449-505.
- Manuel, Y., Keenoy, B., Moorkens, G., Vertommen, J., Noe, M., Neve, J., De Leeuw, I., 2000. Magnesium status and parameters of the oxidant balance in patients with chronic fatigue: Effect of supplementation with magnesium. *J. Am. Coll. Nutr.*,**19**:374-382.
- Maren, T.H., 1967. Carbonic anhydrase, Chemistry, physiology and inhibition. *Physiol, Rew.*, **47**: 595-781.
- Margalioth, E.J., Schenker, J.G., Chevion, M., 1983. Copper and zinc levels in normal and malignant tissues. *Cancer*, **52**:868–872.
- Mari, M., Morales, A., Colell, A., Garcia-Ruiz, C., Fernandez-Checa, J.C., 2009. Mitochondrial glutathione,a key survival antioxidant. *Antioxid. Redox Signal.*, **11**:2685–2700

- Mates, J.M., 2000. Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology*, **153**: 83-104.
- Mazzaferro, V., Regalia, E., Doci, R., Andreola, S., Pulvirenti, A., Bozzetti, F., Montalto, F., Ammatuna, M., Morabito, A., Gennari, L., 1996. Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis. *New Engl. J. Med.* **334**: 693–699.
- Mazzanti, R., Gramantieri, L., Bolondi, L., 2008. Hepatocellular carcinoma: Epidemiology and clinical aspects. *Molecular Aspects of Medicine*, **29**: 130–143.
- Milde, D., Novak, O., Stuzka, V., Vyslouzil, K., Machacek, J., 2001. Serum levels of selenium, manganese, copper, and iron in colorectal cancer patients. *Biol. Trace Element Res.*, **79**: 107-114.
- Miller, D.D., 1996. *Minerals. In "Food Chemistry"*. Fennema, OR., (Ed), Marcel Dekker, New York. pp: 617-649.
- Missner, A., Kugler, P., Saparov, S.M., Sommer, K., Mathai, J.C., Zeidel, M.L., Pohl, P., 2008. Carbon dioxide transport through membranes. *J. Biol. Chem*, **283**: 25340-7.
- Morgan, W.K.C., Seaton, A., 1975. Occupational Lung Diseases. Philadelphia: *Saunders*, 391.
- Nakazawa, H., Genka, C., Fujishima, M., 1996. Pathological aspects of active oxygens/free radicals. *Jpn J Physiol.*, **46**:15–32.
- Nath, R., Prasad, R., Palinal, V.K., Chopra, R.K., 1984. Molecular basis of cadmium toxicity. *Prog. FoodNutr.Sci.*, **8**:109–163.
- Nawar, W.W. 1996. *Lipids. In "Food Chemistry"*, O.R. Fennema (Ed), pp: 225-319. Marcel Dekker, New York.
- Navarro Silvera, S.A., Rohan, T.E., 2007. Trace elements and cancer risk: a review of the epidemiologic evidence. *Cancer Causes Control*, **18**:7–27.
- Niederau, C., Fischer, R., Sonnenberg, A., Stremmel, W., Trampisch, H.J., Strohmeyer, G., 1985. Survival and causes of death in cirrhotic and in noncirrhotic patients with primary hemochromatosis. *N Engl J Med*, **313**:1256-1262.
- Nogradi, A., 1998. The role of carbonic anhydrases in tumors. *Am. J. Pathol.*, **153**:1–4.

- Nordberg, J., Arner, E.S. 2001. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radic Biol Med.*, **31**:1287–1312.
- Onat, T., Emerk, K., 1995. *Temel biyokimya*. Saray Medikal Yayıncılık. İzmir.
- Ou, B., Huang, D., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J.A., Deemer, E.K., 2002. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: A comparative study. *J. Agric. Food Chem.* **50**: 3122-3128.
- Özensoy, Ö., Koçkar, F., Arslan, O., Isık, S., Supuran, C.T., Lyon, M., 2006. An evaluation of cytosolic erythrocyte carbonic anhydrase and catalase in carcinoma patients: An elevation of carbonic anhydrase activity. *Clinical Biochemistry*, **39**: 804–809.
- Özmen, H., Erulaş, F.A., Karataş, F., Çukurovalı, A., Yalçın, O., 2006. Comparison of the concentration of trace metals (Ni, Zn, Co, Cu and Se), Fe, vitamins A, C and E, and lipid peroxidation in patients with prostate cancer. *Clin Chem Lab Med*, **44**: 175–179.
- Pankaja, N., 2012. *Essentials of Biochemistry*. Free radical and antioxidants. Chapter 27. Pages: 471 ISBN 9789350254912.
- Papanikolaou, G., Pantopoulos, K., 2005. Iron metabolism and toxicity. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **202**:199–211.
- Park, S.K., Joo, J.S., Kim, D.H., Kim, Y.E., Kang, D., Yoo, K., 2000. Association of serum lipids and glucose with the risk of colorectal adenomatous polyp in men: a case- control study in Korea *J. Korean Med. Sci.*, **15**: 690-695.
- Parkkila, S., Parkkila, A.K., Juvonen, T., Lehto, V.P., Rajaniemi, H., 1995. Immunohistochemical demonstration of the carbonic anhydrase isoenzymes I and II in pancreatic tumors, *Histochem. J.*, **27**:133–138.
- Parkkila, S., Parkkila, A.K., Rajaniemi, H., Shah, G.N., Grubb, J.H., Waheed, A., Sly, W.S., 2001. Expression of membrane-associated carbonic anhydrase XIV on neurons and axons in mouse and human brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **98**: 1918-23.
- Pasha, Q., Malik, S.A., Shah, M.H., 2008. Statistical analysis of trace metals in the plasma of cancer patients versus controls. *Journal of Hazardous Materials*, **153**: 1215–1221.

- Pasha, Q, Malik, S.A., Shaheen, N., Shah, M.H., 2010. Investigation of trace metals in the blood plasma and scalp hair of gastrointestinal cancer patients in comparison with controls. *Clinica Chimica Acta*, **411**: 531–539.
- Pastor, N., Weinstein, H., Jamison, E., Brenowitz, M., 2000. A detailed interpretation of OH radical footprints in a TBP DNA complex reveals the role of dynamics in the mechanism of sequencespecific binding. *J. Mol. Biol.*, **304**: 55–68.
- Pastorek, J., Pasterokova, S., Callebaut, I., Mornon, J.P., Stanbridge, E.J., Zelnik, V., Opavsky, R., Zatovicova, M., Potetelle, D., 1994. Cloning and characterization of MN, a human tumor-associated protein with a domain homologous to carbonic anhydrase and putative helix-loop-helix DNA binding segmen, *Oncogene*, **9**: 2788-2888.
- Pena, M.M.O., Lee, J., Thiele, D.J., 1999. A delicate balance: homeostatic control of copper uptake and distribution. *J Nutr*, **129**:1251–60.
- Platz, E.A., Helzlsouer, K.J., Hoffman, S.C., Morris, J.S., Basket, C.K., Comstock, G.W., 2002. Prediagnostic toenail cadmium and zinc and subsequent prostate cancer risk. *Prostate*, **52**:288–296.
- Poli, G., Leonarduzzi, G., Biasi, F., Chiarpotto, E., 2004. Oxidative stress and cell signalling, *Curr. Med. Chem.*, **11**: 1163–1182.
- Poo, J.L., Romero, R.R., Robles, J.A., 1997. Diagnostic value of the copper/zinc ratio in digestive cancer: A case control study. *Arch Med Res*, **28**: 259-63.
- Prasad, A.S., 1998. Zinc in human health: An update. *Trace Elements Exp. Med.*, **11**: 63-78.
- Prasad, A.S., Beck, F.W., Snell, D.C., Kucuk, O., 2009. Zinc in cancer prevention. *Nutr. Cancer*, **61**:879–887.
- Prousek, J., 2007. Fenton chemistry in biology and medicine. *Pure Appl.Chem.* **79**: 2325–2338.
- Pryor, W.A., Church, D.F., 1991. Aldehydes, hydrogen peroxide, and organic radicals as mediators of ozone toxicity. *Free Radic Biol Med.*, **11**:41-6.
- Raju, K.S., Alessandri, G., Ziche, M., Gullino, P.M., 1982. Ceruloplasmin, copper ions, and angiogenesis. *J Natl Cancer Inst*; **69**:1183–8.

- Register, AM., Koster, MK., Moltmann, EA., 1978. Discovery of carbonic anhydrase in rabbit skeletal muscle and evidence for its identity with basic muscle protein. ***The Journal of Biological Chemistry*, 243:** 4143-4152.
- Reusser, M.E., Mc Carron, D.A., 1994. Micronutrient effects on blood pressure regulation. ***Nutrient Review*, 52:** 367-375.
- Roguljic, A., Roth, A., Kolaric, K., Maricic, Z., 1980. Iron, copper, and zinc liver tissue levels in patients with malignant lymphomas. ***Cance*, 46:**565–9.
- Sadat, N., Hossain, I., Hossain, K., Reza, S., Nahar, Z., Islam, N., Hasnat, A., 2008. Serum Trace Elements and Immunoglobulin Profile in Lung Cancer Patients. • ***The Journal of Applied Research*, 8:** 24-33.
- Sakula, A., 1983. Ramazzini's de morbis artificum and occupational lung disease. ***Br J Dis Chest*; 77:** 349-61.
- Satar, N., Scott, H.R., McMillan, D.C., Talwar, D., O'Reilly, D.S., Fell, G.S., 1997. Acute-phase reactants and plasma trace element concentrations in non-small cell lung cancer patients and controls. ***Nutr Cancer*; 28:**308-312.
- Seth, R., Yang, S., Choi, S., Sabeen, M., Roberts, E.A., 2004. In vitro assessment of copper-induced toxicity in the human hepatoma line, Hep G2. ***Toxicol In Vitro*, 18:**501-509.
- Seven, A., Candan, G., 1995. Serbest radikaller ve Lipid Peroksidasyonu, ***Klinik Gelişim*, 8:** 3906-3911.
- Shimada, H., Shiao, Y.H., Shibata, M., Waalkes, M.P., 1998. Cadmium suppresses apoptosis induced by chromium. ***J Toxicol Environ Health*, 54:**159–168.
- Shuichi, A., Kazuo, T., Susumu, O.,. 1991. Metal concentrations in lung tissue subjects suffering from lung cancer. ***Int Archives Occupational Environmental Health*; 63:** 193-197.
- Simonsen, L.O., Harbak, H., Bennekou, P., 2012. Cobalt metabolism and toxicology-A brief update. ***Science of the Total Environment*, 432:** 210–215.
- Slater, T.F., 1984. Free-Radical Mechanisms in Tissue Injury. ***Biochem. J.* 222:** 1–15.
- Solmaz, F., Aktaş, D., Kızılay, A., Çokkeser, Y., Öncel, S., Özturan, O., 2001. Baş-boyun epidermoid kanserinde dokudaki katalaz ve süperoksit dismutaz aktiviteleri ve malondialdehit düzeyleri. ***KBB İhtisas Dergisi*; 8:**397- 401.

- Sorahan, T., Watherhouse, J.A.H., 1983. Mortality study of nickel–cadmium battery workers by the method of regression models in life tables. *Br J Ind Med*, **40**:293–300.
- Southard, E.B., Roff, A., Fortugno, T., Richie, J.P., Kaag, M., Chinchilli, V.M., Virtamo, J., Albanes, D., Weinstein, S., Wilson, R.T., 2012. Lead, calcium uptake, and related genetic variants in association with renal cell carcinoma risk in a cohort of male Finnish smokers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*, **21**: 191–201.
- Sözmen, E.Y., 2002. *Yaşlanma biyokimyası*. Onat, T., Emerk, K., Sözmen, ET., (editörler). İnsan Biyokimyası. 1.Baskı, Ankara. 667–672.
- Steinberg, D., 2000. Is there a potential therapeutic role for vitamin E or other antioxidants in atherosclerosis? *Curr Opin Lipitol.*, **11**: 603–607.
- Stocker, R., 2004. Antioxidant Activities of Bile Pigments. *Antioxidants & redox signaling.*, **6**: 5.
- Stubbs, M., McSheehy, P.M.J., Griffiths, J.R., Bashford, C.L., 2000. Causes and consequences of tumour acidity and implications for treatment. *Mol. Med. Today* **6**: 15–19
- Sun Wong., V.W, Yuen Chan, H.L., 2012. Prevention of hepatocellular carcinoma: a concise review of contemporary issues. *Annals of Hepatology*, **11**: 284–293.
- Supuran, C.T., Scozzafava, A., Conway, J., 2004. Carbonic Anhydrase-Its Inhibitors and Activators, *Boca Raton (FL)*, 351–363.
- Surh, Y.J., 1999. Molecular Mechanisms of Chemopreventive Effects of Selected Dietary and Medicinal Phenolic Substances. *Mutation Res.*, **428**: 305–327.
- Suski, J.M., Lebiezinska, M., Bonora, M., Pinton, P., Duszynski, J., Wieckowski, M.R., 2012. Relation between mitochondrial membrane potential and ROS formation. *Methods Mol.Biol.*, **810**:183–205.
- Taysi, S., Polat, F., Gul, M., Sari, RA., Bakan, E., 2002. Lipid peroxidation, some extracellular antioxidants, and antioxidant enzymes in serum of patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology International.*, **21**: 200–204.
- Uysal, M., 1998. Serbest radikaller, lipit peroksidleri organizmada prooksidan-antioksidan dengeyi etkileyen koşullar. *Klinik gelişim*, **11**: 336–341.

- Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C.J., Telser, J., 2004. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence, *Mol. Cell. Biochem.*, **266**: 37–56
- Valko, M., Rhodes, C.J., Moncola, J., Izakovic, M., Mazur, M., 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, **160**: 1–40.
- Varolgüneş, H., İnan, A., Kaptanoğlu, E., Demirci, S., 1997. Primer ve metastatik karaciğer tümörlerinde tedavi yöntemleri. *Ankara üniversitesi tıp fakültesi mecmuası*, **4**: 209-230.
- Vasehus, P.M., Andersen, L.I., 1987. Changes in serum zinc and serum albumin after operation for bronchogenic carcinoma. *Scand J Thor Cardiovasc Surg*; **21**: 53-5.
- Venta, P.J., 1991. Carbonic anhydrases in mammalian cell culture and tumors, in: S.J. Dodgson, R.E. Tashian, G. Gross, N.D. Carter (Eds.), The Carbonic Anhydrases: Cellular Physiology and Molecular Genetics, *Plenum Press, New York*, 71–78.
- Vincent, A.M., Russell, J.W., Low, P., Feldman, E.L., 2004. Oxidative Stress in the Pathogenesis of Diabetic Neuropathy. *Endocrine Reviews*, **25**: 612–628.
- Waalkes, M.P., 2000. Cadmium carcinogenesis in review. *J Inorg Chem*, **79**:241-244.
- Wada, O., 2004. What are Trace Elements? Their deficiency and excess states. *Japon Medical Association Journal.*, **47**:351-358.
- Waisberg, M., Joseph, P., Hale, B., Beyersmann, D., 2003. Molecular and cellular mechanisms of cadmium carcinogenesis, *Toxicology*, **192** : 95–117.
- Wang, X., Quinn, P.J., 1999. Vitamin E and its function in membranes. *Prog Lipit Res.*, **38**: 309-336.
- West, D.W., Slattery, M.L., Robison, L.M., French, T.K., Mahoney, A.W., 1991. Adult dietary intake and prostate cancer risk in Utah: a case–control study with special emphasis on aggressive tumors. *Cancer Causes Control*, **2**:85–94.
- Wu, C.W., Wei, Y.Y., Chi, C.W., Lui, W.Y., P'eng, F.K., Chung, C.,1996. Tissue potassium, selenium and iron levels associated with gastric cancer progression. *Dig Dis and Sci.*, **41**:119-125.
- Wurmbach, E., Chen, Y.B., Khitrov, G., Zhang, W., Roayaie, S., Schwartz, M., Fiel, I., Thung, S., Mazzaferro, V., Bruix, J., Bottinger, E., Friedman, S., Waxman, S., Llovet, J.M., 2007. Genome-wide molecular profiles of HCV-induced dysplasia and hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, **45**: 938–947.

- WHO, 1996. World Health Organization. *Trace elements in human nutrition and health*. Geneva.
- Yoshida, D., Ikeda, Y., Nakazawa, S., 1993. Quantitative analysis of copper, zinc and copper/zinc ratio in selected human brain tumors. *J Neurooncol*, **16**:109–115.
- Young, I.S., Woodside, J.V., 2001. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol* **54**:176-186.
- Zheng, H., Liu, J., Choo, K.H., Michalska, A.E., Klaassen, C.D., 1996. Metallothionein-I and II knock out mice are sensitive to cadmium-induced liver mRNA expression *Toxicol Appl Pharmacol.*, **136**:229–235.
- <http://tr.wikipedia.org/wiki/Kanser>. Erişim tarihi 1.12.2012.
- <http://www.rshm.saglik.gov.tr/hki/pdf/hava.pdf>. Erişim tarihi: 11.11.2012
- <http://www.traceminerals.com/inorganic.html> Erişim tarihi: 10.11.2012
- (<http://www.stayhealthy100.com/freeradicals.html>) Erişim tarihi: 10.11.2012

ÖZGEÇMİŞ

1974 yılında Gaziantep’de doğdu. İlköğretim ve lise eğitimini Altınüzüm Atatürk Lise’sinde tamamladı. 1993 yılında Cumhuriyet Üniversitesi Hemşirelik Yüksekokulu’nu kazandı. 1997 yılında bu okuldan mezun oldu. 1998 yılında ise Muş Sosyal Sigortalar Kurumu dispanserinde göreve başladı. 1999 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Muş Sağlık Yüksekokulu’na öğretim görevlisi olarak atandı. 2004 yılında Van Sağlık Yüksekokuluna naklen atandı. 2005–2007 öğretim döneminde Yüzüncü Yıl Üniversitesi Temel Tıp Bilimleri Fizyoloji Ana Bilim Dalı’nda yüksek lisans yaptı. 2008-2009 eğitim öğretim döneminde Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya (Biyokimya) Anabilim Dalı’nda doktora öğrenimine başladı. Halen Yüzüncü Yıl Üniversitesi Van Sağlık Yüksekokulunda öğretim görevlisi olarak görevine devam etmektedir.