

ÇEŞİTLİ KANSERLERDE
“GLUTATYON SİSTEMİ”NİN ARAŞTIRILMASI

KEMAL GÖKÇE

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
2013

ÇEŞİTLİ KANSERLERDE “GLUTATYON SİSTEMİ”NİN
ARAŞTIRILMASI

KEMAL GÖKÇE

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

2013

T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇEŞİTLİ KANSERLERDE “GLUTATYON SİSTEMİ” NİN
ARAŞTIRILMASI

KEMAL GÖKÇE

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Dr. ŞEKER DAĞ

SİVAS
2013

Bu alışma Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Biyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan Prof. Dr. Mehmet Ali AKPINAR

Üye Prof. Dr. şenay ÇETİNUS

Üye (Danışman) Yrd. Doç. Dr. şeker DAĞ

ONAY

Bu tez çalışması 12/04/2013 tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mustafa DEĞİRMENCİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 24.09.2008 tarihli ve 9 sayılı toplantısında kabul edilen ve Fen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisans Üstü Tez Yazım Klavuzu adlı yönergeye göre hazırlanmıştır.

ÖZET
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ÇEŞİTLİ KANSERLERDE “GLUTATYON SİSTEMİ”NİN ARAŞTIRILMASI

Kemal GÖKÇE

Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Şeker DAĞ

2013; xv + 73 sayfa

Antioksidan savunmada önemli rolü olan “glutasyon sistemi”nin yetersizliği organizmadaki antioksidan/oksidan dengesini oksidan tarafa kaydıracaktır. Dolayısıyla oluşan serbest radikaller canlıya zarar vererek çeşitli hastalıklara neden olabilecektir. Kanser de bu hastalıklardan birisidir.

Çalışmamızda kolon, mide ve kan kanseri teşhisi konmuş; 18–75 yaş aralığındaki bireylerden kan örnekleri alınarak okside ve redükte glutasyon miktarları ve glutasyon bağımlı enzim aktiviteleri çalışıldı. Hasta ve kontrol grubu bireylerinden alınan 3ml’lik kan örneklerinden zaman kaybedilmeden eritrosit izolasyonu yapıldı ve elde edilen eritrosit hemolizatları bütün analizlerde kullanılmak üzere 1,5 ml’lik eppendorf tüplere bölünerek -20°C’de saklandı.

Hemoglobin miktarları, methemoglobinin siyanür varlığında siyanomethemoglobine dönüşümünün 540 nm’de izlenerek, çizilen standart grafikten belirlendi. Glutasyon S-transferaz aktivitesi, CDNB kullanılarak dakikada oluşan S-2,4 dinitrofenilglutasyonun 1 µmol’ünü katalizleyen enzim miktarının ölçülmesiyle belirlendi. Glutasyon peroksidaz ve glutasyon redüktaz aktiviteleri NADPH’in oksidasyonunun 340 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak izlenmesiyle belirlendi. G6PD enziminin aktivitesi NADP⁺’nin indirgenerek NADPH oluşturması sırasında meydana gelen reaksiyon 340 nm dalga boyunda izlenmesiyle belirlendi. Ayrıca okside ve redükte glutasyon miktarları da

meydana gelen sarı renkli 2-nitro-5-tiyobenzoik asit oluşumunun 412 nm dalga boyunda izlenerek, çizilen standart grafikten belirlendi.

Kanser hastalarının çalıştığımız parametrelerinde sağlıklı bireylere göre önemli değişiklikler olduğu saptandı. Kanser hastalarında GST, GR ve GSSG değerleri kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak önemli derecede artış gösterirken, GPx, G6PD, GSH ve GSSG artışına bağlı olarak GSH/GSSG oranı istatistiksel olarak önemli derecede azalış göstermektedir.

Okside ve redükte glutatyon miktarları ve glutatyon bağımlı enzimlerin aktivitelerindeki bu değişiklikler kanser hastalarının önemli derecede oksidatif strese maruz kaldığını bizlere göstermektedir. Glutatyon sistemindeki bu değişikliklerin kanser oluşumunda tetikleyici mi yoksa kanserin sonuç mu olduğunu tesbit etmek için bu verilerin, genetik çalışmalar ve daha çok sayıda kanserli bireylerle çalışma yapılarak desteklenmesi daha doğru olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Kanser, serbest radikaller, oksidatif stres, glutatyon sistemi

SUMMARY
MASTER OF SCIENCE THESIS

VARIOUS CANCERS “ GLUTATHIONE SYSTEM” INVESTIGATION

Kemal GÖKÇE

Cumhuriyet University, Graduate School of Natural Sciences

Department of Biology

Supervisor: Yrd. Doç. Dr. Şeker DAĞ

2013, xv + 73 pages

Inefficiency of glutathione system that has an important role to defend antioxidant would slide antioxidant/oxidant balance which is in organism to the side of oxidant. Therefore free radicales that has constructed would cause various illnesses giving harm to organism. Cancer is one of these illnesses.

In our study; colon; stomach canser and leukemia has been diagnosed; taking blood examples from individuals whose ages are among 18-75, oxidized and reduced glutathione amounts and enzyme activities that addicted to glutathione has been studied. Erythrocyte isolation has been made without any loss of time from 3 ml blood exapmles that were taken from patient and control group’s individuals and erythrocyte hemolizats that were obtained, were kept at -20°C , dividing to eppendorf tubes for each 1,5 ml for using in the whole analyses.

Haemoglobin amounts has been specified from diagram which was drawn watching transformation to siyanomethemoglobine in 540 nm in existence methemoglobin cyanure. Glutathione S-transferase activity has been specified measuring enzyme amount that has catalysed 1 μmol of S-2,4 dinitrofenilglutathione which has formed in minute using CDNB. Glutathione peroxidase and glutathione reduced activities has been designated watching oxidation of NADPH in 340 nm wavelength as spectrophotometric. G6PD enzyme activity has been designated watching the reaction that has occured in 340 nm wavelength during the constitution NADPH reducing the NADP. Also oxide and reduced amounts has been designated from drawn diagram

watching formation of yellow colour 2-nitro-5-tiyobenzoic acid that has occurred in 412 nm wavelength.

In cancer patient's parameters that we has studied, has been stated significant changes according to healthy individuals. While GST, GR, GSSG values in cancer patients show increase significantly as statistically according to their control groups; depending on the increase of GPx, G6PD, GSH and GSSG, the rate of GSH/GSSG show decrease significantly as statistically.

These changes in activities of enzymes that are addicted to glutathione and oxidized and reduced glutathione amounts shows us that cancer patients are exposed substantially to oxidative stres. It has been truer to be supported these datas doing more genetic studies and studies with more number cancer patients to establish whether these changes in glutathione system are precipitating for formation of cancer or cancer is a result.

Key words: Cancer, Free Radicals, Oxydative Stress, Glutathione System

TEŞEKKÜR

Lisans ve yüksek lisans öğrenimim boyunca bilgi ve deneyimleriyle bana yol gösteren, tez konumun belirlenmesi ve yürütülmesi dahil olmak üzere hayatımın bütün alanlarında bana yol gösterici olan çok değerli danışman hocam **Yrd. Doç. Dr. Şeker DAĞ**'a çok teşekkür ederim.

Kan örneklerinin toplanmasında ve anket bilgilerinin düzgün bir şekilde kaydedilmesinde ellerinden gelen desteği gösteren Onkoloji Bölümü'nden **Dr. Turgut Kaçan** ve Hematoloji Bölümü'nden **Dr. Serdal Korkmaz**'a içten teşekkürlerimi sunarım.

Bu proje kapsamında gerekli olan çalışma ortamını sağlayan ve gerektiğinde yardımlarını esirgemeyip işlerimi kolaylaştıran, başta **Prof. Dr. Mehmet Ali AKPINAR**, **Yrd. Doç. Dr. Musa SARI** ve **Dr. Salih GÖRGÜN** olmak üzere, Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü'ndeki hocalarıma sonsuz teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışma sonuçlarının istatistiksel anlamda değerlendirilmesinde elinden gelen bütün yardımı gösteren Tıp Fakültesi, Biyoistatistik Bölümü Öğretim Elemanı **Yrd. Doç. Dr. Ziyet ÇINAR**'a teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmanın gerçekleşmesi için maddi kaynak sağlayan Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyon Başkanlığı'na (**CÜBAP, F330 nolu proje**) ve yardımlarından dolayı **Fen Bilimleri Enstitüsü çalışanlarına** teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemde sonsuz destek ve sevgilerini hissettiğim, hayatım boyunca maddi ve manevi anlamda bana her türlü destek veren, her zaman arkamda olduklarını bildiğim çok değerli **aileme** ve ihtiyaç duyduğum her anda olduğu gibi, yüksek lisansım boyunca sonsuz desteklerini gördüğüm, her sıkıntının üstesinden gelmem için bana güç veren değerli hayat arkadaşım **Neslihan YARIM**'a sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

KEMAL GÖKÇE

İTHAF

Çok kıymetli aileme, hayat arkadaşım Neslihan YARIM'a

Dürüst, yardımsever, özverili ve kıymet bilen tüm insanlara...

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
SUMMARY.....	iii
TEŞEKKÜR	v
İTHAF	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
TABLolar DİZİNİ	xi
SİMGELER – KISALTMALAR DİZİNİ.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Kanser ve Gelişimi	1
1.1.1. Kolorektal Kanser	2
1.1.1.1. Risk Faktörleri	2
1.1.1.2. Korunma.....	3
1.1.1.3. Evreleme.....	3
1.1.1.4. Tedavi.....	4
1.1.2. Mide Kanseri	4
1.1.2.1. Risk Faktörleri	5
1.1.2.2. Korunma.....	6
1.1.2.3. Evreleme.....	6
1.1.2.4. Tedavi.....	7
1.1.3. Lösemiler	7
1.1.3.1. Risk Faktörleri	8
1.1.3.2. Sınıflandırma.....	8
1.1.3.2.1. Akut Lösemiler	8
1.1.3.2.2. Kronik Lösemiler	9
1.1.3.3. Tedavi.....	9
1.2. Serbest Radikaller.....	10
1.2.1. Serbest Radikallerin Tarihsel Süreci.....	10
1.2.2. Serbest Radikaller Hakkında Genel Bilgi	10
1.2.2.1. Serbest Oksijen Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri	12
1.2.2.2. Radikaller	12
1.2.2.2.1. Süper Oksit Anyon Radikali (O_2^-).....	12

1.2.2.2.2. Hidroksil Radikali (OH ⁻)	13
1.2.2.3. Non-Radikaller	14
1.2.2.3.1. Singlet Oksijen (¹ O ₂).....	14
1.2.2.3.2. Hipokloröz Asit (HOCl).....	15
1.2.2.3.3. Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂)	15
1.2.3. Serbest Radikallerin Kaynakları	16
1.2.4. Serbest Radikallerin Hücresel Yapılara Etkisi.....	17
1.2.4.1. Proteinlere Etkisi.....	17
1.2.4.2. Nükleik Asitler ve DNA	17
1.2.4.3. Membran Lipidlerine Etkisi.....	18
1.2.4.3.1. Lipit Peroksidasyonu.....	19
1.2.4.3.2. Lipit Peroksidasyonunun Mekanizması.....	20
1.2.4.4. Karbonhidratlara Etkisi	21
1.2.5. Serbest Radikaller ve Kanser	22
1.2.6. Antioksidan Savunma Sistemleri.....	23
1.2.6.1. Okside ve Redükte Glutasyon (GSH ve GSSG)	23
1.2.6.1.1. Glutasyon Sentezi ve γ - Glutamil Siklusu.....	25
1.2.6.1.2. Glutasyon'un Fonksiyonları	26
1.2.6.1.3. Azalmış Glutasyonun Muhtemel Sebepleri.....	27
1.2.6.2. Glutasyon S- Transferaz	28
1.2.6.3. Glutasyon Peroksidaz.....	29
1.2.6.4. Glutasyon Redüktaz.....	30
1.2.6.5. Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz.....	30
2. MATERYAL VE METOD	32
2.1. Çalışmada Kullanılan Kimyasal ve Sarf Malzemeleri.....	32
2.2. Çalışmada Kullanılan Cihazlar	33
2.3. Kan Örneklerinin Alınması.....	33
2.4. Hemoglobin Miktarı Tayini.....	34
2.5. Glutasyon S-Transferaz Aktivitesi.....	35
2.6. Glutasyon Peroksidaz Aktivitesi.....	36
2.7. Glutasyon Redüktaz Aktivitesi.....	38
2.8. Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz Aktivitesi	39
2.9. Redükte Glutasyon Miktarı	40

2.10. Okside Glutasyon Miktarı	41
3. BULGULAR	43
4. TARTIŞMA VE SONUÇ	56
5. KAYNAKLAR	62
6. EKLER	71
EK-1: Cumhuriyet Üniversitesi Etik Kurul Raporu.....	71
EK-2. Kan Donörü Anket Bilgisi.....	72
7. ÖZGEÇMİŞ	73

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Oksijenin elektron dağılımı ve orbital içerisindeki elektron spinleri.....	15
Şekil 1.2. Serbest radikal aracılı oksidatif DNA hasarı.....	18
Şekil 1.3. Lipit peroksidasyonunun kimyasal yolu.....	19
Şekil 1.4. Biyomembranlarda serbest radikallerin uyardığı lipit peroksidasyonu.....	20
Şekil 1.5. Reaktif oksijen türlerinin oluşumu ve oluşan hasara karşı savunma mekanizmaları.....	23
Şekil 1.6. Okside ve redükte glutatyon tripeptidinin yapısı.....	24
Şekil 1.7. Glutatyon sentezi.....	25
Şekil 1.8. Glutatyon ve glutatyon bağımlı enzimler.....	27
Şekil 2.1. Hemoglobin standart eğrisi.....	35
Şekil 2.2. GSH'nin standart eğrisi.....	41
Şekil 3.1. Hasta ve kontrol gruplarına ait GST değerleri.....	44
Şekil 3.2. Hasta ve kontrol gruplarına ait GPx değerleri.....	45
Şekil 3.3. Hasta ve kontrol gruplarına ait GR değerleri.....	45
Şekil 3.4. Hasta ve kontrol gruplarına ait G6PD değerleri.....	46
Şekil 3.5. Hasta ve kontrol gruplarına ait GSH değerleri.....	47
Şekil 3.6. Hasta ve kontrol gruplarına ait GSSG değerleri.....	47
Şekil 3.7. Hasta ve kontrol gruplarına ait GSH/GSSG değerleri.....	48

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Reaktif oksijen türleri.....	12
Tablo 2. Serbest radikallerin hücredeki başlıca zararlı etkileri.....	22
Tablo 3. Ölçülen parametrelere göre grupların karşılaştırılması.....	50
Tablo 4. Cinsiyete göre kontrol ve hasta gruplarının değerlendirilmesi.....	51
Tablo 5. Sigara içme durumlarına göre kontrol ve hasta gruplarının değerlendirilmesi.....	52
Tablo 6. Kontrol grubunda sigara kullanan ve kullanmayan bireylerle, hasta gruplarındaki sigara kullanan ve kullanmayan bireylerin karşılaştırılması.....	53
Tablo 7. Hastalığın evresine göre hasta gruplarının değerlendirilmesi.....	54
Tablo 8. Tedavi şekillerine göre hasta gruplarının değerlendirilme.....	55

SİMGELER – KISALTMALAR DİZİNİ

% : Yüzde

µl : Mikrolitre

¹O₂ : Singlet oksijen

6PG : 6-fosfo glukonat

ADP : Adenozin monofosfat

ALL : Akut Lenfoid Lösemi

AML : Akut Myeloid Lösemi

APC : Adenomatosis poliposis coli

ATP : Adenozin trifosfat

CAT : Katalaz

CDNB : 1-kloro-2,4-dinitrobenzen

Cu : Bakır

dak : Dakika

dl : Desilitre

DNA : Deoksiribonükleik asit

DTNB : 5',5'-dithiyo –bis (2-nitrobenzoik asit)

FAD : Flavin adenin dinükleotit

FAP : Familyal adenomatöz poliposis

Fe : Demir

G6P : Glukoz-6 fosfat

G6PD : Glukoz-6 fosfat dehidrogenaz

GPx : Glutasyon peroksidaz

GR : Glutasyon redüktaz

GSH : Redükte glutasyon

GSSG : Okside glutasyon

GST : Glutasyon S-transferaz

H₂O : Su

H₂O₂ : Hidrojen peroksit

Hb : Hemoglobin

HCl : Hidroklorik asit

HIV : Human Immunodeficiency Virus (İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü)

HNPCC : Herediter nonpolipozis kolon kanseri

HOCl : Hipokloröz asit

HP : *Helicobakter pylori*

HQ : Semikinon radikali

K₃-EDTA : Potasyum-etilen diamin tetra asetikasit

KLL : Kronik Lenfoid Lösemi

KML : Kronik Myeloid Lösemi

L : Litre

L. : Karbon merkezli radikal

LOO· : Peroksi radikali

LOOH : Lipit hidroperoksit

M : Molar

mg : Miligram

mM : Milimolar

NaCl : Sodyum klorür

NAD(P)⁺ : Okside nikotin amid adenin dinükleotid (fosfat)

NAD(P)H+H⁺ : Redükte nikotin amid adenin dinükleotid (fosfat) hidrojen

NaN₃ : Sodyum azide

nm : Nanometre

nmol : Nanomol

NO₂ : Azotdioksit

O₂^{·-} : Süperoksit anyon radikali

O₃ : Ozon

OD : Optik dansite

OH[·] : Hidroksil radikali

PSSG : Protein disülfid

R[·] : Organik radikaller

RCHO : Aldehit

RCOOH : Karboksilik asit

R-NH-X : N-Halojenli aminler

RNS : Reaktif nitrojen türleri

RO[·] : Alkoksil radikali

ROH : Hidroksil

ROO[·] : Peroksit radikali

ROOH : Hidroperoksit

ROS₂[·] : Tiyl peroksit radikali

ROT : Reaktif oksijen türleri

SD : Standart sapma

Se : Selenyum

U : Ünite

\bar{X} : Ortalama

γ -GCS : γ -glutamilsistein sentetaz

γ -GT : γ -glutamil transpeptidaz

ϵ : Molar absorpsiyon katsayısı

1. GİRİŞ

1.1. Kanser ve Gelişimi

Günümüzün önde gelen hastalıklarından biri olan kanser ülkemizde 1970'li yıllarda ölüm nedenleri arasında 4. sırada yer alırken son 10 yılda ilk sıraya yerleşmeye başlamıştır (Saygılı, 1997).

Kanser oluşumu, somatik hücrelerin büyüme ve farklılaşmasını düzenleyen karmaşık mekanizmaların kontrolünden kurtularak hızlı ve sürekli bir şekilde çoğalması olarak tanımlanmaktadır. Kanseri gelişiminde 3 evre bulunmaktadır. Bunlar;

- 1- Normal hücrenin neoplastik hücreye dönüştüğü başlama evresi.
- 2- Neoplastik hücrenin çoğaldığı gelişme evresi.
- 3- Malign özelliğin kazanıldığı gelişme evresi (Giray ve ark., 1996).

- 1. Başlangıç:** Bu dönem neoplazi oluşum basamağını ifade eder. Normal bir hücrenin büyüme, gelişme ve çoğalma mekanizmalarından bağımsız bir şekilde fonksiyonlarında değişikliklerin ortaya çıktığı dönemdir. Bu dönemde mikroskopik olarak herhangi bir bulgu saptanamaz.
- 2. Gelişme:** Belli bir süre sonra hücre fonksiyonlarında, özellikle gen ifadesinde daha ileri anormalliklerin görüldüğü dönemdir. Bu işleme yol açan bileşikler prokürsör (öncül) olarak adlandırılır.
- 3. İlerleme:** Bu dönemde neoplazma mikroskopik ve makroskopik olarak saptanabilir bir tümör haline gelir ve ortamdan uzaklaştırılmadıkça vücudun diğer kısımlarına yayılarak gelişme gösterir. Bu olay metastaz olarak adlandırılır (Bomfard ve ark., 1983).

Son 20 yılda elde edilen çok sayıda veri kanserin ana nedenlerinin yaşam tarzı ile ilgili olduğunu göstermektedir. Epidemiyolojik çalışmalar dünyanın farklı yerlerinde farklı kanser tiplerinin görülme sıklığının farklı olduğunu ortaya koymuştur. Örneğin meme ve kolon kanserinin nadir görüldüğü Japonya'da, mide kanseri sık görülür. ABD'de ise bunun aksi bir durum söz konusudur. Diğer yandan ABD'ye göç eden Japonlarda 1-2 nesil içinde bu kalıbın değiştiği ve bunun ana nedeninin diyetel alışkanlık ve yaşam tarzındaki değişiklikler olduğu bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda kanser tipine ilişkin mortalite hızlarının çeşitli değişkenlerle ilişkisi incelenmiş çeşitli

kanser tipleri ile diyetel değişkenler arasında özellikle de kırmızı et tüketimi ile kolon kanserleri, yağ tüketimi ile meme ve uterus kanserleri (Giray ve ark., 1996), tuzlu ve tütülenmiş yiyeceklerin yenmesi ile mide kanseri arasında kuvvetli bir kolerasyon olduğu gözlenmiştir.

(<http://thsk.gov.tr/tr/index.php/kanser-tipleri/329-midekanseri?showall>)

1.1.1. Kolorektal Kanser

Kolon ve rektum, sindirim sisteminin kalın barsak bölümünü oluşturur. Son 20 cm'lik kısmı rektum, buradan ince barsaklara kadar olan kısmı ise kolon olarak adlandırılır. Toplam yaklaşık 1,5 m uzunluğundadır. Kolonun rektumla birleştiği yer sigmoid kolondur. Kolonun ince barsakla birleştiği yere çekum adı verilir. Kısmen sindirilmiş gıdalar ince barsaktan kolona gelir. Kolon su ve mineralleri besinden ayırır, geri kalanı anüsten atılmak üzere depolar.

Kolondan başlayan kansere kolon kanseri, rektumdan başlayan kansere rektal kanser denir. Kolon ve rektum kanserleri bu organların iç yüzeyini örten tabakayı oluşturan hücrelerden gelişir. Sağlık Bakanlığı'nın istatistiklerine göre en sık görülen ilk 5 kanser arasındadır. Her yaşta görülebilmelerine rağmen en sık 50 yaşından sonra gözlenmektedir. Ortalama görülme yaşı 63'dür. Kadın erkek arasında görülme sıklığı açısından pek bir fark yoktur. Kolorektal kanser kolon ve rektumun dışına çıktığında, kanser hücreleri genelde yakındaki lenf bezlerinde bulunabilir. Kanser hücreleri bu lenf bezlerine ulaşabilirse diğer bezlere, karaciğer ve uzak organlara da ulaşabilir.

1.1.1.1. Risk Faktörleri

Kolorektal kanserin kesin sebebi bilinmemektedir. Kolorektal kanser için bazı risk faktörleri vardır. Bunlar;

Yaş: Kolorektal kanser, genelde yaşlılarda görülür. Hastaların %90'ı 50 yaşından sonra tanı alır. Ortalama yaş 60'lı yaşlardır.

Polipler: Polip iyi huylu bir tümördür. Kolon veya rektumun iç duvarından kaynaklanır. 50 yaşın üzerindeki insanlarda yaygındır. Bazı polipler (adenomlar) kanserleşebilir. Bu durumda, kanserleşme riski nedeniyle polip çıkartılmalı ve düzenli aralıklarla kontrol edilmelidir. Poliplerin tanı ve alınması, kolorektal kanser riskini azaltır.

Ailede kolorektal kanser öyküsü: Bir kişinin yakın akrabalarında kolorektal kanser öyküsü varsa bu hastalığa özellikle daha genç yaşta yakalanma riski artar.

Genetik bozukluklar: Belli genlerdeki değişiklikler kolorektal kanser riskini artırır.

1. Herediter nonpolipozis kolon kanseri (HNPCC) kalıtsal kolorektal kanserin en yaygın tipidir. Tüm kolorektal kanser vakalarının %2'sini oluşturur. HNPCC genindeki değişiklikler nedeniyle olur. Değişmiş HNPCC genli hastaların %75'inde kolorektal kanser gelişir, kanserin ortalama tanı yaşı 44'dür.
2. Familial adenomatöz polipozis (FAP) kolon ve rektumda kalıtsal poliplerle karakterize nadir bir durumdur. Adenomatöz polipozis coli (APC) adında özel bir gendeki değişiklikler sonucu olur. Tedavisi kalın barsağın tamamının çıkarılmasıdır. FAP tedavi edilmez ise 40 yaş civarında kolorektal kanser gelişir. FAP tüm kolorektal kanser vakalarının %1'den azını oluşturur.

Daha önceden kolorektal kanser geçirmiş olmak: Kolorektal kanser öyküsü olan bir kişide tekrar kolorektal kanser gelişebilir. Yumurtalık, rahim ve meme kanseri öyküsü olan kadınlarda kolorektal kanser riski artmıştır.

Ülseratif kolit veya Crohn hastalığı: Barsakta adı geçen iltihabi hastalığı olanlarda kolorektal kanser riski artmıştır. Bu kişilerde normal topluma göre 10 kat artmış risk mevcuttur.

Diyet: Hayvansal yağdan zengin, kalsiyum, folat ve liften fakir diyetle beslenenlerde kolorektal kanser riski artmıştır. Meyve sebzedden fakir beslenmek de riski artırır.

Sigara: Sigara içen hastalarda polip ve kolorektal kanser riski artmıştır.

1.1.1.2. Korunma

Kalın barsak kanserlerinden korunmada tarama yöntemlerinin yanı sıra riski azaltıcı bazı basamaklar da mevcuttur. Örneğin fiziksel egzersiz, aşırı kilolardan kurtulmak, sigara ve alkol kullanmamak, yüksek lifli düşük yağ içerikli gıdaları tüketmek bunlardan birkaçıdır.

1.1.1.3. Evreleme

Evreleme tümörün yakın dokulara ve vücudun diğer bölgelerine yayılma derecesine göre yapılır. Kolorektal kanser evreleri aşağıdaki gibi tanımlanır:

Evre 0: Kanser sadece kolon yada rektumun en iç duvarındadır (karsinoma *in situ* olarak da adlandırılır).

Evre I: Kanser kolonun veya rektumun daha iç duvarından gelişir. Tümör kolonun daha dış duvarına ulaşmaz (Dukes A evre I kolorektal kanserin diğer ismidir).

Evre II: Tümör kolon veya rektumun daha derin duvarına yayılmıştır ancak kanser hücreleri lenf nodlarına yayılmamıştır (Dukes B).

Evre III: Kanser yakın lenf nodlarına yayılmış ancak vücudun diğer bölgelerine yayılmamıştır (Dukes C).

Evre IV: Kanser akciğer ve karaciğer gibi vücudun diğer bölgelerine yayılmıştır (Dukes D).

1.1.1.4. Tedavi

Kalın barsak kanserlerinin tedavisinde cerrahi, radyasyon ve kemoterapi başlıca kullanılan tedavi yöntemleridir.

Cerrahi: Cerrahi tedavi, kanserin tedavisinde ana basamağı oluşturur. Ama bunun için, kanserin uzak dokulara (karaciğer, akciğer, beyin, kemik vb.) yayılmamış olmalıdır. Cerrahi yöntemde tümörlü kısım etrafındaki sağlam dokuyla beraber çıkartılır. Bunun yanında barsağı vücuda bağlayan mezenter denilen doku ve lenf bezleri de çıkartılır.

Kemoterapi: Kemoterapi kanser hücrelerini öldürmek için antikanser ilaçları kullanmaktır. Sistemik tedavi olarak adlandırılır, çünkü ilaçlar kan dolaşımına geçerek vücuttaki kanser hücrelerini öldürür. Kolon kanserinin bazı evrelerinde ve vücudun başka yerine sıçramış olduğu durumlarda sıklıkla kullanılan bir tedavidir. Antikanser ilaçlar ağız ya da damar yoluyla verilebilir. Hastalar sadece kemoterapi ya da, cerrahi, radyoterapi ile kombine olarak alabilir.

Radyasyon Tedavisi: Radyoterapi olarak da adlandırılır. İyonize radyasyonla tümör hücrelerinin tahribatına yol açan lokal bir tedavidir. Tedavi edilen alandaki kanser hücrelerini yüksek enerjili ışınlarla öldürmek amaçlanır.

(<http://thsk.gov.tr/tr/index.php/kanser-tipleri/324-kalın-barsak-kanseri?.showall>)

1.1.2. Mide Kanseri

Mide kaburganın altında karnın üst bölgesinde yer alan içi boş büyük bir organdır. Yiyecekler ağızdan özofagus (yemek borusu) aracılığıyla mideye ulaşır. Midede yiyecekler sıvı hale gelir. Sıvı hale gelmiş yiyecekler ince bağırsağa hareket eder ve oradan da diğer sindirim aşamalarına devam edilir.

Mide kanseri hızlı seyreden ve yayılan bir kanser türüdür. Genellikle bir ülser şeklinde başlar. Mide kanseri çevre organ ve lenf bezlerini etkileyebilir. Direk komşulukla, lenfatik yolla ve kan yoluyla yayılabilir. Mide tümörü midenin dış tabakasının içinden büyüyerek pankreas, ösofagus veya barsak gibi çevre organların içine uzanabilir. Mide kanseri hücreleri kan yoluyla karaciğer, akciğerler ve diğer

organlara yayılabilir. Kanser hücreleri ayrıca lenfatik sistem aracılığıyla vücuttaki tüm lenf bezlerine yayılabilir.

Mide kanserine dünyanın her bölgesinde rastlanmakla beraber bazı bölgelerde daha sıktır. Japonya, Malezya, Şili, İzlanda bu bölgelerden bazılarıdır. Birçok ülkede erkeklerde kadınlara oranla iki kat daha fazla görülür. En sık görüldüğü yaşlar 50-60'lı yaşlardır. Ayrıca düşük sosyoekonomik düzeyli toplumlarda sıklığı yüksektir. Dünyada kansere bağlı ölümlerde ilk sırada yer almaktadır. ABD'de yemek alışkanlıklardaki düzelmeler ve çevresel faktörlerin düzelmesi ile yedinci sıraya düşmüştür. Özellikle Japonya'da mide kanserine bağlı ölüm oranları gerek erken tarama ve gerekse halkın bu konuda duyarlı olması nedeniyle çok azalmıştır. Beslenme alışkanlığındaki tuzlu ve tutsülenmiş yiyeceklerin yer alması nedeniyle mide kanseri Japonya'da yüksektir.

1.1.2.1. Risk Faktörleri

Mide kanserinin tam sebebi bilinmemektedir. Mide kanseri için kabul gören risk etkenleri şunlardır;

Yaş: Mide kanseri hastalarının çoğu 72 yaş veya üzerindedir.

Cinsiyet: Erkeklerde kadınlara göre daha fazla gelişmektedir.

İrk: Asya ve Afrika toplumunda Amerikan toplumuna göre daha fazla görülmektedir.

Diyet: Risk faktörleri arasında en çok araştırılmış olan diyetdir. Çalışmalar tutsülenmiş, tuzlanmış, salamura yapılmış veya aşırı tuzlu yiyeceklerden zengin yiyecekleri yiyenlerde mide kanseri gelişme riskinin arttırdığını göstermektedir.

Helicobakter pylori (HP) infeksiyonu: HP genelde midede yaşayan bir bakteri çeşitidir. HP infeksiyonu mide iltihabı ve mide ülseri riskini artırmaktadır. Ayrıca mide kanseri riskini de artırmaktadır, fakat bu bakteriyle enfekte olan kişilerin sadece çok küçük bir kısmında mide kanseri gelişir. HP infeksiyonuna karşı antikörlerin varlığında mide kanseri riskinin 6 kat arttığı tespit edilmiştir. İnfeksiyonun kanser riskini artırmasına rağmen, kanser bulaşıcı değildir.

Sigara: Sigara içenlerde içmeyenlere göre mide kanseri gelişme riski daha fazladır.

Belli sağlık problemleri: Midede iltihaba ve diğer problemlere sebep olan durumlar da mide kanserine sebep olabilir. Bunlar;

1. Geçirilmiş mide ameliyatı

2. Kronik atrofik gastrit (mide yüzeyinin uzun süreli iltihabı)

3. Pernisiyöz anemi (mideyi etkileyen ve vitamin B12'nin emilim bozukluğuyla giden bir kan hastalığı)

4. Adenomatöz polipler

Aile hikayesi: Mide kanserinin nadir türü ailesel geçişlidir.

Diğer faktörler arasında radyasyon, aflatoksin, A kan grubu ve Epstein-Barr virüsü enfeksiyonları da sayılabilir.

Mide tümörlerinin tipi ne olursa olsun klinik özellikleri ve tanısal açıdan benzerlik gösterirler. Mide kanseri genellikle sinsi seyirli bir hastalıktır. Genellikle oldukça geç belirti verir ve belirtiler hastalığa özgü değildir. Karında mide bölgesinde belirli-belirsiz bir rahatsızlık hissi en sık başlangıç belirtidir. Hastalığın ileri evrelerinde en sık belirtiler kilo kaybı ve karın ağrısıdır.

1.1.2.2. Korunma

Taze sebze meyvelerin yenilmesi, yüksek doz C vitamini alımı, sarımsak, yeşil çay bu hastalığa karşı koruyucu olabilmektedir.

1.1.2.3. Evreleme

Evre 0: Kanser sadece midenin iç tabakasında bulunur. Bu karsinoma *in situ* olarak tanımlanır.

Evre I: Aşağıdakilerden herhangi birinin olması durumunda:

- Tümör sadece submukoza tabakasına kadar yayılmıştır. Kanser hücreleri 6'ya kadar lenf bezinde bulunabilir.
- Veya, tümör kas tabakası veya subserozaya yayılmıştır. Kanser hücreleri lenf bezlerine veya diğer organlara yayılmıştır.

Evre II: Aşağıdakilerden herhangi birinin olması durumunda:

- Tümör sadece submukozadadır. Kanser hücreleri 7-15 lenf bezine yayılmıştır.
- Veya, tümör kas tabakası veya subserozaya yayılmıştır. Kanser hücreleri 1-6 lenf bezine yayılmıştır.
- Veya, tümör midenin dış tabakasını delip geçmiştir. Kanser hücreleri lenf bezlerine veya diğer organlara yayılmıştır.

Evre III: Aşağıdakilerden herhangi birinin olması durumunda:

- Tümör kas tabakası veya subserozaya yayılmıştır. Kanser hücreleri 7-15 lenf bezinde bulunmaktadır.
- Veya, tümör midenin dış tabakasını delip geçmiştir. Kanser hücreleri 1-15 lenf bezine yayılmıştır.
- Tümör karaciğer veya dalak gibi yakınındaki organlara sıçramıştır. Kanser hücreleri lenf bezlerine veya uzak organlara yayılmamıştır.

Evre IV: Aşağıdakilerden herhangi birinin olması durumunda:

- Kanser hücreleri 15'den fazla lenf bezine yayılmıştır.
- Veya, tümör çevre organlara ve en az 1 lenf bezine yayılmıştır.
- Veya, kanser hücreleri uzak organlara yayılmıştır

(<http://thsk.gov.tr/tr/index.php/kanser-tipleri/329-midekanseri?showall>).

1.1.2.4. Tedavi

Mide kanserlerinin tedavisinde cerrahi, radyasyon ve kemoterapi başlıca kullanılan tedavi yöntemleridir.

Cerrahi: Cerrahi tedavi, kanserin tedavisinde ana basamağı oluşturur. Ama bunun için kanserin uzak dokulara (karaciğer, akciğer, beyin, kemik vb.) yayılmamış olmalıdır. Cerrahi yöntemde tümörlü kısım etrafındaki sağlam dokuyla beraber çıkartılır.

Kemoterapi: Kemoterapi kanser hücrelerini öldürmek için antikanser ilaçları kullanmaktır. Sistemik tedavi olarak adlandırılır, çünkü ilaçlar kan dolaşımına geçerek vücuttaki kanser hücrelerini öldürür. Mide kanserinin bazı evrelerinde ve vücudun başka yerine sıçramış olduğu durumlarda sıklıkla kullanılan bir tedavidir. Antikanser ilaçlar ağız ya da damar yoluyla verilebilir. Hastalar sadece kemoterapi ya da, cerrahi, radyoterapi ile kombine olarak alabilir.

Radyasyon Tedavisi: Radyoterapi olarak da adlandırılır. İyonize radyasyonla tümör hücrelerinin tahribatına yol açan lokal bir tedavidir. Tedavi edilen alandaki kanser hücrelerini yüksek enerjili ışınlarla öldürmek amaçlanır

(<http://thsk.gov.tr/tr/index.php/kanser-tipleri/324-kalın-barsak-kanseri?.showall>).

1.1.3. Lösemiler

Lösemiler (kan kanserleri), kan hücrelerinin özellikle de akyuvarların normalin üzerinde çoğalması ile kendini gösteren bir kanser türüdür. Yüksek sayıdaki olgunlaşmamış ve malign hücrelerin normal ilik hücrelerinin yerini alması ile iliklerde hasar meydana gelir. Böylece kan pıhtılaşmasında rol oynayan plateletler ve savunmada rol oynayan lökositlerin sayısı azalmaya başlar. Bu da lösemi hastalarında zedelenmelerin ve kanamaların yoğun görülmesine, hastaların kolay enfeksiyon kapmasına neden olur. Savunma mekanizması zayıflar. İleri aşamalarda kırmızı kan hücresi eksikliği anemiye, nefes darlığına neden olabilir. Bunun dışında zayıflık ve yorgunluk, ateş, bazı nörolojik semptomlar, diş etlerinde şişkinlik ve kanamalar gibi belirtileri de vardır.

Genel olarak lösemiler tüm kanserlerin %2 'sini oluştururlar. Erkeklerde lösemi daha sık gözlenmektedir. Ayrıca beyaz ırkta da daha sıktır. Yetişkinlerde lösemi tanısı konma sıklığı çocuklardan 10 kat daha fazladır ve risk yaşla birlikte artar. Çocuklar arasında ise 4 yaş altında daha sık gözlenir.

1.1.3.1. Risk Faktörleri

Kesin nedenleri bilinmemekle birlikte hem genetik hem de çevresel faktörlerin önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Somatik hücrelerdeki deoksiribonükleik asit (DNA)'lerde meydana gelen mutasyonlar onkogenlerin aktive olması ya da tümör baskılayıcı genlerin inaktive olmasına neden olur. Böylece hücre bölünmesi ve ölümünün regülasyonu hasara uğrar. Bu hasara genetik sebeplerin dışında, petrokimyasalların, radyasyonun, kanserojen maddelerin ve bazı virüslerin (örn. Human Immunodeficiency Virus = HIV) neden olduğu düşünülmektedir.

Lösemilerin kısmen de olsa ailevi olabileceğine dair bulgular vardır; özellikle kronik lenfoid lösemi (KLL) gibi belirli türlerinde, bazı ailelerde yoğunlaşma gözlenmektedir. Belirli genetik hastalıklarda (Down sendromu gibi) da bazı lösemi tiplerinin daha sık gözlemlendiği bilinmektedir. Bununla birlikte, kesin bir genetik ve ailevi risk henüz saptanmamıştır. Myeloid lösemi olgularında, iyonize edici radyasyona ve benzene maruziyetin hastalığın gelişmesinde etkili olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır.

1.1.3.2. Sınıflandırma

Lösemiler, vücuttaki kan üretim sistemini (lenfatik sistem ve kemik iliği) etkileyen kanserlerdir. Lösemiler akut veya kronik olarak mikroskopta kan hücrelerinin görünüşlerine, tümörün yayılım ve gelişim özelliklerine göre sınıflandırılırlar. Genel olarak, akut lösemiler çocuklarda ortaya çıkarken, kronik lösemiler daha çok yetişkinlerde görülme eğilimindedir.

1.1.3.2.1. Akut Lösemiler

Akut lösemide, kemik iliğinin çok sayıda lenfoblast veya myeloblast (olgunlaşmamış lökositler) ürettiği kan ve kemik iliğinin bir kanseridir. Sonuçta sağlıklı normal kan hücrelerinden bu hücreler daha fazla hale gelmektedir. Bu anormal hücreler diğer organlara da yayılarak, organları fonksiyonlarını yapamaz hale getirebilirler. Akut lösemilerin sınıflandırılması temel olarak olgunlaşmayan hücrelerin tipleri esas alınarak yapılır.

Akut Lenfoid Lösemi (ALL) : Normalde lenfosit adı verilen olgun kan hücresi tipine dönüşmesi gereken lenfoblast isimli olgunlaşmamış kan hücrelerinin artması ile karakterizedir. Bu lenfoblastların sayıları çok miktarda artar ve genelde lenf düğümlerinde birikerek şişliklere neden olurlar. ALL, en sık gözlenen çocukluk çağı kanseridir ve 15 yaş altındaki çocuklarda gözlenen lösemilerin %80'i ALL dir. Bazen yetişkinlerde de görülebilmekle birlikte, 50 yaşın üzerinde ALL son derece nadirdir.

Akut Myeloid Lösemi (AML) : Akut myeloid lösemi, anormal hematopoietik öncül hücreler tarafından kemik iliği infiltrasyonu (tıkanma) ile karakterize bir hastalıktır. Bu hücreler normal de olduğu gibi myeloid, eritroid ve megakaryotik hücre dizilerine diferansiye (farklılaşma) olabilme kabiliyetine sahip değildir ve normal öncülerin aksine vital organlara infitre olabilme kabiliyetine sahiptirler. Bunlar aynı zamanda diğer normal öncü hücrelerin farklılaşmasını bloke ederek, trombositopeni, anemi ve granulositopeniye neden olurlar. Tedavi edilmezse hasta nadiren 6–12 aydan fazla yaşar ve kemik iliği yetmezliği nedeniyle ölümlerle sonuçlanır. AML nadir görülen (4/100000) bir hastalık olup, sürekli yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmiş olmasına ve biyolojisinin iyi anlaşılması konusundaki ilerlemelere rağmen tedavi gören hastaların %80'i ölümlerle sonuçlanır (Schiffer ve ark., 1989).

1.1.3.2.2. Kronik Lösemiler

Kronik lösemi, görünüşte olgun ancak normal olgun kan hücrelerinin yaptıklarını yapamayan kan hücrelerinin aşırı üretimi ile karakterizedir. Kronik lösemi daha yavaş ilerler ve sonuçları daha az dramatiktir. Temel olarak iki alt grubu vardır:

Kronik Lenfoid Lösemi (KLL) : Olgun görünüşe sahip lenfositlerin kemik iliğinde aşırı üretimi ile kendini gösterir. Bu anormal hücreler tam olarak olgunlaşmış normal lenfositler gibi görülürler, ancak normal lenfositler gibi vücudumuzu enfeksiyonlara karşı koruyamazlar.

Kronik Myeloid Lösemi (KML) : Kronik myeloid lösemi klonal hematopoietik stem cell hastalığıdır ve farklılaşmanın çeşitli evrelerinde myeloid elemanların çoğalmasındaki artma ile karakterizedir. Erişkinlerde bütün lösemilerin % 15–20'sinden sorumludur. 50-60 yaş arasında sık görülür (Yalçın ve ark., 2001).

1.1.3.3. Tedavi

Hastalığın tedavisinde, son yıllarda oldukça önemli adımlar atılmışsa da sebepler bilinemediği için sebebe yönelik tedavi yapılamamaktadır. Günümüzde uygulanan tedavilerin temel amacı, habis hücreleri ortadan kaldırmaktır. Tedavi şemaları hastalığın

tiplerine ve safhalarına göre değişiklik gösterir. Radyasyon tedavisi; çeşitli kanser ilaçlarının uygulanması, bağışıklama (immünoterapi) tedavisi, kemik iliği nakli başlıca tedavi şekilleridir (<http://thsk.gov.tr/tr/index.php/kanser-tipleri/326-losemi>).

1.2. Serbest Radikaller

1.2.1. Serbest Radikallerin Tarihsel Süreci

Serbest radikallerin kimyasal olarak varlığı hakkında, yaklaşık 100 yıl önce bir sonuca varılmasına karşın kimyasal olarak varlıkları ilk 30-40 yıl boyunca tüm bilim dünyasında kabul görmemiştir. Biyolojik sistemlerdeki serbest radikallerin önemi 1950'lerin ortasına kadar kabul görmese de reaktif oksijen biyokimyasını kuran bir grup bilim adamının katkı sağlaması ile önemleri ve varlıkları açığa kavuşmuştur. 20. yüzyılın ikinci yarısının büyük kısmında reaktif oksijen türevlerine, doku hasarı ve buna bağlı hastalıklara yol açan bir çeşit biyokimyasal “oksitleyici ajan” gözüyle bakılmıştır. Günümüze gelindiğinde ise hemen her hastalığın belirli bir yere kadar oksidatif stresle bir ilgisi olduğu kabul edilmektedir (Çakatay ve ark., 2006).

1.2.2. Serbest Radikaller Hakkında Genel Bilgi

Nötron ve protonu içeren çekirdek ve çevresinde dönen elektronlar atomun yapısını oluşturmaktadır. Bu yapıda çekirdeğin etrafında bulunan elektronların bulunduğu boşluğa orbital adı verilmektedir. Her orbitalde birbirine zıt spinli ortaklanmış veya eşleşmiş iki elektron bulunabilir (Tekkes,2006).

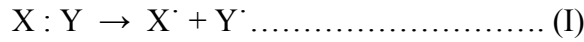
Serbest radikaller ortaklanmamış elektronlarından dolayı oldukça reaktif olup, karşılaştığı birçok radikal olmayan atom veya molekülle reaksiyona girebilir. Ömürleri kısa olmasına rağmen, girdikleri bir reaksiyonla zincir reaksiyonlar meydana getirerek, birçok radikal atom veya molekül ortaya çıkarabildikleri için çok tehlikelidirler (Holley ve ark., 1993).

Serbest radikaller birçok fizyolojik veya patolojik olaylar sonucunda üretilen, tek veya daha fazla eşleşmemiş elektronu bulunan herhangi bir atom veya moleküllerdir (Lohr, 1991). Herhangi bir bileşik bir elektron vererek veya ilave bir elektron alarak serbest radikal oluşturabilir. Homolitik parçalanmada, kovalent bağ simetrik olarak ayrılır ve ortaya çıkan iki parçada da birer elektron kalır ve serbest radikal oluşur. Serbest radikaller pozitif, negatif veya nötral olarak bulunabilirler (Jesberger ve ark., 1991). Radikaller daha büyük bir yapının parçası olabilir, daha immobil olabilir veya küçük ve serbestçe difüze olabilen türler halinde olabilirler.

Serbest radikaller 3 yolla meydana gelebilirler (Cheeseman ve ark., 1993).

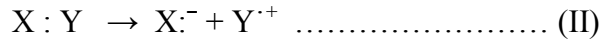
1. Kovalent bağı radikal olmayan bir molekülün her bir parçasında ortak elektronlarından birisi kalmak suretiyle homolitik bölünmesi sonucunda meydana gelmesi (homolitik ayrılma ile radikal oluşumu),

Yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar ve yüksek sıcaklık kimyasal bağların kırılmasına neden olduğundan bağ yapısındaki iki elektronun her biri ayrı ayrı atomlar üzerinde kalmakta ve iki adet yüksek reaktiviteli iki radikal oluşmaktadır (Woo ve ark., 1993).



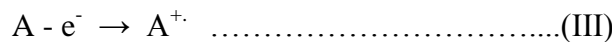
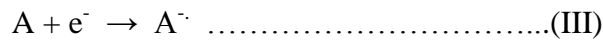
2. Radikal olmayan bir molekülden yine tek bir elektronun kaybı veya bir molekülün heterolitik bölünmesi sonucunda meydana gelmesi (heterolitik ayrılma ile iyon oluşumu),

Radikal özelliği bulunmayan bir molekülün elektron kaybetmesi sonucu dış orbitalindeki eşleşmemiş elektron serbest radikalleri oluştururken, heterolitik bölünmede kovalent bağı oluşturan her iki elektronun atomlarından birinde serbest radikaller değil iyonlar oluşmaktadır.



3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi veya transferi yine ortaklanmamış elektronlar meydana getirmesi ile oluşumu (elektron transferi ile radikal oluşumu),

Örneğin moleküler oksijenin radikal formu olan süperoksitin oluşumu, moleküler oksijenin tek elektron ile indirgenmesi sonucu gözlenmektedir.



1.2.2.1. Serbest Oksijen Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri

Serbest radikallere oksidan moleküller veya reaktif oksijen türleri (ROT)'de denilmektedir. Oksijen atomunun dış yörüngesinde (p orbitali) iki elektron eksik olduğundan serbest radikallerle hızlı reaksiyona girebilmektedir. Serbest olmayan radikallerle daha yavaş bir reaksiyon seyri izler. Reaktif oksijen türleri, çeşitli serbest radikallerin serbest radikal zincir reaksiyonlarını başlatabilirler ve hücrede karbon merkezli organik radikaller (R^{\cdot}), peroksit radikalleri (RSO^{\cdot}), tiyil peroksit radikalleri (ROS_2^{\cdot}) gibi çeşitli serbest radikallerin oluşumuna neden olabilmektedirler (Cheeseman ve ark., 1993; Yerer ve ark., 2000; Akkuş, 1995; Dikici, 1999).

Serbest oksijen radikalleri tablo 1'de gösterildiği gibi radikaller ve non-radikaller olarak 2'ye ayrılır.

Tablo 1. Reaktif oksijen türleri (Yekkes, 2006)

RADİKALLER	NON-RADİKALLER
Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$)	Hidrojen peroksit (H_2O_2)
Hidroksil radikali (OH^{\cdot})	Lipit hidroperoksit (LOOH)
Peroksit radikali (ROO^{\cdot})	Hipokloröz asit (HOCl)
Alkoksil radikali (RO^{\cdot})	N-Halojenli aminler (R-NH-X)
Semikinon radikali (HQ)	Singlet oksijen (1O_2)
Hemoproteine bağlı serbest radikaller	Ozon (O_3)
	Azotdioksit (NO_2)

1.2.2.2. Radikaller

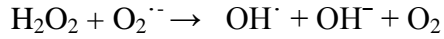
1.2.2.2.1. Süper Oksit Anyon Radikali ($O_2^{\cdot-}$)

Normal oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$) meydana gelir. Süperoksit radikali bir oksitleyici gibi davranarak bir elektron daha alabilir. Oluşan peroksi anyonu iki proton alarak hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşturabilir. Süperoksit radikali yine aldığı elektronu uygun koşulda elektron alıcısına transfer ederek oksijene oksitlenebilir. Bu durumda indirgeyici (redüktör) karakteri gösterebilir. Süperoksit bir serbest radikal olmasına karşın kendisi doğrudan zarar vermez. Süperoksit radikalının önemi hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metalleri

iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. Süperoksit radikalleri redüktan olduğu gibi aynı zamanda oksidandırlar (Akkuş, 1995).

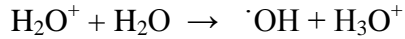
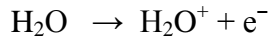
1.2.2.2.2. Hidroksil Radikali (OH[·])

Hidrojen peroksitin, süperoksit ile indirgenmesi sonucu oluşur. Bu reaksiyona Haber-Weiss reaksiyonu adı verilir (Dikici, 1999).

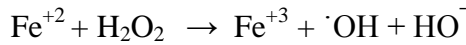


Hidroksil radikalinin yapımına sebep olan önemli tepkimeler (Şengil ve ark., 1992).

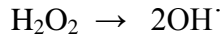
a) İyonlaştırıcı radyasyonun suya etkisi:



b) Fenton tepkimesi:

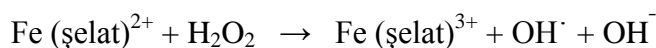
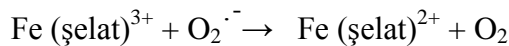


c) Hidrojen peroksidin fotolizi:

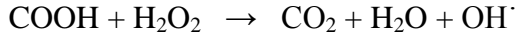


d) Ozona elektron transferi ile OH[·] oluşabilmektedir. Bu nedenle ozon toksisitesinde OH[·]'in önemli rolü vardır.

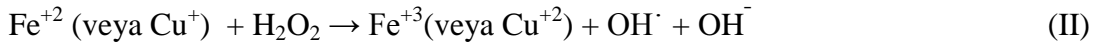
e) *İn vivo* da OH[·] üretimi açısından en önemli tepkime Haber-Weiss tepkimesidir. *İn vivo* da O₂^{·-} radikalinin H₂O₂ ile OH[·] üretmesi şelat yapmış demir tarafından katalizlenir.



- f) Radikal tepkimeleri sonucu oluşabilen bir organik radikal, H₂O₂ ile tepkimeye girerek OH[·] üretebilir.



Hidroksil radikalının mekanizması ise iki reaksiyon sonucunda gerçekleşir.



Anlaşıldığı gibi O₂^{·-} radikalının elektron verici olduğu tepkime Haber-Weiss tepkimesi dışında da biyolojik moleküller, metal iyonlarını indirgeyerek H₂O₂ varlığında OH[·] oluşumunu sağlarlar (Czapski, 1984).

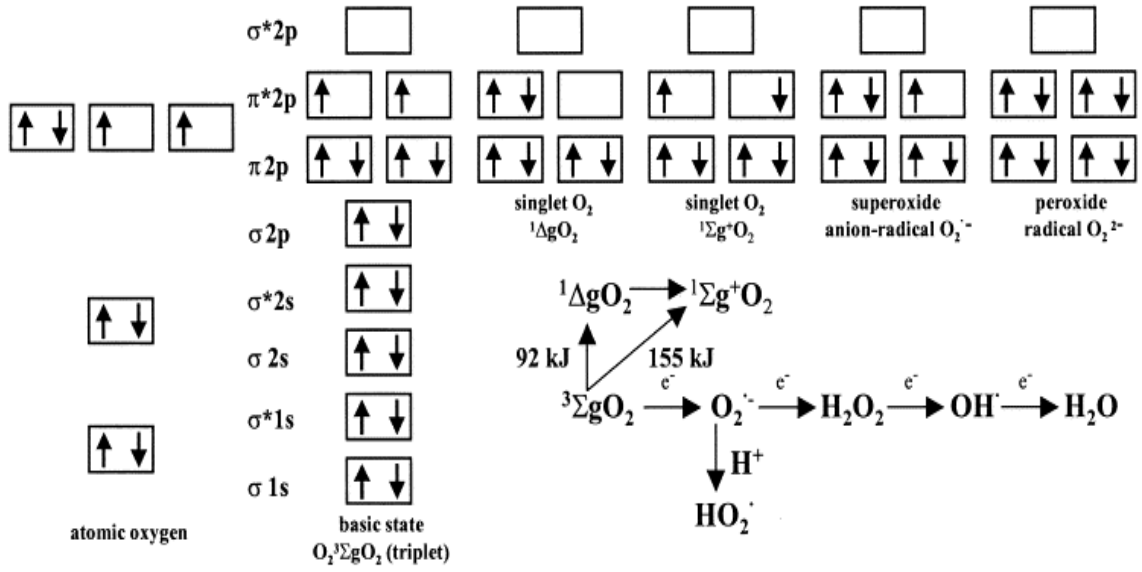
Hidroksil radikali en reaktif ve en zarar verici oksijen radikalleridir. Su dahil ortamda rastladığı her molekül ile tepkimeye girer. Hidroksil radikalının sebep olduğu en önemli hasar, lipid peroksidasyonu olarak bilinen serbest radikal zincir reaksiyonudur. Hücre zarı su içermediğinden hidroksil radikalının başlıca hedefi yağ asididir. Zar lipidlerinin peroksidasyonu zarın yapısını bozar ve geçirgenliğini artırıp hücre ölümüne sebep olabilmektedir (Altıntaş,2006; Nishiyama ve ark., 1998).

1.2.2.3. Non-Radikaller

1.2.2.3.1. Singlet Oksijen (¹O₂)

Ortaklanmamış elektronu olmadığı için serbest radikal olmayan ancak serbest radikallerin reaksiyonları sonucu oluşan veya serbest radikal reaksiyonlarını başlatabilen tek atom halinde bulunan reaktif bir moleküldür (Gutteridye, 1995).

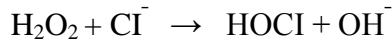
1. Moleküler oksijende paylaşılmamış iki dış elektron aynı yönde, aynı yörüngelerde bulunurken singlet oksijende ise iki dış elektron ayrı ayrı veya aynı orbitali işgal edebilmektedir.
2. İki elektron aynı orbitalde bulunur ve spinleri birbirine zıt ise biyolojik olarak daha uzun ömre sahip olan delta singlet oksijen formu oluşurken, iki elektron ayrı ayrı orbitallerde ise çok kısa ömürlü olan sigma singlet oksijen formu oluşmaktadır (Halliwell ve ark., 1989).



Şekil 1.1. Oksijenin elektron dağılımı ve orbital içerisindeki elektron spinleri (Halliwell ve ark., 1989)

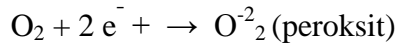
1.2.2.3.2. Hipokloröz Asit (HOCl)

Hidrojen peroksit molekülünün bir klor atomu (Cl) ile reaksiyona girmesi ile hipokloröz asit oluşabilmektedir.

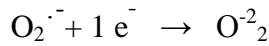


1.2.2.3.3. Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

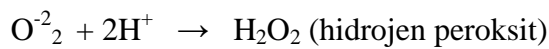
Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron almasıyla ya da süperoksit anyonu bir elektron alarak peroksit oluşturabilir. Peroksit molekülü de iki hidrojen atomu ile birleşerek hidrojen peroksidi (H₂O₂) meydana getirebilir.



veya



Peroksit molekülü, iki hidrojen atomu ile birleşerek hidrojen peroksiti meydana getirir.



H₂O₂, hücre zarından kolay geçebilen ömrü uzun olan bir oksidandır. Nötr ve boyutlarının küçük olması nedeniyle biyolojik membranlardan geçişi nispeten daha kolaydır. Geçiş metal iyonları varlığında gerçekleşen bir reaksiyonla süperoksit anyon radikali ile birlikte en reaktif ve en zarar verici serbest radikal olan hidroksil radikaline kolaylıkla yıkılabilir (Cheeseman ve ark., 1993; Akkuş, 1995).

Peroksizomlar çok önemli hücre içi H₂O₂ kaynağıdır. Bu organeldeki D-amino asid oksidaz, urat oksidaz, L-hidroksil asid oksidaz ve yağ asidi açil-CoA oksidaz gibi oksidazlar süperoksit üretmeden bol miktarda H₂O₂ üretimine sebep olurlar. Fakat peroksizomlarda katalaz aktivitesi çok yüksektir. Bu sebeple bu organelden sitozole ne kadar H₂O₂ geçtiği bilinmemektedir (Akkuş, 1995).

Bu reaktif maddeler bazı biyolojik molekülleri hasara uğratabilirler. Etrafındaki moleküller ile reaksiyona girerek onlardan elektron alıp kararlı hale gelirler. Reaktif oksijen türleri, maruz kalınan miktar ve süreye bağlı olarak hücre fonksiyonlarının bozulmasına neden olurlar (Tekkes, 2006; Yanbeyi, 1999).

1.2.3. Serbest Radikallerin Kaynakları

Biyolojik sistemlerde serbest radikal oluşumu, normal metabolik olayların seyri sırasında meydana geldiği gibi organizmada bazı yabancı maddelerin (ksenobiyotiklerin) metabolize edilmesi sırasında ve organizmanın radyasyon gibi dış etkenlere maruz kalmasıyla da meydana gelebilir. Serbest radikallerin başlıca kaynağı moleküler oksijendir (Akkuş, 1995; Özdemir, 1993).

Temel olarak serbest radikallerin kaynakları aşağıdaki gibi sınıflandırılmaktadır.

A) Eksojen Kaynaklar

- Bağımlılık yapan maddeler: Alkol, uyuşturucu vs.
- Radyasyon etkisi
- Ksenobiyotikler: Hava kirliliği, pestisitler, solventler, anestezi maddeler, aromatik hidrokarbonlar, sigara dumanı, vs.
- Antineoplastik ajanlar
- Stres: Streste katekolamin düzeyi artar, artan katekolamin oksidasyonu ile radikal üretimi artmaktadır.

B) Endojen Kaynaklar

- Mitokondrial elektron transport sistemi
- Oksidatif stres durumları (iskemi, travma gibi durumlara bağılı olarak)
- Peroksizomlarda bulunan enzimler
- Enzimler ve proteinler : Triptofan dioksijenaz, hemoglobin vs.
- Küçük moleküllerin otooksidasyonu: Tioller, katekolaminler, hidrokinonlar, flavinler, tetrahidroproteinler, antibiotikler vs.
- Endoplazmik retikulum ve nükleus membran elektron transport sistemleri (sitokrom p-450)
- Makrofaj gibi fagositik hücrelerin aktivasyonu ile meydana gelen solunumsal patlama
- Plazma membranı enzimleri: NADPH oksidaz, lipooksijenaz, prostaglandin sentetaz, lipit peroksidasyonu vs.

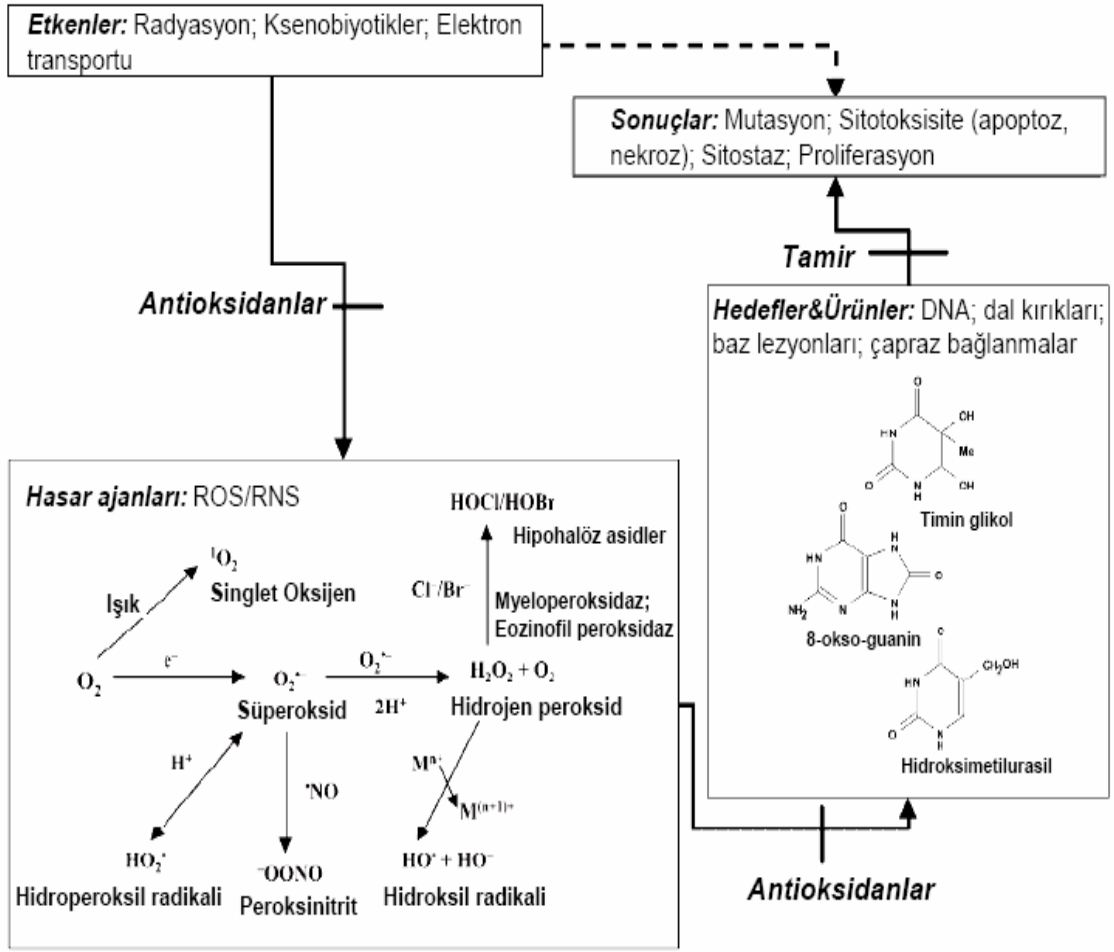
1.2.4. Serbest Radikallerin Hücresel Yapılara Etkisi

1.2.4.1. Proteinlere Etkisi

Doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallerle reaktivitesi yüksek olduğundan dolayı triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, methionin, sistein gibi aminoasitleri içeren proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Glutatyon redüktaz ve gliseraldehit 3-fosfat dehidrogenaz gibi reaktiviteleri için yukarıdaki aminoasitlere bağımlı olduğundan bu enzimler serbest radikallerden etkilenerek inhibe edilirler (Akkuş, 1995; Kankofer, 2002).

1.2.4.2. Nükleik Asitler ve DNA

Radyasyon etkisi ile hücre içinde enerji depolanması sonucu iyonlar, aktif moleküller ve serbest radikaller meydana gelebilmektedir. İyonize edici radyasyonla meydana gelen serbest radikaller, DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyon ve ölüme yol açabilirler. Sitotoksisite, büyük oranda ya nükleik asit baz modifikasyonlarından doğan kromozom değişikliklerine, ya da DNA'daki diğer bozukluklara bağılıdır. Normal metabolizma sırasında, hidroksil ve çevresel faktörler örneğin fotokimyasal hava kirliliği etkisiyle açığa çıkmış olan serbest radikallerin yol açtığı mutasyonlara ve hücre ölümüne DNA'nın katıldığı da iddia edilmektedir (Blakely, 1990; Mason, 1990).



Şekil 1.2. Serbest radikal aracılı oksidatif DNA hasarı (Mates ve ark., 1999).

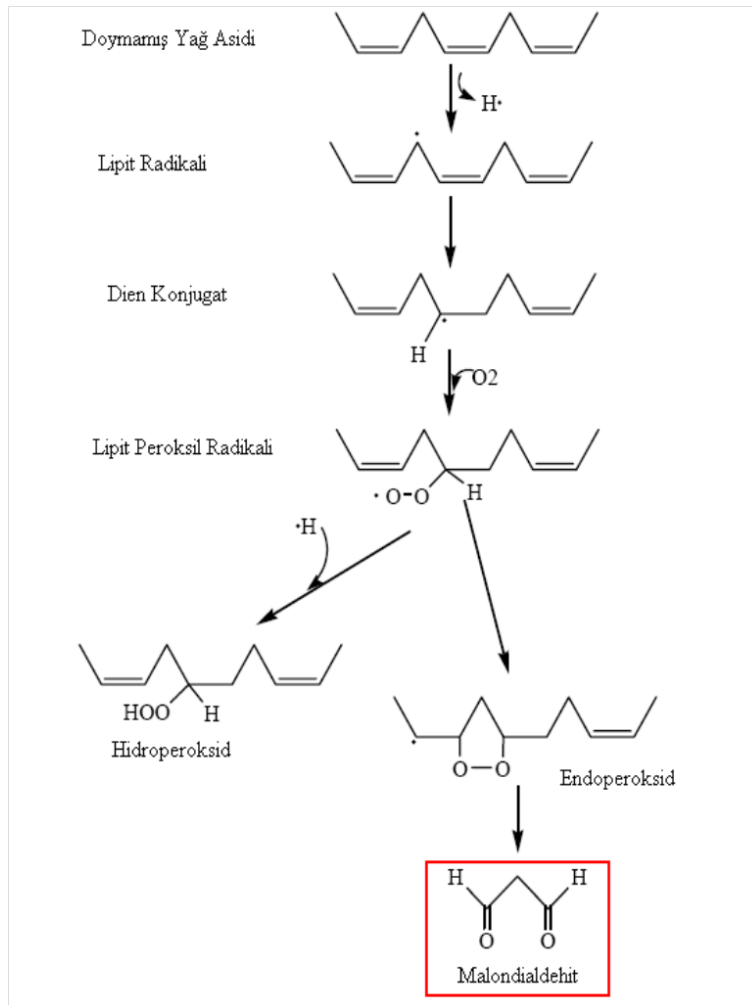
1.2.4.3. Membran Lipidlerine Etkisi

Membran kolesterolü ve doymamış yağ asitlerinin bağları, serbest radikaller ile reaksiyonu sonucu peroksidasyon meydana getirirler. Lipid peroksidasyonu organizma da oluşan kuvvetli yükseltgen bir radikalin, membran yapısında bulunan poliansature yağ asidi zincirindeki metilen gruplarından bir hidrojen atomu uzaklaştırılması ile başlamaktadır. Biyolojik sistemlerde bu radikalin süperoksit radikali ile hidroksil radikali olduğu kabul edilmektedir. Hidrojen peroksit de hidroksil radikaline dönüşerek etkili olmaktadır. Benzer şekilde süperoksit radikali de hidroksil radikaline dönüştüğü bilinmektedir. Bu nedenle lipid peroksidasyonunu başlatan başlıca radikalin hidroksil radikali olduğu görüşü benimsenmektedir (Piretti ve ark., 1987; Maede ve ark., 1987).

1.2.4.3.1. Lipit Peroksidasyonu

Lipid peroksidasyonu bir zincir reaksiyonu olmasının yanında daha ileri peroksidasyonu başlatan serbest radikaller için sürekli bir kaynak sağlar. Lipit peroksidasyonu; fosfolipit, glikolipit, gliserid ve steroidlerin yapısında bulunan doymamış yağ asitlerinin oksidan maddeler aracılığı ile alkol, aldehit, hidroksi asit, etan ve pentan gibi ürünlere yıkılmasını kapsayan, potansiyel olarak yıkıcı etkileri olan zincir reaksiyonudur. Bu şekilde meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür (Yerer ve ark., 2000; Akkuş, 1995).

Serbest oksijen gruplarının dokular üzerinde oluşturduğu hasar ve bunun sonuçlarından biri olan lipit peroksidasyonu şiddetinin derecesinin anlaşılması için uygulanan kriterlerden biri malondialdehit düzeyinin belirlenmesidir. Lipit peroksidasyonun neticesinde oluşan malondialdehit kan plazmasında kolaylıkla teşhis edilebilmektedir (Akkuş, 1995).



Şekil 1.3. Lipit peroksidasyonunun kimyasal yolu (Murray ve ark., 1996).

1.2.4.3.2. Lipit Peroksidasyonunun Mekanizması

Biyolojik membranlarda serbest radikallerle uyarılan lipit peroksidasyonu başlama, yayılma ve sonlanma reaksiyonları olmak üzere üç aşamada gerçekleşmektedir (Köse ve ark., 1992).

Başlama

Peroksidasyon, serbest radikallerin doymamış yağ asitlerinin yan zincirindeki metil karbonlarından bir hidrojen atomu koparmasıyla başlar. Peroksidasyonun başlaması için demir ve bakır gibi eşlenmemiş elektronlara sahip olan geçiş iyonlarının varlığına ihtiyaç vardır. Hidrojen atomunun zincirinden koparılması karbon atomu üzerinde eşlenmemiş bir elektron bırakır ve karbon merkezli radikal (L.) oluşumuna yol açar. Aerobik hücrelerde sık karşılaşılan bu olay radikallerin moleküler düzenlenme ile konjuge dien şekline çevrildikten sonra moleküler oksijenle reaksiyona girerek peroksi radikalini (LOO.) üretmesi ile devam eder (Köse ve ark., 1992).

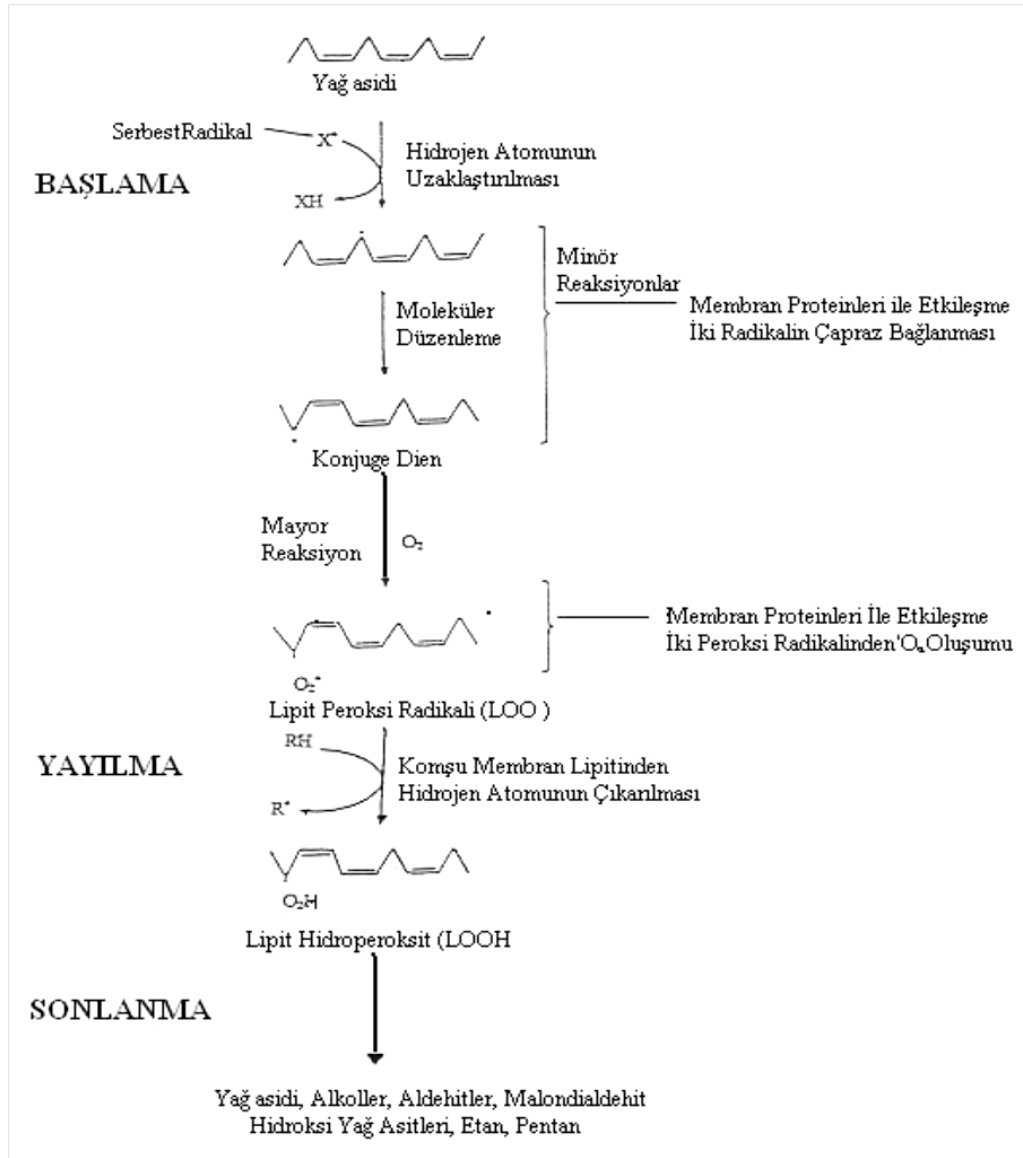
Yayılma

Üretilen peroksi radikali başka bir peroksi radikali ile birleşir ya da membran proteinleri ile etkileşebilir. Peroksi radikallerinin asıl önemi membrandaki komşu yan zincirlerden hidrojen atomu koparabilmeleri ve peroksidatif zincir reaksiyonunu yaymalarıdır. Böylece yan zincirlerden hidrojen atomunun çıkarılması ile her defasında lipit hidroperoksitleri (LOOH) ve yeni bir peroksi radikali oluşmaktadır. Peroksidasyon, bir kere başladıktan sonra otokatalitik olarak yayılabilmekte ve yüzlerce yağ asidi zinciri lipit hidroperoksitlerine çevrilebilmektedir (Köse ve ark., 1992). Yayılma zincirinin uzunluğu birçok faktöre bağlıdır. Bunlar;

1. Membrandaki lipit/protein oranı
2. Oksijen konsantrasyonu
3. E vitamini gibi zincir reaksiyonlarını kıran antioksidanların varlığıdır.

Sonlanma

Demir ve bakır iyonları veya bu iyonların fosfat esterleriyle oluşturduğu basit şelatları (Fe^{+2} , ADP), "hem" içeren bazı demir proteinleri (hemoglobin ve miyoglobin) lipit hidroperoksitlerini bozarak peroksidasyonu sonlandırmaktadır. Bu kompleks bozunma reaksiyonlarının ürünlerin; etan, pentan gibi hidrokarbon gazları, hidroperoksit (ROOH), karboksilik asit (RCOOH), hidroksil (ROH) ve aldehit (RCHO) gruplarını içeren kısa zincirli yağ asitleridir (Köse ve ark., 1992).



Şekil 1.4. Biyomembranlarda serbest radikallerin uyardığı lipit peroksidasyonu (Köse ve ark., 1992).

1.2.4.4. Karbonhidratlara Etkisi

Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerinde de önemli etkileri vardır. Oksidan maddelerin karbonhidrat metabolizması üzerine etkisi, glikolitik ATP sentezinin azalması ve ATP kullanımının artması yönündedir. Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelir. Bunlar diabet ve sigara içimi ile ilişkili kronik hastalıklarda önemli rol oynarlar. Okzoaldehitler DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturma özelliklerinden dolayı antimitotik etki göstererek kanser ve yaşlanma olaylarında rol oynayabilmektedir (Yerer ve ark., 2000; Akkuş, 1995).

Tablo 2. Serbest radikallerin hücredeki başlıca zararlı etkileri (Yanbeyi, 1999)

Doymamış Yağlar	<ul style="list-style-type: none">• Kolesterol ve yağ asitlerinde oksidasyon• Lipitlerde çapraz bağlanmalar• Organel ve hücrelerde çapraz bağlanmalar
Karbonhidratlar	<ul style="list-style-type: none">• Polisakkaritlerin depolimerizasyonu
Proteinler	<ul style="list-style-type: none">• Peptid zincirlerinde kopma• Denatürasyon
Kükürtlü Aminoasitler	<ul style="list-style-type: none">• Protein denatürasyonu ve çapraz bağlanma• Enzimlerde inhibisyon
Nükleik asitler	<ul style="list-style-type: none">• Tek ve çift iplik kırılmaları• Proteinlerde çapraz bağlar• Baz içermeyen bölgeler
Nükleik asit bazları	<ul style="list-style-type: none">• Hidroksilasyonlar• Mutasyonlar, kimyasal modifikasyonlar• Şekerlerde benzer reaksiyonlar

1.2.5. Serbest Radikaller ve Kanser

Radyasyon, çevresel kimyasallar ve diğer toksik maddelere maruz kalmak diğer birçok patolojik proseste olduğu kadar kanser gelişiminde de önemli roller oynamaktadır. Karsinogenez için yapılan çalışmalar bu kimyasalların etkilerini göstermeleri için vücudun enzim sistemlerini kullanarak metabolize edilmeleri gerektiğini vurgulamaktadır. Kabul edilen hipotez bu kimyasalların vücutta elektrofilik metabolitlere dönüştüğü bunlarında nükleofilik DNA ile kovalent bağlanmak suretiyle reaksiyona girdiği ve sonuçta ortaya çıkan DNA daki lezyonların onkogen aktivasyonuna yol açtığı şeklindedir.

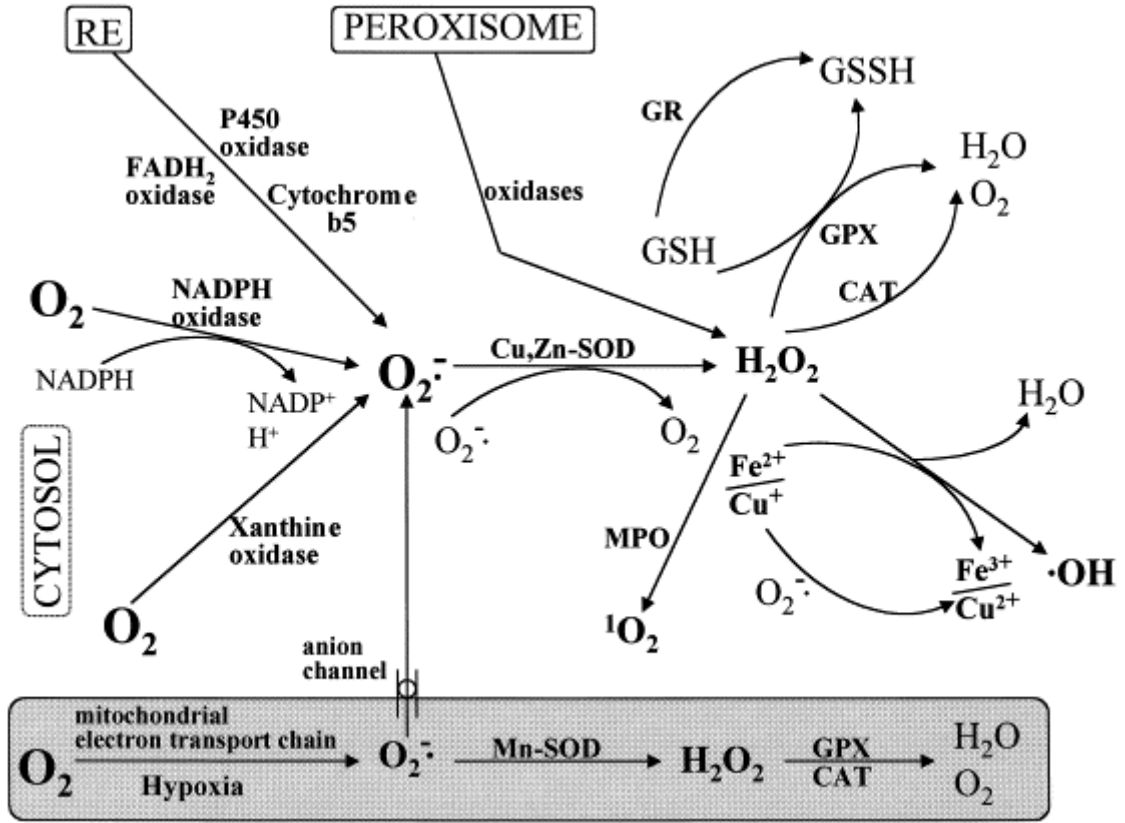
Gerek çevredeki ve gerekse vücuda giren kimyasalların metabolize edilmesi, sonuçta ortaya çıkan serbest radikallerin hücreleri tahrip ettiği ve gen programlarını değiştirdiği gösterilmiştir (Hassun, 1983).

Son çalışmalarda canlı organizmalarda oluşan serbest radikallerin kalp hastalıkları, Parkinson, Alzheimer hastalığı, serebrovasküler hastalıklar, nörosensoryel bozukluklar, katarakt, romatoid artrit ve kanser gelişiminde de önemli rol oynadıkları gösterilmiştir

(Brody, 1988). Hücrede çeşitli olayların sonucunda meydana gelen serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı birçok antioksidan savunma sistemleri vardır.

1.2.6. Antioksidan Savunma Sistemleri

Organizma maruz kaldığı reaktif oksidantlara ve bunların hasarına karşı çeşitli savunma sistemleri geliştirmiştir.

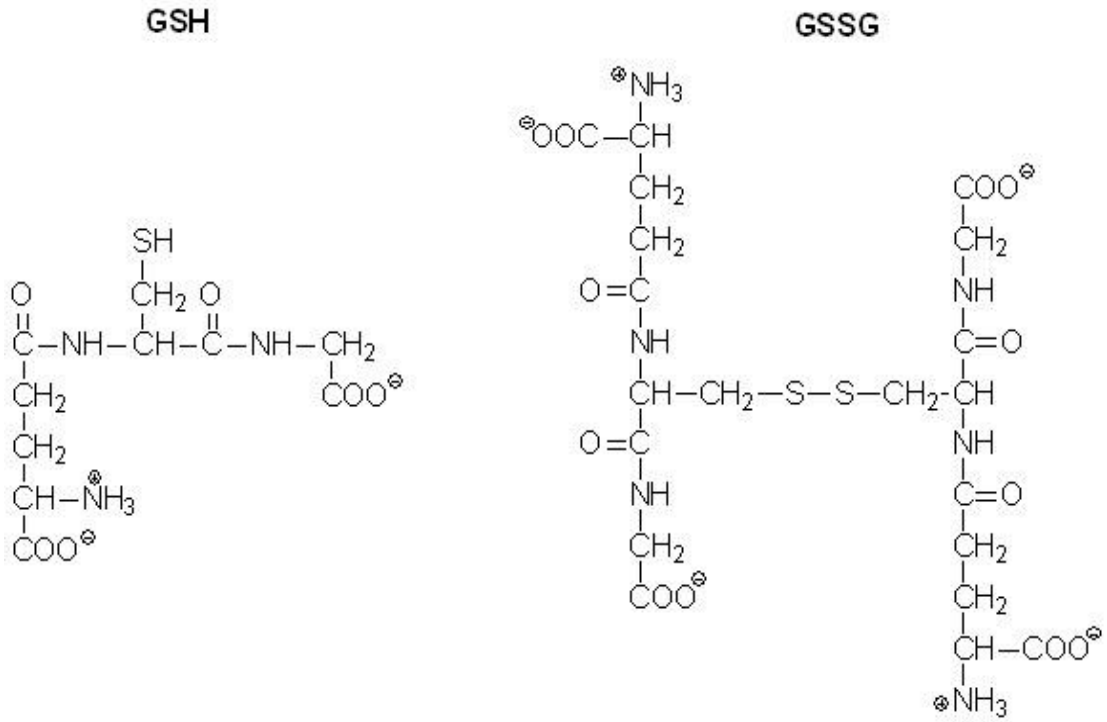


Şekil 1.5. Reaktif oksijen türlerinin oluşumu ve oluşan hasara karşı savunma mekanizmaları (Mates ve ark., 1999).

1.2.6.1. Okside ve Redükte Glutasyon (GSH ve GSSG)

Glutasyon; glutamik asit, sistein ve glisinden oluşan, intraselüler konsantrasyonu daha fazla olan bir tripeptittir (Beutler ve ark., 1963).

Glutasyon (γ -glutamil-sisteinil-glisin=GSH) beyaz renkli, kristal yapılı katı bir maddedir. Erime noktası $192-195^{\circ}C$ arasındadır. Molekül ağırlığı $307,33$ g'dır ve suda kolay çözünür. Erime noktası $178-182^{\circ}C$ olan okside glutasyon (GSSG) nun ise molekül ağırlığı $612,63$ g'dır.



Şekil 1.6. Okside ve redükte glutatyon tripeptidinin yapısı (Şener, 2009)

GSH molekülü iki peptit bağı, iki karboksilik asit grubu, bir amino grubu ve birde tiyol grubu içerir. Düşük molekül ağırlığı yanında hidrofilik fonksiyonel grupların çok sayıda olması GSH'ın suda çözünürlüğünü artırır. γ -Glutamil bağı proteazlara karşı GSH molekülünü daha dirençli yapar.

GSH'ın Sir Frederick Gowland Hopkins tarafından 1920'lerde keşfi biyokimyacılar, fizyologlar ve klinisyenler arasında geniş bir ilgi uyandırmıştır. Bu tripeptidin biyokimyası ve fonksiyonlarının incelenmesi biyokimyadaki gelişmelere paralel olarak birçok buluşa zemin hazırlamıştır. GSH hayvan ve bitki hücrelerinde doğal olarak sentezlenir. Bütün memeli hücreleri GSH sentezleyebilmelerine karşın, GSH karaciğer, lens, böbrek ve eritrositlerde belirgin olarak yüksek oranda bulunur.

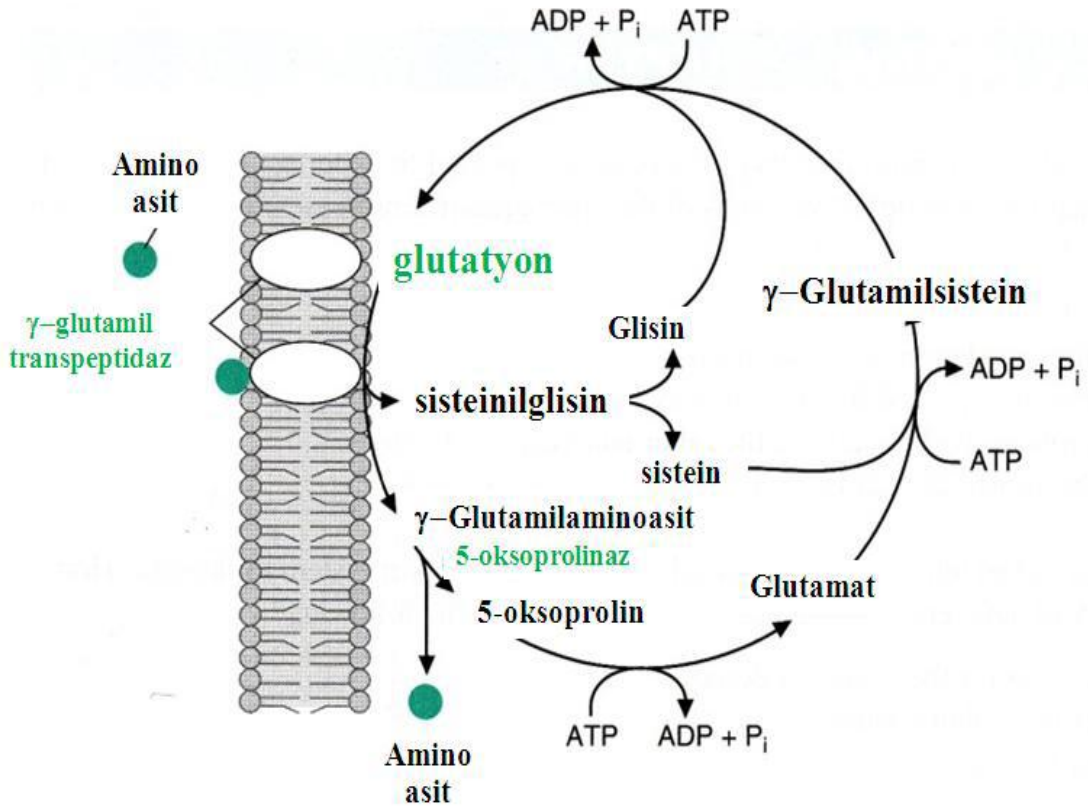
GSH tam kanda da yüksek oranda bulunur. Tam kandaki bu miktarın %98'den fazlası eritrositlerde bulunur. GSH bütün hücrelerin bir bileşenidir. GSH, hücre içinde 1-10 mM arasında hücre dışında ise 1-10 μ M arasında bulunur. Safra ve alveol sıvısında 200-800 mM arasında bulunan GSH, hücre dışı değerlerine bir istisna oluşturur. Hücre içi GSH'ın %85'i sitozolde, %15'i de mitokondride bulunur.

1.2.6.1.1. Glutasyon Sentezi ve γ - Glutamil Siklusu

GSH, hücre içinde hızlı bir “turnover”a sahiptir, yani bir yandan sürekli olarak yıkıma uğrarken, bir yandan da yeniden sentezlenir. Bu metabolik aktivite γ -glutamil siklusu olarak tanımlanmaktadır. γ -Glutamil siklusu, bazı hücreler tarafından, aminoasitlerin hücre içine taşınmasında kullanılan bir mekanizmadır.

Bu siklus aracılığı ile bir serbest aminoasit, GSH'nın γ -glutamil grubu ile bir isopeptid oluşturarak hücre içine girerken, bu arada sisteinilglisin serbestleşir. Bu reaksiyon hücre zarında bulunan γ -glutamil transpeptidaz (γ -GT) enzimi tarafından katalizlenir. Daha sonra γ -glutamil aminoasitten, siklotransferaz enzimi etkisi ile aminoasit ayrılır ve glutamil kalıntısının halkalı bir türevi olan 5-oksoprolin oluşur. Sisteinilglisin ise dipeptidaz etkisi ile sistein ve glisine, oksoprolin oksoprolinaz ile glutamik aside dönüşür. Glutamik asit de, sırası ile siklusun düzenleyici enzimi olan γ -glutamilsistein sentetaz (γ -GCS) ve GSH sentetaz enzimlerinin katalizlediği reaksiyonlar sonucu tekrar sistein ve glisin ile birleşerek GSH'ı oluşturur.

γ -Glutamil siklusunun çalışması için aminoasitler ve ATP gereklidir. Bu sıklusta 3 ATP kullanılır.

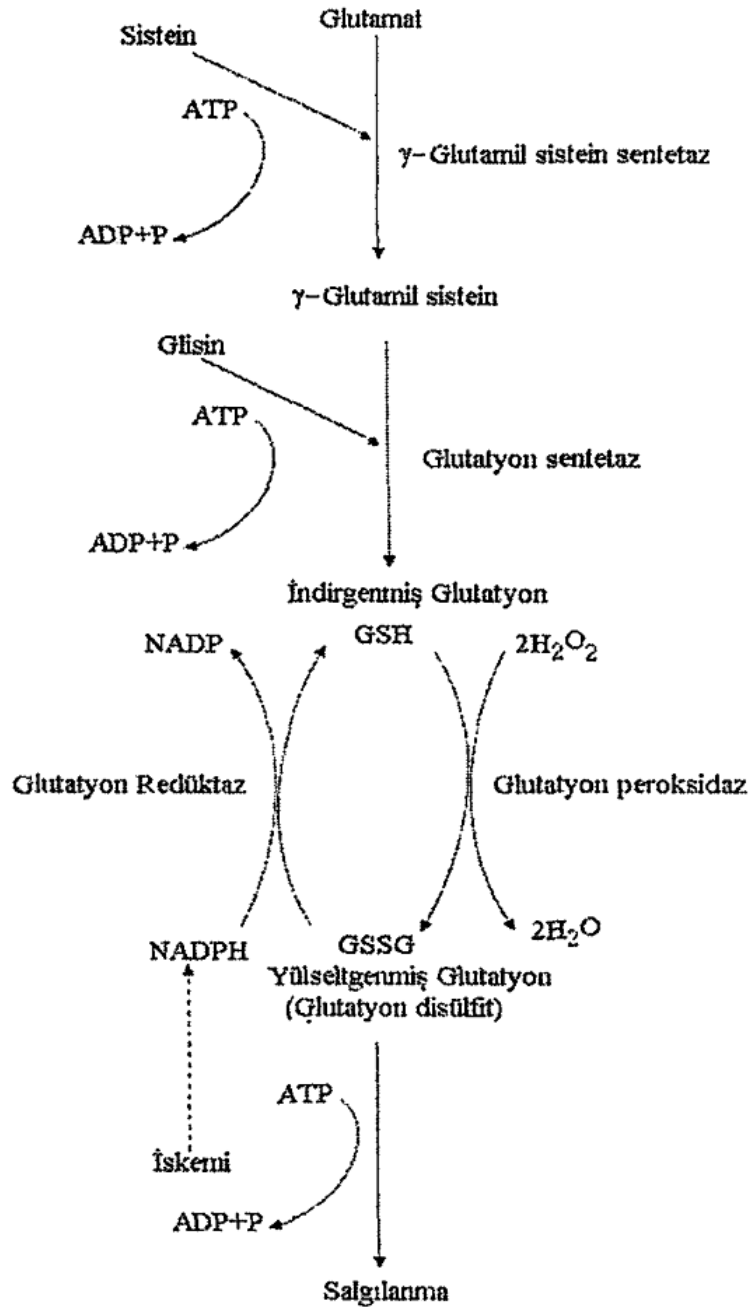


Şekil 1.7. Glutasyon sentezi (Murray ve ark., 1996)

1.2.6.1.2. Glutasyon'un Fonksiyonları

1. Aminoasit Transportu: γ -Glutamil siklusu hücre membranında, γ -glutamil transpeptidazların etkisi ile intraselüler glutasyon ve ekstraselüler aminoasidin γ -glutamil aminoasidini oluşturarak, aminoasidin hücre içine taşınmasına olanak sağlamaktadır (Jendryazko ve ark., 1993; Türkmen ve ark., 1996).
2. Tiyol Disülfid Etkileşimi: Bazı metabolik ve fizyolojik fonksiyonlar tiol disülfid değişimini gerektirmektedir. Örneğin enzimlerin aktivasyonu ve inaktivasyonu (Meister ve ark., 1983).
3. Glutasyon Konjugatları: Glutasyon konjugatlarının oluşumunda etkili olan enzim glutasyon S- transferazdır. Bu reaksiyon bazı ilaçların etkisi ve detoksifikasyonu açısından önem taşır. Elektrofilik bir merkez taşıyan bileşikler GSH ile konjugat oluşturabilir. GSH konjugatları tipik olarak γ -glutamin transpeptidazın etkili olduğu bir reaksiyonla merkaptürik asitlere dönüştürülür (Roger ve ark., 1993).
4. Radyoaktivite: Yapılan araştırmalarda tiollerin, çok kolay okside olabildikleri ve radyasyonun hücrelerde tiol gruplarını hızlı bir şekilde iyonize ettiği ortaya konulmuştur. Radyasyon, hücrenin GSH konsantrasyonunda düşmeye ve okside glutasyon (GSSG) konsantrasyonunda artışa yol açar (Hubert ve ark., 1994). Çeşitli gözlemler hücrelerin radyosensitivitesinin intraselüler tiol düzeylerine bağlı olduğunu göstermiştir. İyonize edici radyasyon bir molekülden hidrojeni çıkarır ve radikal oluşturur. Tioller hidrojeni tekrar radikale kazandırarak toksisiteyi azaltır (Konukoğlu ve ark., 1995). Serbest radikaller ve genotoksik elektrofilik moleküllerin kanserogenezdeki zararlı etkilerinin önlenmesinde GSH'nin rolüne ilişkin araştırmalar son yıllarda oldukça dikkat çekmektedir (Türkmen ve ark., 1996). GSH metabolizmasındaki bozukluğun kanser patogenezinin sorumlu olabileceği ileri sürülmektedir (John ve ark., 1991).

Oksijen radikalleri reversibl veya irreversibl olarak nükleik asitler, protein ve serbest aminoasitler, lipitler ve lipoproteinler, karbonhidratlar ve bağ dokusu molekülleri üzerinde zararlı etkiler oluşturur. Süperoksit radikalının ve hidrojen peroksitin konsantrasyonunda meydana gelen artış doğrudan hücrel harabiyet yapar. Bunun sonucunda redükte NAD, GSH ve ATP konsantrasyonundaki düşmeler hasarın büyümesine yol açar (Konukoğlu ve ark., 1995).



Şekil 1.8. Glutatyon ve glutatyon bağımlı enzimler (Nural, 2005)

1.2.6.1.3. Azalmış Glutatyonun Muhtemel Sebepleri

Dokulardaki düşük GSH seviyesi azalmış sentezin, artmış yıkımın, GSSG ve bileşik disüflitlere oksidasyonun, GSSG'nin GSH'a dönüştürülmesindeki yetersizliğin, detoksifikasyon reaksiyonlarında kullanımın veya bu yollardan birkaçının birlikte sonucu olarak ortaya çıkabilir.

Buna göre GSH'ın azalma sebeplerini şöyle sıralayabiliriz;

- 1- Azalmış sentez (sistein eksikliği, ATP eksikliği, enzim eksikliği, özellikle γ -glutamilsistein sentetaz eksikliği)
- 2- Artmış yıkım
- 3- GSSG ve PSSG'ye (protein disülfid) oksidasyon
- 4- GSSG'den GSH'ye rejenerasyondaki yetersizlik (NADPH+H⁺ eksikliği, glutatyon redüktaz aktivitesinin düşük olması)
- 5- Sızıntı / kayıp
- 6- Detoksifikasyon reaksiyonlarında kullanım (glutatyon S-transferaz)

Azalmış sentez yetersiz beslenmenin sonucu olarak dokulardaki azalmış sisteine bağlı olabildiği gibi, hücreye sistein alınımındaki bir yetersizlikte GSH sentezinde azalmaya yol açabilir. GSH transportunun engellenmesi dokuya bağlı olarak farklı etkiler gösterir.

ATP eksikliği de, sentezlenen her GSH başına 3 molekül ATP gerektiren GSH sentezini azaltacaktır. GSH sentezi ATP nin kullanıldığı başlıca yollardan biridir.

Azalmış GSH sentezi sentez yolundaki iki enzimin düşük aktivite göstermesinden de kaynaklanabilir. Kalıtsal olarak γ -glutamilsistein sentetaz eksikliği olan hastalarda çok düşük eritrosit GSH seviyesi ve non-sferosilik hemolitik anemi gözlenir. GSH eksikliği ise hafif bir hemolitik anemi ile birlikte seyreder.

Antioksidan olarak GSH hem enzimatik hem de non-enzimatik olarak GSSG ve PSSG oluşumuna yol açar. GSSG'nin birikimi normal olarak glutatyon redüktaz reaksiyonundaki rejenerasyon ile önlenir, fakat glutatyon redüktaz veya NADPH seviyeleri düşerse rejenerasyon yeteri kadar gerçekleşmez.

1.2.6.2. Glutatyon S- Transferaz

Glutatyon S-transferaz (GST) biotransformasyon enzimi olup, gastrointestinal sistemin epitelyum dokularında yaygın olarak bulunur. Fonksiyonları arasında zehirsizleştirme reaksiyonları, organizmayı karsinojenik bileşimlerden veya dokudaki ve kandaki toksik etkilerden korumak sayılabilir.

Glutatyon S-transferaz enziminin molekül ağırlığı 50.000 daltondur. GST ailesi alfa (α), mü (μ), pi (π) ve beta (β) sınıflarından oluşmaktadır. GST lipid peroksidasyonunda aldehit yapısındaki ürünleri dahil, reaktif elektrofilik mutajenleri inaktive eder (Nitsu ve ark., 1989).

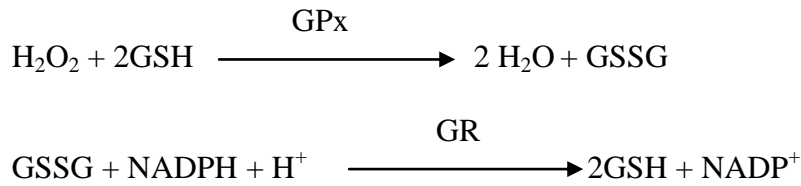
Potansiyel olarak zehirli bazı elektrofilik ksenobiyotikler birçok reaksiyona uğrayarak nükleofilik GSH ile konjuge olurlar.

Bunlardan ilki $R + GSH \rightarrow R-S-G$ reaksiyonudur. Burada R elektrofilik ksenobiyotiktir. Bu reaksiyonları katalize eden enzim glutatyon S-transferazdır. GST karaciğer sitozolünde yüksek, diğer dokularda daha düşük miktarlarda bulunur. Serum ve eritrosit GST düzeylerinin ölçümünün birçok kanserde güvenilir ve hassas bir marker olabileceği ileri sürülmektedir (Konukoğlu ve ark., 1995; Nitsu ve ark., 1989).

1.2.6.3. Glutatyon Peroksidaz

Organizmada serbest radikal hasarı ve oksidatif strese karşı olan savunma sisteminde yer alan GSH ile ilgili enzimlerden biri de glutatyon peroksidazdır (GPx). GPx'in selenyuma (Se) bağımlı ve bağımsız olmak üzere iki şekli vardır. Antioksidan etki GPx'in selenyuma bağımlı enziminin aktivitesindeki değişiklikten kaynaklanabilir. Se bağımsız enzim yalnızca organik peroksitleri, bağımlı enzim hem hidrojen peroksidi hem de organik peroksitleri (LOOH) metabolize eder. Böylece GPx bir yandan hidrojen peroksiti metabolize ederek lipit peroksidasyonunun başlamasını önlerken, diğer yandan lipit hidroperoksitlerini de metabolize ederek olayın gelişmesini önlemektedir (Meister ve ark., 1983; Wintrobe ve ark., 1991).

GPx okside edici ajanların eritrosit üzerine yapacağı etkiden korunmada anahtar rol üstlenir. GPx, indirgenmiş glutatyonun oksidasyonunu, H_2O_2 ve peroksitlerin yıkımını sağlayan bir enzimdir. H_2O_2 ve çeşitli organik hidroperoksitlerin GPx ile indirgenmesi reaksiyonunda indirgenmiş glutatyon kosubstrat olarak görev alır.



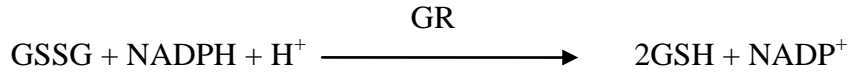
Katalitik reaksiyon sonucu H_2O ve oksitlenmiş glutatyon disülfid (GSSG) oluşur. Hücresel GSH'in eksikliğine yol açan GSSG difüzyonu GPx aktivitesindeki artışın bir sonucudur. Eritrosit veya karaciğer hücrelerinde GSSG'nin çok az miktarı hücreler tarafından atılır. Bu miktar hidroperoksit metabolizması sırasında yükselir. GSSG'nin hücre içinde birikimi ve difüzyonu hücresel $\text{NADPH} + \text{H}^+ / \text{NADP}^+$ redoks oranı ile ilişkilidir. Sitozolik $\text{NADPH} + \text{H}^+ / \text{NADP}^+$ redoks oranını azaltan metabolik olaylar

GSSG/GSH oranını artırarak hücreden GSSG çıkışının hızlanmasına yol açar (Meister ve ark., 1983).

Glutasyon peroksidaz genotoksik ve mutajen elektrofilik maddelerle konjugasyona girerek onların zehirsizleştirilmesinde rol oynar (Türkmen ve ark., 1996). Oksidan ve genotoksik maddelerin artmasının özellikle kimyasal kanserogenezin tüm safhalarında yer aldığına dair çalışmalar bulunmaktadır (Goodwin ve ark., 1983).

1.2.6.4. Glutasyon Redüktaz

Antioksidan savunmanın etkinliğini sürdürebilmesi için oksitlenmiş glutasyonun (GSSG) tekrar indirgenmiş şekle dönüşmesi gerekir. Glutasyon redüktaz (GR) NADPH+H⁺ varlığında oksitlenmiş glutasyonun indirgenme reaksiyonunu katalizler.



Bu oksidoredüksiyon enziminin koenzimi NADPH, prostetik grubu FAD'dır. Dimerik bir yapıda bulunan GR'nin molekül ağırlığı yaklaşık 104.800 daltondur. Sitozol ve mitokondride lokalizedir. GR bir flavin enzim olup FAD ile aktive edilir. GR oksitlenmiş glutasyonun indirgenme reaksiyonunu katalizlerken, elektronlar önce NADPH'dan FAD yolu ile GSH'ye daha sonra ise iki sistein kalıntısı arasındaki disülfid bağlarına en son ise oksitlenmiş glutatyona transfer olmaktadır (Meister ve ark., 1983).

Stoplazmik ara ürünler olan NADPH ve GSH konsantrasyonları hücrenin redoks durumunun akut değişikliklerini yansıtır. NADPH+H⁺/NADP⁺ ve GSH/GSSG oranlarındaki değişiklikler akut pro-oksidan stres ile antioksidan savunma arasındaki dengesizliğin belirtisidir.

1.2.6.5. Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz

Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz (G6PD) enziminin yapı ve sentezini kontrol eden genler X kromozomu üzerinde bulunurlar. Enzimin N ucundaki aminoasit terminalinde piroglutamik asit, karboksi terminalinde ise glisin bulunur (Wintrobe ve ark., 1991).

Heksoz monofosfat yolunun kilit enzimi olarak bilinen G6PD enzimi reaksiyonu kataliz ederken kofaktör olarak NADP⁺ kullanmaktadır. Reaksiyon sonunda üretilen NADPH ise hücre zarının oksidan ajanlara karşı korunmasında görev alan GSH yapımında ve diğer birçok reaksiyonda (methemoglobinin hemoglobine dönüşmesinde,

birçok aminoasidin yapımında, pentozların sentezinde vs.) görev almaktadır (Wintrobe ve ark., 1991; Choremis ve ark., 1966).

Birçok indirgeyici biyosentez tepkimelerinin oluşmasında, sülfidril gruplarının sürekliliğinin sağlanmasında, serbest radikallerin ve peroksitlerin detoksifikasyonun da rol oynayan redükte glutatyonun oluşumunda redükleyici kaynağı görevini üstlenen NADPH temel olarak pentoz fosfat yolunun ilk enzimi G6PD tarafından glukoz-6 fosfatın (G6P) 6-fosfo glukonata (6PG) dönüşümü sırasında oluşmaktadır.

Enzim, G6P'dan 6PG'ya dönüşümünü sağlarken NADP^{+} 'nin redükte NADP^{+} ($\text{NADPH}+\text{H}^{+}$) haline geçmesini sağlar ve meydana gelen NADPH hücreye GSH sağlamak için gerekli olup, aynı zamanda birçok enzimatik olayın düzenlenmesinde görev alır. GSSG'yi GSH'a çeviren glutatyon redüktaz enzimi bu olaylar zincirini katalize ederken NADPH'ı koenzim olarak kullanır. G6PD enzim eksikliği sonucu NADPH'ın yetersiz üretimi neticesinde GSH üretimi azalacağından hücre oksidatif hasara karşı kendini koruyamayacak ve hemoliz başlayacaktır (Öztürk, 1996).

G6PD eksikliğine bağlanan patolojik bulgulardan bazıları akut hemolitik anemi, favizm, kanser insidansında artış, kan basıncı değişiklikleri ve mental bozukluklardır (Takizawa ve ark., 1986).

Biz de bu bilgilerden yola çıkarak çeşitli kanserlerde glutatyon sisteminde oluşabilecek değişiklikleri tesbit etmek, bu konudaki akademik literatüre katkıda bulunmak amacıyla bu çalışmayı gerçekleştirdik.

2. MATERYAL VE METOD

Bu çalışma 2010 – 2012 tarihleri arasında Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü Araştırma Laboratuvar'larında yapılmıştır. Araştırmamızda kullanılan kan örnekleri CÜ Tıp Fakültesi Hematoloji ve Onkoloji Bölümüne gelen hastalardan toplanmıştır. Bu çalışmaya ait etik kurul raporu, 07.07.2010 tarih ve 2010/109 karar nolu Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmaları Değerlendirme Kurulu kararı ile onaylanmıştır (EK-1).

2.1. Çalışmada Kullanılan Kimyasal ve Sarf Malzemeleri

- NADPH (AppliChem, Almanya)
- NADP (AppliChem, Almanya)
- KH_2PO_4 (Carlo Erba, İtalya)
- K_2HPO_4 (Carlo Erba, İtalya)
- Na_2HPO_4 (Merck, Almanya)
- NaH_2PO_4 (Merck, Almanya)
- NaHCO_3 (Merck, Almanya)
- GSSG (AppliChem, Almanya)
- GSH (Sigma, ABD)
- FAD (AppliChem, Almanya)
- Etanol (Merck, Almanya)
- Hidrojen Peroksit (Merck, Almanya)
- Dipotasyum EDTA (Molekula)
- Disodyum EDTA (Merck, Almanya)
- Tris hidroksimetil aminometan (Multicell)
- Hemoglobin (Sigma, ABD)
- Potasyum ferrisiyanid (Sigma, ABD)
- Potasyun siyanid (Sigma, ABD)
- MgCl_2 (Merck, Almanya)
- Glukoz-6 fosfat (Sigma, ABD)
- NaCl (Carlo Erba, İtalya)
- HCl (Carlo Erba, İtalya)
- NaOH (Merck, Almanya)
- 5-Sülfo salisilik asit (Sigma, ABD)

- Çift distile su (Merck, Almanya)
- Sodyum azide (AppliChem, Almanya)
- Glutasyon redüktaz (Sigma, ABD)
- 5' 5' dithio-bis (2-nitrobenzoik asit) (Sigma, ABD)
- 1-kloro-2,4 dinitro benzen (CDNB) (ABCR)
- KCI (Merck, Almanya)
- Acrylic küvet
- Kuartz küvet (Q-401)
- Pipet uçları (1000 µl, 100 µl, 10 µl'lik)
- Antikoagülanlı kan toplama tüpü (K₃ EDTA'lı)
- Eppendorf tüp (0,5 µl, 1,5 µl, 2 µl'lik)
- Parafilm (50×75 mm)
- Kan taşıma çantası

2.2. Çalışmada Kullanılan Cihazlar

- Spektrofotometre (Cecil 5000 Series, CE 5502)
- Soğutmalı santrifüj (Selecta Centrifiger BL II)
- Hassas terazi (Dikomsan)
- pH Metre (AZ pH/MV meter)
- Vorteks (Fisons)
- Manyetik karıştırıcı (Chiltern Hotplate Magnetic Stimer HS31)
- Etüv (Jeio Tech Versiyon 5.0)
- Derin dondurucu (Arçelik 2020 MD)
- Buzdolabı (Arçelik 4263 N)
- Ayarlanabilir otomatik pipetler (IntroLab, 2-20 µl, 20-200 µl, 100-1000 µl)

2.3. Kan Örneklerinin Alınması

Hasta ve kontrol grubunu oluşturan bireylerden 3 ml venöz kan örnekleri K₃-EDTA içeren tüplere alınıp, tüpler +4°C'de laboratuvara nakledildi. Laboratuvara ulaşan numunelerde eritrosit izolasyon işlemine vakit kaybedilmeden başlandı. Kan örnekleri +4°C'de 2500 xg'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant alındıktan sonra tüpte kalan şekilli elemanlar üzerine hacminin 3 katı kadar izotonik (% 0,9'luk) NaCl solüsyonu ilave edildi. Yavaşça alt üst edilerek eritrositler yıkandı ve tekrar +4°C'de 2500 xg'de

10 dakika santrifüj edildi. Bu işlem 3 kez tekrarlandı. Daha sonra eritrositler 1:5 v/v oranında distile su eklenerek donma çözme yöntemi ile hemoliz edildi. Bu işlemden sonra hemolizat +4°C'de 22.000 xg'de 60 dakika santrifüj edilerek hücre zarlarının ayrılması sağlandı. Oluşan eritrosit hemolizatları bütün analizlerde kullanılmak üzere 1,5 ml'lik eppendorf tüplere bölünerek -20°C'de saklandı (Canbay ve ark., 2002).

2.4. Hemoglobin Miktarı Tayini

Prensip: Ferrisiyanür, hemoglobindeki demiri oksitleyerek methemoglobine dönüştürür. Methemoglobin de siyanür varlığında 540 nm'de absorpsiyon piki veren siyanomethemoglobine dönüşür.

Çözeltiler

- Drapkin çözeltisi: 0,20 g potasyum ferrisiyanür, 0,05 g potasyum siyanür ve 1 g sodyum bikarbonat tartılır. Son hacim 1 L'ye distile su ile tamamlanır.
- Hb Standardı: 60 mg/dl
- % 0,9'luk NaCl

Yöntem

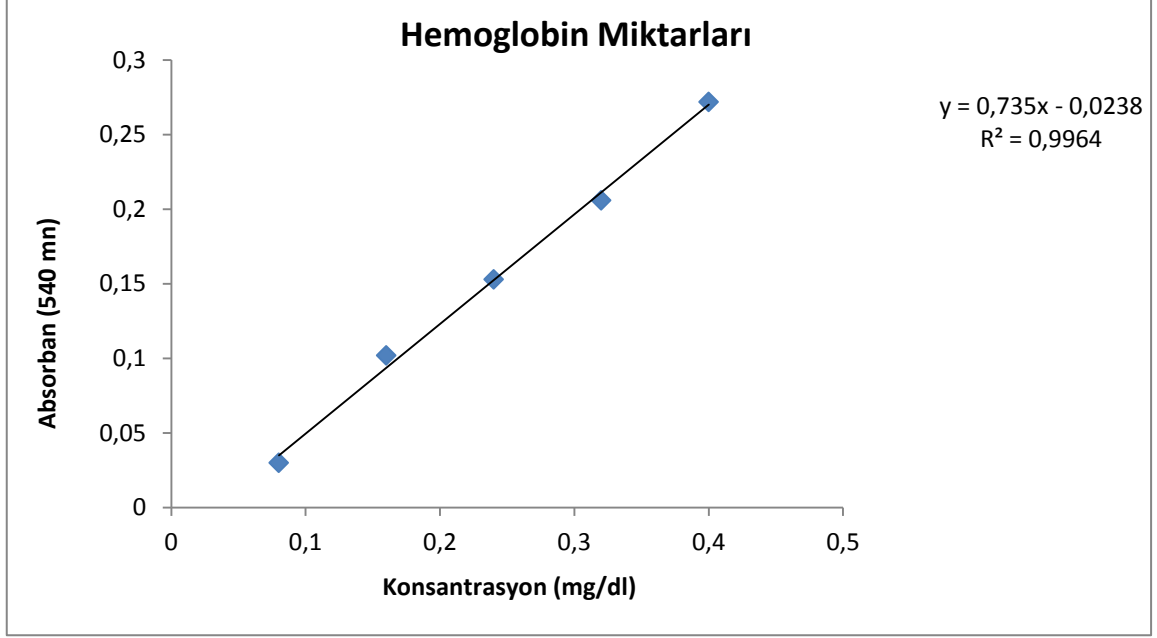
Ayrıçlar deney tüplerine tabloda belirtilen oranlarda ilave edilir.

Çözeltiler (ml)	St ₁	St ₂	St ₃	St ₄	St ₅	Kör	Örnek
Drapkin çöz.	5	5	5	5	5	5	5
Standart (60 mg/dl)	2	4	6	8	10	0	-
Hemolizat	-	-	-	-	-	-	20 µl
Serum fizyolojik	8	6	4	2	0	10	9,980

Tüpler karıştırılır. 15 dakika oda sıcaklığında inkübe edilir. 540 nm'de absorbansları ölçülür. Çizilecek standart grafikten yararlanılarak hemolizatların hemoglobin seviyeleri belirlenir (Umudum ve ark., 2009).

Hesaplama

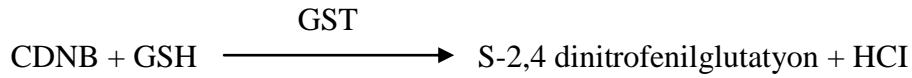
Aşağıdaki hemoglobin standartlarından elde edilen grafikten yararlanılarak hemoglobin miktarları hesaplanmıştır.



Şekil 2.1. Hemoglobin standart eğrisi

2.5. Glutasyon S-Transferaz Aktivitesi

Prensip: GST, 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB) ile glutasyonun –SH grubu arasındaki tepkimeyi katalizler. Enzim aktivitesi 340 nm’de 37°C’de GSH ve CDNB kullanılarak dakikada oluşan S-2,4 dinitrofenilglutasyonun 1 µmol’ünü katalizleyen enzim miktarının ölçülmesiyle belirlenir.



Çözeltiler

- 20 mM GSH
- 20 mM CDNB
- 0,2 M Sodyum Fosfat Tamponu (pH 6,5)

Yöntem

Ayrıraçlar 3 ml'lik küvetlere tabloda belirtilen oranlarda ilave edilir.

Çözeltiler	Kör (µl)	Örnek (µl)
Sodyum Fosfat Tamponu	1000	1000
GSH	100	100
Hemolizat	—	40
Saf Su	800	760
CDNB	100	100

340 nm'de 5 dakika boyunca absorbans artışı izlenir (Antmen, 2005).

Hesaplama

$$\text{GST Aktivitesi (U/ml)} = \frac{\Delta\text{OD/ dak}}{10} \times \frac{V_{\text{Toplam}}}{V_{\text{Örnek}}}$$

ΔOD = Optik Dansite Farkı

ϵ_{340} = 10 L/mol/cm (CDNB'nin molar absorpsiyon katsayısı)

V_{toplam} = Toplam Hacim

$V_{\text{örnek}}$ = Hemolizat Hacmi

$$\text{GST Spesifik Aktivite (U/g Hb)} = \frac{\text{GST Aktivitesi}}{\text{Hb Değeri}}$$

2.6. Glutasyon Peroksidaz Aktivitesi

Prensip: GPx, hidrojen peroksit varlığında GSH'ın GSSG'ye yükseltgenmesini kataliz eder. Hidrojen peroksidin bulunduğu ortamda GPx'in oluşturduğu GSSG, glutasyon redüktaz ve NADPH yardımıyla GSH'a indirgenir. GPx aktivitesi, NADPH'ın NADP⁺'ya yükseltgenmesi sırasında absorbans farkının 340 nm'de okunmasıyla ölçülür.

Çözeltiler

- 150 mM GSH
- 1 M NaN₃
- 3mM NADPH
- Glutasyon Redüktaz (seyreltme yapılmaksızın kullanılır)
- 50 mM H₂O₂
- 50 mM Potasyum Fosfat Tamponu (pH 7,5)

Yöntem

Ayrıracılar 3 ml'lik küvetlere tabloda belirtilen oranlarda ilave edilir.

Çözeltiler	Kör (µl)	Örnek (µl)
Potasyum Fosfat Tamponu	2680	2640
GSH	100	100
NADPH	100	100
GSH-Redüktaz	10	10
NaN ₃ (sodyum azid)	10	10
Hemolizat	—	40
Tüpler iyice karıştırılır. 30 dakika oda sıcaklığında inkübe edilir.		
H ₂ O ₂	100	100

340 nm'de numunelerin absorbansındaki azalış 5 dakika süreyle izlenir (Nural, 2005)

Hesaplama

$$\text{GPx aktivitesi (U/ml)} = \frac{\Delta\text{OD/ dak}}{6,22 \times 10^3} \times \frac{V_{\text{Toplam}}}{V_{\text{Örnek}}}$$

ΔOD = Optik Dansite Farkı

$\epsilon_{340} = 6,22 \times 10^3$ L/mol/cm (NADPH'nin molar absorpsiyon katsayısı)

V_{toplam} = Toplam Hacim

$V_{\text{örnek}}$ = Hemolizat Hacmi

$$\text{GPx Spesifik Aktivite (U/g Hb)} = \frac{\text{GPx Aktivitesi}}{\text{Hb Değeri}}$$

2.7. Glutasyon Redüktaz Aktivitesi

Prensip: Glutasyon redüktaz, NADPH varlığında GSSG'nin GSH'a indirgenmesini katalizler. GR aktivitesi, NADPH'ın NADP⁺'a yükseltgenmesi sırasındaki absorbans farkının 340 nm dalga boyunda okunması esasına dayanır.

Çözeltiler

- 0,1 M Potasyum Fosfat Tamponu (pH 7,4)
- 3 mM NADPH
- 7,5 mM GSSG
- 0,25 mM FAD⁺
- 80 mM EDTA

Yöntem

Ayıraçlar 3 ml'lik küvetlere tabloda belirtilen oranlarda ilave edilir.

Çözeltiler	Kör (µl)	Örnek (µl)
FAD ⁺	100	100
Potasyum Fosfat Tamponu	2050	2000
EDTA	50	50
Hemolizat	—	50
GSSG	100	100
8 dakika 37 °C'de inkübe edilir.		
NADPH	100	100

340 nm'de numunelerin absorbansındaki azalış 10 dakika süreyle izlenir (Saygılı, 1997)

Hesaplama

$$\text{GR aktivitesi (U/ml)} = \frac{\Delta\text{OD/ dak}}{6,22 \times 10^3} \times \frac{V_{\text{Toplam}}}{V_{\text{Örnek}}}$$

ΔOD = Optik Dansite Farkı

ϵ_{340} = $6,22 \times 10^3$ L/mol/cm (NADPH'ın molar absorpsiyon katsayısı)

V_{toplam} = Toplam Hacim

$V_{\text{örnek}} = \text{Hemolizat Hacmi}$

$$\text{GR Spesifik Aktivite (U/g Hb)} = \frac{\text{GPx Aktivitesi}}{\text{Hb Değeri}}$$

2.8. Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz Aktivitesi

Prensip: G6PD enziminin G6P'dan 6PG oluşturulmasında NADP'nin indirgenerek NADPH oluşturması sırasında meydana gelen reaksiyon 340 nm dalga boyunda izlenir.

Çözeltiler

- 1 M Tris-HCl 5mM EDTA (pH 8.0)
- 0,1 M MgCl₂
- 2 mM NADP⁺
- 6 mM Glukoz 6 Fosfat

Yöntem

Ayırıklar 3 ml'lik küvetlere tabloda belirtilen oranlarda ilave edilir.

Çözeltiler	Kör (μl)	Örnek (μl)
Tris-HCl-EDTA tamponu	300	300
MgCl ₂	300	300
NADP ⁺	500	500
Saf Su	1400	1340
Hemolizat	—	60
37 °C'de 10 dakika inkübe edilir.		
G6P	500	500

340 nm'de numunelerin absorbansındaki artış 10 dakika süreyle izlenir (Umudum ve ark., 2009).

Hesaplama

$$\text{G6PD aktivitesi (U/ml)} = \frac{\Delta\text{OD}/\text{dak}}{6,22 \times 10^3} \times \frac{V_{\text{Toplam}}}{V_{\text{Örnek}}}$$

$\Delta\text{OD} = \text{Optik Dansite Farkı}$

$\epsilon_{340} = 6,22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$ (NADPH'in molar absorpsiyon katsayısı)

$V_{\text{toplam}} = \text{Toplam Hacim}$

$V_{\text{örnek}} = \text{Hemolizat Hacmi}$

$$\text{G6PD Spesifik Aktivite (U/g Hb)} = \frac{\text{GPx Aktivitesi}}{\text{Hb Değeri}}$$

2.9. Redükte Glutasyon Miktarı

Prensip: GSH, DTNB tarafından okside edilirken, ortamda bulunan GSSG ve diğer çözüner tiyol bileşikleri ile GSH'ın oluşturduğu disülfid bağlanmaları GR enzimi varlığında NADPH'in oksitlenmesi ile GSH'a dönüştürülmektedir. Meydana gelen sarı renkli 2-nitro-5-tiyobenzoik asitin miktarı 412 nm'de ölçülmektedir. Elde edilen absorbans değerleri standart GSH grafiği ile derişim değerlerine dönüştürülmektedir.

Çözeltiler

- 6,3 mM EDTA içeren 143 mM sodyum fosfat tamponu (pH 7.5)
- 0,3 mM NADPH
- 6 mM DTNB
- 50 U/ml Glutasyon Redüktaz
- 10 nmol/ml'lik GSH

Yöntem

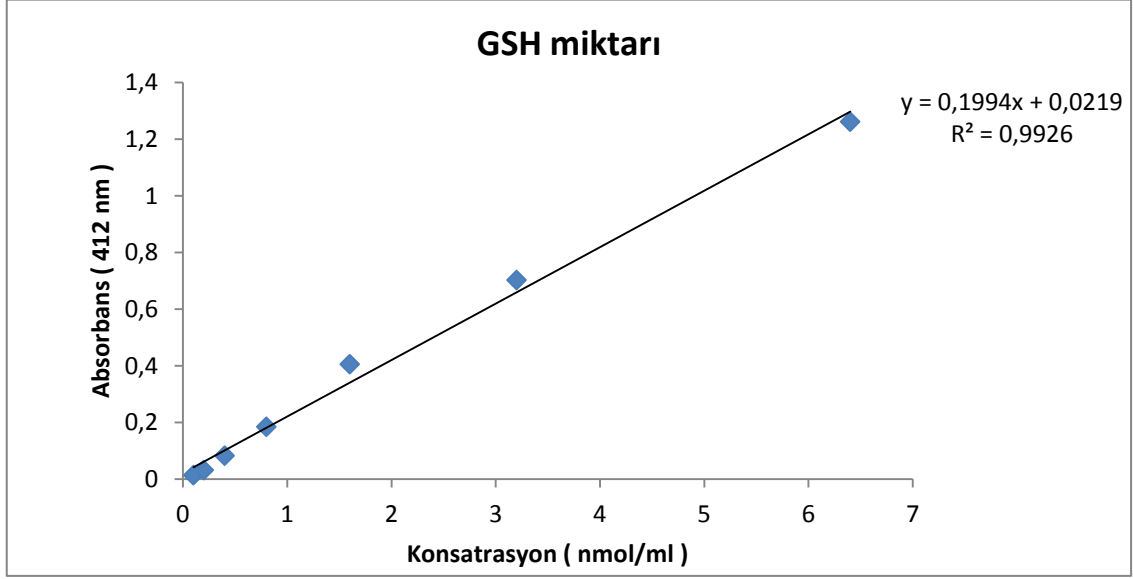
Ayrıçlar 3 ml'lik küvetlere tabloda belirtilen oranlarda ilave edilir.

Çözeltiler	Kör (µl)	Örnek (µl)
Sodyum Fosfat Tamponu	1400	1400
NADPH	200	200
DTNB	200	200
Hemolizat	—	50
Saf Su	1180	1130
Çalkalanır ve 30 °C'de 3 dakika inkübe edilir.		
Glutasyon Redüktaz	20	20

Çalkalanarak 412 nm dalga boyunda, 30 °C'de, 0. ve 3. dakikalardaki absorbansları kaydedilir. Sonuçlar GSH ile hazırlanan standart eğriden değerlendirilir (Piner, 2005).

Hesaplama

Çalışma tamponu ile 10 nmol/ml'lik GSH stok çözeltisi hazırlanır. Hazırlanan bu çözeltiden 0,1 nmol/ml, 0,2 nmol/ml, 0,4 nmol/ml, 0,8 nmol/ml, 1,6 nmol/ml, 3,2 nmol/ml, 6,4 nmol/ml'lik derişimlerde seyreltmeler yapılır. Bunlar çalışma standartlarının hazırlanmasında kullanılır. Elde edilen absorbans değerleri standart grafik kullanılarak derişim değerlerine dönüştürülür.



Şekil 2.2. GSH'ın Standart Grafiği

2.10. Okside Glutasyon Miktarı

Prensip: Okside glutasyon miktarı, total GSH miktarının ölçülmesinde kullanılan yöntem ile belirlenmektedir. Farklı olarak, 5-sülfosalisilik asit homojenatı kullanımdan önce aşığıdaki gibi 2-vinilpiridin ile türevlendirilmektedir. GSH'ın 2-vinilpiridin ile türevlendirilmesiyle sadece GSSG miktarı ölçülmektedir.

Örnek Hazırlanması

100 µl örnek üzerine 2 µl 2-vinilpiridin eklenir ve pH 7.0'ye ayarlanır. Örnekler oda ısısında 1 saat inkübe edilir.

Çözeltiler

- 6,3 mM EDTA içeren 143 mM sodyum fosfat tamponu (pH 7.5)
- 0,3 mM NADPH
- 6 mM DTNB
- 50 U/ml Glutasyon Redüktaz

Yöntem

Ayrıçalar 3 ml'lik küvetlere tabloda belirtilen oranlarda ilave edilir.

Çözeltiler	Kör (µl)	Örnek (µl)
Sodyum Fosfat Tamponu	1400	1400
NADPH	200	200
DTNB	200	200
Hemolizat	—	50
Saf Su	1180	1130
Çalkalanır ve 30 °C'de 3 dakika inkübe edilir.		
Glutasyon Redüktaz	20	20

Çalkalanarak 412 nm dalga boyunda, 30 °C'de, 0. ve 3. dakikalardaki absorbanları kaydedilir. Sonuçlar GSH ile hazırlanan standart eğriden değerlendirilir (Piner, 2005).

Hesaplama

Elde edilen absorban değerleri total GSH için hazırlanan standart grafik kullanılarak derişim değerlerine dönüştürülür.

Bulgular SPSS (Ver. 14.0) programına yüklenerek verilerin değerlendirilmesinde varyans analizi, Tukey Testi, Kuruskal-Wallis Testi, Man Whidney U Testi ve korelasyon analizi kullanılmış ve yanılma düzeyi 0,05 olarak alınmıştır.

3. BULGULAR

Yapılan bu çalışmada kolon, mide ve kan kanseri hastalarında eritrosit GST, GPx, GR, G6PD, GSH, GSSG ve GSH/GSSG düzeyleri araştırılmış ve iki tekrar sonrasında elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Kontrol grubu (n=30) , kolon kanseri (n=30), mide kanseri (n=30) ve kan kanseri (n=30) hastalarının çalışılan değerleri ortalama (\bar{X}) ve standart sapma (SD) olarak $\bar{X} \pm SD$ şeklinde tablo 3’de gösterilmiştir.

Kontrol grubunda GST aktivitesi ortalama $0,59 \pm 0,13$ U/gHb, GPx aktivitesi ortalama $10,52 \pm 2,22$ U/gHb, GR aktivitesi ortalama $0,86 \pm 0,18$ U/gHb, G6PD aktivitesi ortalama $7,12 \pm 1,63$ U/gHb, GSH değeri ortalama $11,43 \pm 1,9$ nmol/gHb, GSSG değeri ortalama $3,09 \pm 0,48$ nmol/gHb ve GSH/GSSG değeri ortalama $3,86 \pm 1,3$ olarak saptanmıştır.

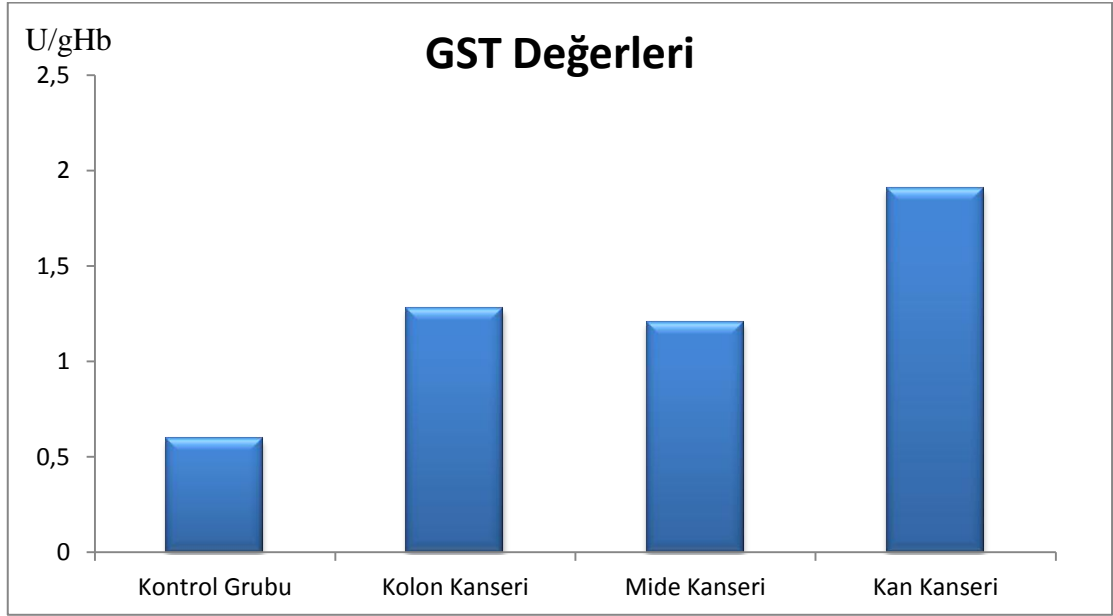
Kolon kanserli bireylerde GST aktivitesi ortalama $1,28 \pm 0,23$ U/gHb, GPx aktivitesi ortalama $5,64 \pm 1,49$ U/gHb, GR aktivitesi ortalama $1,41 \pm 0,39$ U/gHb, G6PD aktivitesi ortalama $4,07 \pm 0,93$ U/gHb, GSH değeri ortalama $6,96 \pm 1,45$ nmol/gHb, GSSG değeri ortalama $7,20 \pm 1,17$ nmol/gHb ve GSH/GSSG değeri ortalama $1,04 \pm 0,49$ olarak saptanmıştır.

Mide kanserli bireylerde GST aktivitesi ortalama $1,20 \pm 0,30$ U/gHb, GPx aktivitesi ortalama $5,80 \pm 1,40$ U/gHb, GR aktivitesi ortalama $1,36 \pm 0,33$ U/gHb, G6PD aktivitesi ortalama $5,55 \pm 1,26$ U/gHb, GSH değeri ortalama $7,66 \pm 1,19$ nmol/gHb, GSSG değeri ortalama $6,33 \pm 1,18$ nmol/gHb ve GSH/GSSG değeri ortalama $1,29 \pm 0,46$ olarak saptanmıştır.

Kan kanserli bireylerde GST aktivitesi ortalama $1,90 \pm 0,47$ U/gHb, GPx aktivitesi ortalama $6,07 \pm 1,47$ U/gHb, GR aktivitesi ortalama $1,04 \pm 0,18$ U/gHb, G6PD aktivitesi ortalama $3,04 \pm 0,79$ U/gHb, GSH değeri ortalama $7,51 \pm 1,13$ nmol/gHb, GSSG değeri ortalama $7,79 \pm 0,80$ nmol/gHb ve GSH/GSSG değeri ortalama $0,98 \pm 0,22$ olarak saptanmıştır.

Gruplara ait GST değerleri karşılaştırıldığında gruplar arası farklılık tablo 3’de gösterildiği gibi önemli bulunmuştur ($p < 0,05$). GST aktivitesi kanser hastalarında kontrol grubuna göre artmıştır.

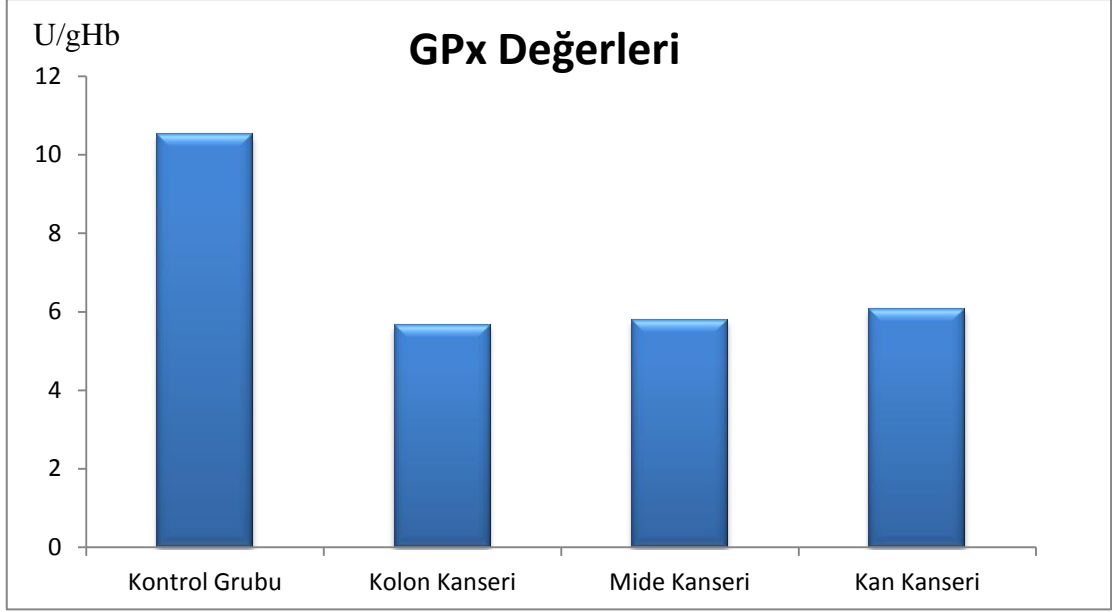
Gruplara ait değerler ikişerli karşılaştırıldığında tablo 3’de gösterildiği gibi, kontrol grubuyla kolon, mide ve kan kanserleri arasındaki farklılık, kolon kanseri ile kan kanseri arasındaki farklılık, mide kanseri ile kan kanseri arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunurken ($p < 0,05$), kolon kanseri ile mide kanseri arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p > 0,05$).



şekil 3.1. Hasta ve kontrol gruplarına ait GST değerleri

Gruplara ait GPx değerleri karşılaştırıldığında gruplar arası farklılık tablo 3’de gösterildiği gibi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,05$). GPx aktivitesi kanser hastalarında kontrol grubuna göre azalmıştır.

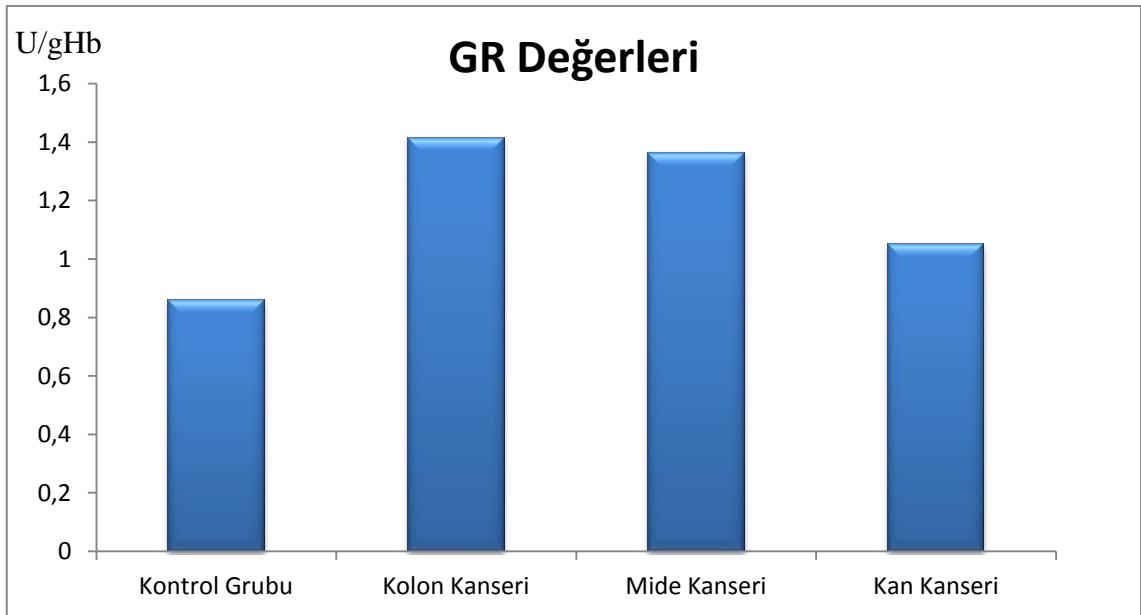
Gruplara ait değerler ikişerli karşılaştırıldığında tablo 3’de gösterildiği gibi, kontrol grubu ile kolon, mide ve kan kanserleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunurken ($p < 0,05$), diğer kanser türleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p > 0,05$).



Şekil 3.2. Hasta ve kontrol gruplarına ait GPx değerleri

Gruplara ait GR değerleri karşılaştırıldığında gruplar arası farklılık tablo 3’de gösterildiği gibi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). GR aktivitesi kanser hastalarında kontrol grubuna göre artmıştır.

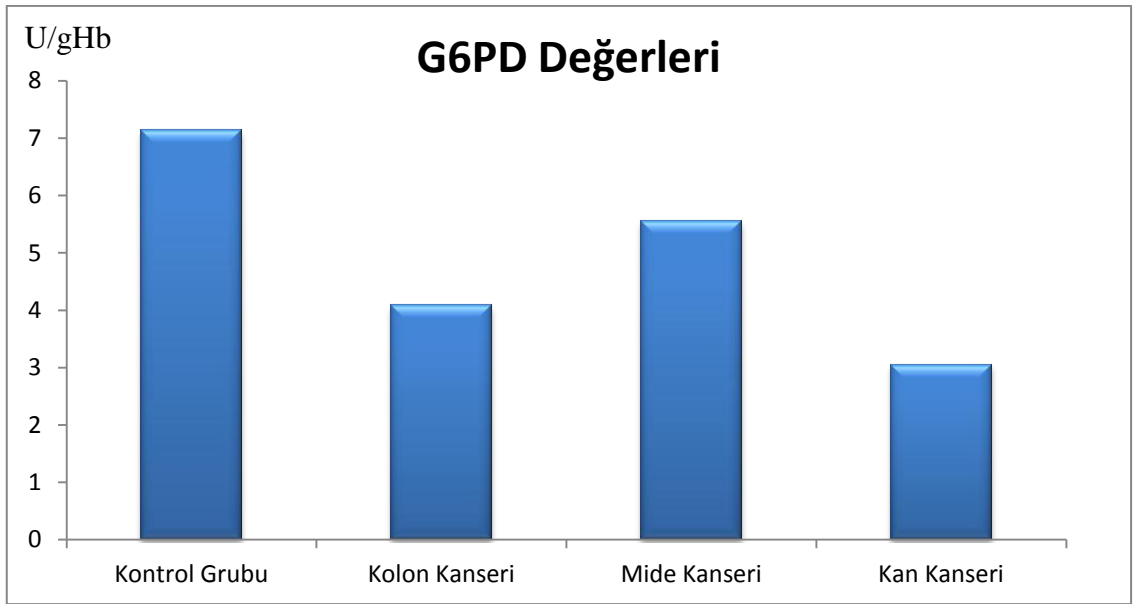
Gruplara ait değerler ikişerli karşılaştırıldığında tablo 3’de gösterildiği gibi, kontrol grubu ile kolon ve mide kanserleri, kolon kanseri ile kan kanseri, mide kanseri ile kan kanseri arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunurken ($p < 0,05$), kontrol grubu ile kan kanseri, kolon kanseri ile mide kanseri arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p > 0,05$).



Şekil 3.3. Hasta ve Kontrol Gruplarına ait GR değerleri

Gruplara ait G6PD değerleri karşılaştırıldığında gruplar arası farklılık tablo 3’de gösterildiği gibi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,05$). G6PD aktivitesi kanser hastalarında kontrol grubuna göre azalmıştır.

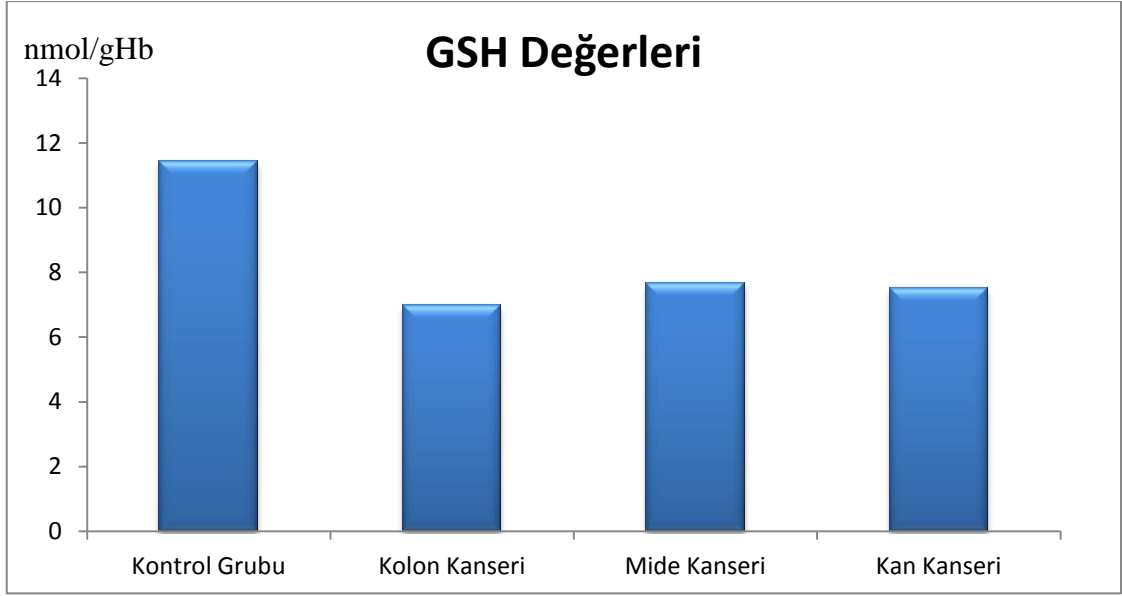
Gruplara ait değerler ikişerli karşılaştırıldığında tablo 3’de gösterildiği gibi, kontrol grubu ile kolon, mide ve kan kanserleri arasındaki farklılık, kolon kanseriyle mide ve kan kanserleri arasındaki farklılık, mide kanseriyle kan kanseri arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,05$).



şekil 3.4. Hasta ve kontrol gruplarına ait G6PD değerleri

Gruplara ait GSH değerleri karşılaştırıldığında gruplar arası farklılık tablo 3’de gösterildiği gibi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,05$). GSH miktarı kanser hastalarında kontrol grubuna göre azalmıştır.

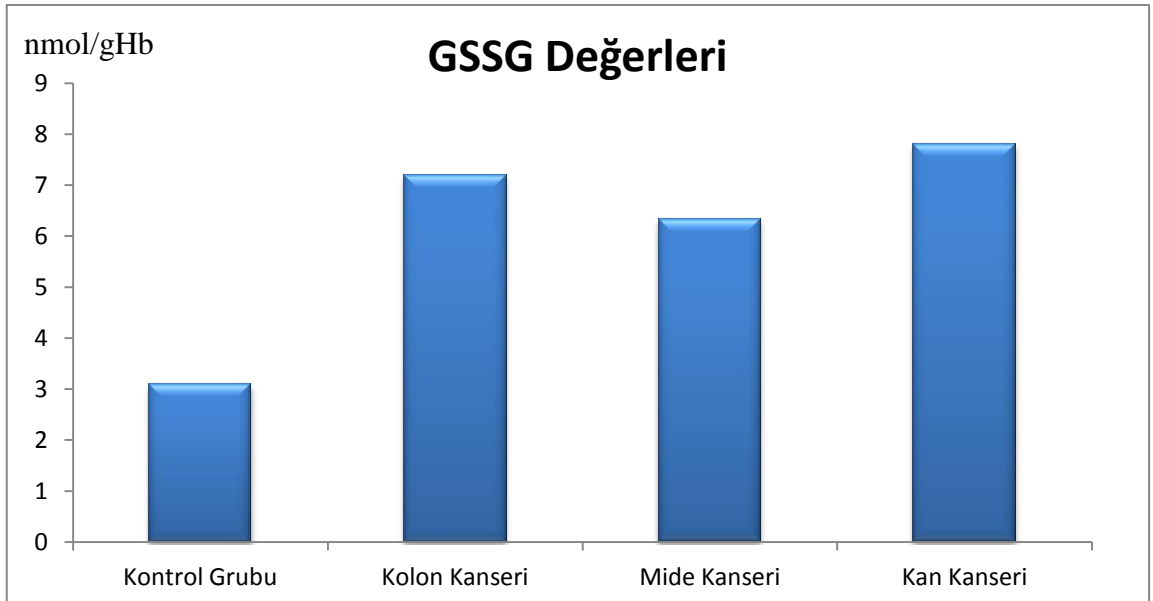
Gruplara ait değerler ikişerli karşılaştırıldığında tablo 3’de gösterildiği gibi, kontrol grubu ile kolon, mide ve kan kanserleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunurken ($p < 0,05$), diğer kanser türleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p > 0,05$).



Şekil 3.5. Hasta ve kontrol gruplarına ait GSH değerleri

Gruplara ait GSSG değerleri karşılaştırıldığında gruplar arası farklılık tablo 3’de gösterildiği gibi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,05$). GSSG miktarı kanser hastalarında kontrol grubuna göre artmıştır.

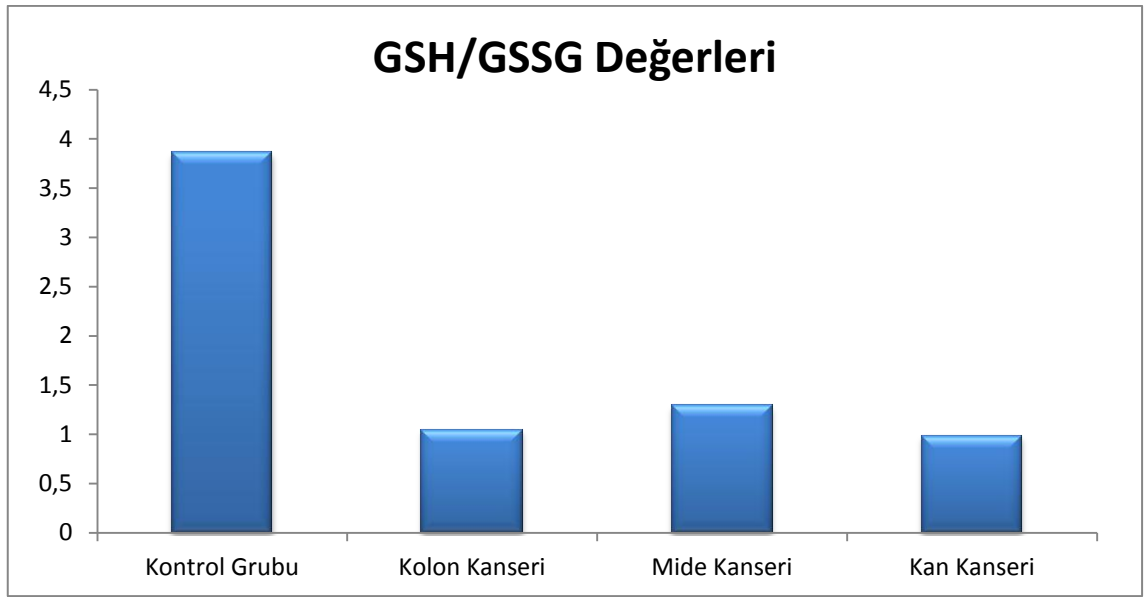
Gruplara ait değerler ikişerli karşılaştırıldığında tablo 3’de gösterildiği gibi, kontrol grubu ile kolon, mide ve kan kanserleri arasındaki farklılık, kolon kanseri ile mide kanseri arasındaki farklılık, mide kanseri ile kan kanseri arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunurken ($p < 0,05$), kolon kanseri ile kan kanseri arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p > 0,05$).



Şekil 3.6. Hasta ve kontrol gruplarına ait GSSG değerleri

Gruplara ait GSH/GSSG oranı karşılaştırıldığında gruplar arasındaki farklılık tablo 3’de gösterildiği gibi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). GSH/GSSG oranı kanser hastalarında kontrol grubuna göre azalmıştır.

Gruplara ait değerler ikişerli karşılaştırıldığında tablo 3’de gösterildiği gibi, kontrol grubu ile kolon, mide ve kan kanserleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunurken ($p < 0,05$), diğer kanser türleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p > 0,05$).



Şekil 3.7. Hasta ve kontrol gruplarına ait GSH/GSSG değerleri

Her bir grupta cinsiyete göre bütün parametreler tablo 4’de gösterildiği gibi istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur ($p > 0,05$).

Kontrol grubunda sigara içme durumuna göre bireylerin GPx değerleri karşılaştırıldığında tablo 5’de gösterildiği gibi farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,05$). Yine kontrol grubunda sigara içme durumuna göre diğer parametreler karşılaştırıldığında farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p > 0,05$).

Kolon, mide ve kan kanseri olan bireylerde sigara içme durumuna göre bütün parametreler tablo 5’de gösterildiği gibi istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur ($p > 0,05$).

Sigara kullanan kontrol grubu bireylerle sigara kullanan kolon ve mide kanserli bireyler karşılaştırıldığında bütün parametreler tablo 6’da gösterildiği gibi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$).

Sigara kullanan kontrol grubu bireylerle sigara kullanan kan kanserli bireyler karşılaştırıldığında GR hariç diğer parametreler tablo 6'da gösterildiği gibi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$).

Sigara kullanmayan kontrol grubu bireylerle sigara kullanmayan kolon, mide ve kan kanserli bireyler karşılaştırıldığında bütün parametreler tablo 6'da gösterildiği gibi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$).

Her bir hasta grubunda hastalığın evresine göre bütün parametreler tablo 7'de gösterildiği gibi istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur ($p > 0,05$).

Kolon kanseri olan bireylerde tedavi şekline göre bireylerin GPx değerleri karşılaştırıldığında farklılık tablo 8'de gösterildiği gibi, istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,05$).

Gruplara ait değerler ikişerli karşılaştırıldığında tablo 8'de gösterildiği gibi, tedavi almayanlarla kemoterapi alanlar arasında, kemoterapi alanlarla kemoterapi ve radyoterapi alanlar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$).

Kolon kanserli bireylere tedavi şekline göre bakıldığında tablo 8'de gösterildiği gibi, GPx hariç diğer parametreler yönünden anlamsız bulunmuştur ($p > 0,05$).

Mide kanseri olan bireylerde tedavi şekline göre bütün parametreler tablo 8'de gösterildiği gibi istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur ($p > 0,05$).

Kan kanseri olan bireylere sadece kemoterapi tedavisi uygulandığından dolayı herhangi bir istatistiksel karşılaştırma yapılamamıştır (Tablo 8).

Her bir grupta yaş ile ölçülen parametreler arasındaki ilişki katsayıları istatistiksel olarak anlamsızdır ($p > 0,05$).

Tablo 3. Ölçülen parametrelere göre grupların karşılaştırılması

Parametreler	GST	GPx	GR	G6PD	GSH	GSSG	GSH/GSSG
	(U/gHb)	(U/gHb)	(U/gHb)	(U/gHb)	(nmol/gHb)	(nmol/gHb)	
	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
Kontrol Grubu	0,59 ± 0,13	10,52 ± 2,22	0,86 ± 0,18	7,12 ± 1,63	11,43± 1,9	3,09 ± 0,48	3,86 ± 1,3
Kolon Kanseri	1,28 ± 0,23	5,64 ± 1,49	1,41 ± 0,39	4,07 ± 0,93	6,96 ± 1,45	7,20 ± 1,17	1,04 ± 0,49
Sonuç	P = 0,001	P = 0,001	P = 0,001	P = 0,001	P = 0,001	P = 0,001	P = 0,001
Kontrol Grubu	0,59 ± 0,13	10,52 ± 2,22	0,86 ± 0,18	7,12 ± 1,63	11,43± 1,9	3,09 ± 0,48	3,86 ± 1,3
Mide Kanseri	1,20 ± 0,30	5,80 ± 1,40	1,36 ± 0,33	5,55 ± 1,26	7,66 ± 1,19	6,33 ± 1,18	1,29 ± 0,46
Sonuç	P = 0,001	P = 0,001	P = 0,001	P = 0,001	P = 0,001	P = 0,001	P = 0,001
Kontrol Grubu	0,59 ± 0,13	10,52 ± 2,22	0,86 ± 0,18	7,12 ± 1,63	11,43± 1,9	3,09 ± 0,48	3,86 ± 1,3
Kan Kanseri	1,90 ± 0,47	6,07 ± 1,47	1,04 ± 0,18	3,04 ± 0,79	7,51 ± 1,13	7,79 ± 0,80	0,98 ± 0,22
Sonuç	P = 0,001	P = 0,001	P = 0,061	P = 0,001	P = 0,001	P = 0,001	P = 0,001
Kolon Kanseri	1,28 ± 0,23	5,64 ± 1,49	1,41 ± 0,39	4,07 ± 0,93	6,96 ± 1,45	7,20 ± 1,17	1,04 ± 0,49
Mide Kanseri	1,20 ± 0,30	5,80 ± 1,40	1,36 ± 0,33	5,55 ± 1,26	7,66 ± 1,19	6,33 ± 1,18	1,29 ± 0,46
Sonuç	P = 0,787	P = 0,982	P = 0,901	P = 0,001	P = 0,249	P = 0,004	P = 0,568
Kolon Kanseri	1,28 ± 0,23	5,64 ± 1,49	1,41 ± 0,39	4,07 ± 0,93	6,96 ± 1,45	7,20 ± 1,17	1,04 ± 0,49
Kan Kanseri	1,90 ± 0,47	6,07 ± 1,47	1,04 ± 0,18	3,04 ± 0,79	7,51 ± 1,13	7,79 ± 0,80	0,98 ± 0,22
Sonuç	P = 0,001	P = 0,757	P = 0,001	P = 0,007	P = 0,462	P = 0,083	P = 0,991
Mide Kanseri	1,20 ± 0,30	5,80 ± 1,40	1,36 ± 0,33	5,55 ± 1,26	7,66 ± 1,19	6,33 ± 1,18	1,29 ± 0,46
Kan Kanseri	1,90 ± 0,47	6,07 ± 1,47	1,04 ± 0,18	3,04 ± 0,79	7,51 ± 1,13	7,79 ± 0,80	0,98 ± 0,22
Sonuç	P = 0,001	P = 0,927	P = 0,001	P = 0,001	P = 0,978	P = 0,001	P = 0,388

P < 0,05 İstatistiksel olarak anlamlı, P > 0,05 istatistiksel olarak anlamsız

Tablo 4. Cinsiyete göre kontrol ve hasta gruplarının değerlendirilmesi

Parametreler		GST (U/gHb)	GPx (U/gHb)	GR (U/gHb)	G6PD (U/gHb)	GSH (nmol/gHb)	GSSG (nmol/gHb)	GSH/GSSG
		$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
Kontrol Grubu	Erkek (n = 12)	0,55 ± 0,10	9,97 ± 1,47	0,86 ± 0,18	6,68 ± 1,64	10,77 ± 0,75	3,22 ± 0,26	3,36 ± 0,38
	Bayan (n = 18)	0,61 ± 0,14	10,89 ± 2,58	0,85 ± 0,18	7,41 ± 1,60	11,87 ± 2,30	3,00 ± 0,57	4,19 ± 1,58
	Sonuç	P = 0,390	P = 0,553	P = 0,866	P = 0,236	P = 0,472	P = 0,099	P = 0,138
Kolon Kanseri	Erkek (n = 16)	1,35 ± 0,17	5,75 ± 1,52	1,43 ± 0,43	4,40 ± 1,04	6,71 ± 1,23	7,59 ± 0,63	0,89 ± 0,21
	Bayan (n = 14)	1,19 ± 0,25	5,51 ± 1,50	1,38 ± 0,36	3,69 ± 0,62	7,23 ± 1,67	6,74 ± 1,48	1,20 ± 0,67
	Sonuç	P = 0,061	P = 0,647	P = 1,000	P = 0,052	P = 0,257	P = 0,085	P = 0,110
Mide Kanseri	Erkek (n = 21)	1,15 ± 0,24	5,52 ± 1,42	1,32 ± 0,33	5,51 ± 1,31	7,48 ± 1,23	6,45 ± 1,22	1,24 ± 0,47
	Bayan (n = 9)	1,32 ± 0,40	6,45 ± 1,18	1,44 ± 0,34	5,64 ± 1,20	8,08 ± 1,02	6,06 ± 1,09	1,40 ± 0,44
	Sonuç	P = 0,331	P = 0,074	P = 0,483	P = 0,700	P = 0,213	P = 0,402	P = 0,331
Kan Kanseri	Erkek (n = 19)	2,00 ± 0,49	5,81 ± 1,52	1,05 ± 0,18	3,13 ± 0,68	7,58 ± 1,02	7,73 ± 0,81	1,00 ± 0,22
	Bayan (n = 11)	1,73 ± 0,40	6,50 ± 1,33	1,04 ± 0,19	2,90 ± 0,97	7,37 ± 1,33	7,89 ± 0,81	0,95 ± 0,24
	Sonuç	P = 0,089	P = 0,107	P = 0,897	P = 0,220	P = 0,561	P = 0,591	P = 0,591

P < 0,05 İstatistiksel olarak anlamlı, P > 0,05 istatistiksel olarak anlamsız

Tablo 5. Sigara içme durumlarına göre kontrol ve hasta gruplarının değerlendirilmesi

Parametreler		GST (U/gHb)	GPx (U/gHb)	GR (U/gHb)	G6PD (U/gHb)	GSH (nmol/gHb)	GSSG (nmol/gHb)	GSH/GSSG
		$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
Kontrol Grubu	Sigara içenler (n=13)	0,59 ± 0,16	9,27 ± 1,53	0,87 ± 0,19	7,09 ± 1,69	11,61 ± 2,06	3,08 ± 0,52	3,98 ± 1,49
	Sigara içmeyenler (n=17)	0,58 ± 0,10	11,47 ± 2,22	0,84 ± 0,17	7,14 ± 1,64	11,30 ± 1,82	3,10 ± 0,46	3,77 ± 1,17
	Sonuç	P = 0,691	P = 0,005	P = 0,630	P = 0,950	P = 0,851	P = 0,950	P = 0,818
Kolon Kanseri	Sigara içenler (n=11)	1,23 ± 0,21	5,98 ± 1,24	1,47 ± 0,44	4,50 ± 0,99	6,88 ± 1,55	7,22 ± 1,53	1,08 ± 0,73
	Sigara içmeyenler (n=19)	1,30 ± 0,23	5,44 ± 1,62	1,38 ± 0,37	3,83 ± 0,82	7,00 ± 1,43	7,18 ± 0,95	1,01 ± 0,31
	Sonuç	P = 0,426	P = 0,355	P = 0,621	P = 0,061	P = 0,189	P = 0,426	P = 0,378
Mide Kanseri	Sigara içenler (n=15)	1,15 ± 0,26	6,30 ± 1,46	1,30 ± 0,34	5,58 ± 1,18	7,48 ± 1,06	6,58 ± 0,97	1,18 ± 0,32
	Sigara içmeyenler (n=15)	1,25 ± 0,34	5,29 ± 1,18	1,42 ± 0,32	5,51 ± 1,37	7,83 ± 1,32	6,08 ± 1,34	1,40 ± 0,56
	Sonuç	P = 0,443	P = 0,071	P = 0,443	P = 0,756	P = 0,494	P = 0,330	P = 0,419
Kan Kanseri	Sigara içenler (n=9)	2,10 ± 0,51	5,48 ± 1,26	0,96 ± 0,13	2,95 ± 0,80	7,80 ± 1,23	7,58 ± 0,81	1,04 ± 0,23
	Sigara içmeyenler (n=21)	1,81 ± 0,44	6,32 ± 1,51	1,08 ± 0,19	3,08 ± 0,81	7,38 ± 1,09	7,88 ± 0,80	0,95 ± 0,22
	Sonuç	P = 0,108	P = 0,081	P = 0,113	P = 0,483	P = 0,378	P = 0,154	P = 0,213

P < 0,05 İstatistiksel olarak anlamlı, P > 0,05 istatistiksel olarak anlamsız

Tablo 6. Kontrol grubunda sigara kullanan ve kulmayan bireylerle, hasta gruplarındaki sigara kullanan ve kullanmayan bireylerin karşılaştırılması

Parametreler		GST	GPx	GR	G6PD	GSH	GSSG	GSH/GSSG
		$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
Sigara Kullanan Bireyler	Kontrol Grubu (n=13)	0,59 ± 0,16	9,27 ± 1,53	0,87 ± 0,19	7,09 ± 1,69	11,61 ± 2,06	3,08 ± 0,52	3,98 ± 1,49
	Kolon Kanseri (n=11)	1,23 ± 0,21	5,98 ± 1,24	1,47 ± 0,44	4,50 ± 0,99	6,88 ± 1,55	7,22 ± 1,53	1,08 ± 0,73
	Sonuç	P = 0,001	P = 0,001	P = 0,001	P = 0,001	P = 0,001	P = 0,001	P = 0,001
	Kontrol Grubu (n=13)	0,59 ± 0,16	9,27 ± 1,53	0,87 ± 0,19	7,09 ± 1,69	11,61 ± 2,06	3,08 ± 0,52	3,98 ± 1,49
	Mide Kanseri (n=15)	1,15 ± 0,26	6,30 ± 1,46	1,30 ± 0,34	5,58 ± 1,18	7,48 ± 1,06	6,58 ± 0,97	1,18 ± 0,32
	Sonuç	P = 0,001	P = 0,001	P = 0,001	P = 0,013	P = 0,001	P = 0,001	P = 0,001
	Kontrol Grubu (n=13)	0,59 ± 0,16	9,27 ± 1,53	0,87 ± 0,19	7,09 ± 1,69	11,61 ± 2,06	3,08 ± 0,52	3,98 ± 1,49
	Kan Kanseri (n=9)	2,10 ± 0,51	5,48 ± 1,26	0,96 ± 0,13	2,95 ± 0,80	7,80 ± 1,23	7,58 ± 0,81	1,04 ± 0,23
	Sonuç	P = 0,001	P = 0,001	P = 0,231	P = 0,001	P = 0,001	P = 0,001	P = 0,001
Sigara Kullanmayan Bireyler	Kontrol Grubu (n=17)	0,58 ± 0,10	11,47 ± 2,22	0,84 ± 0,17	7,14 ± 1,64	11,30 ± 1,82	3,10 ± 0,46	3,77 ± 1,17
	Kolon Kanseri (n=19)	1,30 ± 0,23	5,44 ± 1,62	1,38 ± 0,37	3,83 ± 0,82	7,00 ± 1,43	7,18 ± 0,95	1,01 ± 0,30
	Sonuç	P = 0,001	P = 0,001	P = 0,001	P = 0,001	P = 0,001	P = 0,001	P = 0,001
	Kontrol Grubu (n=17)	0,58 ± 0,10	11,47 ± 2,22	0,84 ± 0,17	7,14 ± 1,64	11,30 ± 1,82	3,10 ± 0,46	3,77 ± 1,17
	Mide Kanseri (n=15)	1,25 ± 0,34	5,29 ± 1,18	1,42 ± 0,32	5,51 ± 1,37	7,83 ± 1,32	6,08 ± 1,34	1,40 ± 0,56
	Sonuç	P = 0,001	P = 0,001	P = 0,001	P = 0,005	P = 0,001	P = 0,001	P = 0,001
	Kontrol Grubu (n=17)	0,58 ± 0,10	11,47 ± 2,22	0,84 ± 0,17	7,14 ± 1,64	11,30 ± 1,82	3,10 ± 0,46	3,77 ± 1,17
	Kan Kanseri (n=21)	1,81 ± 0,44	6,32 ± 1,51	1,08 ± 0,19	3,08 ± 0,81	7,38 ± 1,09	7,88 ± 0,80	0,95 ± 0,22
	Sonuç	P = 0,001	P = 0,001	P = 0,001	P = 0,001	P = 0,001	P = 0,001	P = 0,001

P < 0,05 İstatistiksel olarak anlamlı, P > 0,05 istatistiksel olarak anlamsız

Tablo 7. Hastalığın evresine göre hasta gruplarının değerlendirilmesi

Parametreler		GST (U/gHb)	GPx (U/gHb)	GR (U/gHb)	G6PD (U/gHb)	GSH (nmol/gHb)	GSSG (nmol/gHb)	GSH/GSSG
		$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
Kolon Kanseri	Evre 3(n=17)	1,25 ± 0,21	5,14 ± 1,60	1,41 ± 0,37	4,06 ± 0,90	6,72 ± 1,46	7,42 ± 0,96	0,94 ± 0,31
	Evre 4(n=13)	1,31 ± 0,25	6,29 ± 1,06	1,42 ± 0,44	4,09 ± 1,00	7,27 ± 1,44	6,90 ± 1,38	1,17 ± 0,66
	Sonuç	P = 0,368	P = 0,057	P = 0,754	P = 0,786	P = 0,490	P = 0,250	P = 0,305
Mide Kanseri	Evre 3(n=15)	1,19 ± 0,28	5,86 ± 1,53	1,47 ± 0,34	5,58 ± 1,17	7,46 ± 1,11	6,53 ± 1,13	1,20 ± 0,37
	Evre 4(n=15)	1,21 ± 0,32	5,73 ± 1,31	1,25 ± 0,29	5,52 ± 1,38	7,85 ± 1,27	6,13 ± 1,23	1,37 ± 0,53
	Sonuç	P = 0,917	P = 0,885	P = 0,059	P = 0,724	P = 0,494	P = 0,419	P = 0,419
Kan Kanseri	Evre 1(n=8)	1,90 ± 0,55	5,80 ± 1,37	1,09 ± 0,18	2,69 ± 0,59	7,55 ± 1,33	7,93 ± 0,71	0,95 ± 0,23
	Evre 2(n=22)	1,90 ± 0,45	6,16 ± 1,53	1,03 ± 0,18	3,17 ± 0,83	7,53 ± 1,08	7,73 ± 0,84	0,99 ± 0,23
	Sonuç	P = 0,925	P = 0,778	P = 0,205	P = 0,205	P = 0,511	P = 0,453	P = 0,542

P < 0,05 İstatistiksel olarak anlamlı, P > 0,05 istatistiksel olarak anlamsız

Tablo 8. Tedavi şekillerine göre hasta gruplarının değerlendirilmesi

Parametreler		GST (U/gHb)	GPx (U/gHb)	GR (U/gHb)	G6PD (U/gHb)	GSH (nmol/gHb)	GSSG (nmol/gHb)	GSH/GSSG
		$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
Kolon Kanseri	Tedavi almamış (n=9)	1,27 ± 0,21	6,23 ± 1,01	1,52 ± 0,51	4,44 ± 1,01	7,17 ± 0,94	7,33 ± 1,00	1,01 ± 0,29
	Kemoterapi almış (n=13)	1,3 ± 0,23	4,86 ± 1,72	1,43 ± 0,30	3,83 ± 0,78	6,49 ± 1,45	7,40 ± 0,82	0,90 ± 0,27
	Kemoterapi ve radyoterapi almış (n=8)	1,27 ± 0,22	6,23 ± 1,02	1,25 ± 0,37	4,05 ± 1,04	7,48 ± 1,83	6,71 ± 1,73	1,29 ± 0,83
	Sonuç	P = 0,866	P = 0,035	P = 0,203	P = 0,348	P = 0,213	P = 0,586	P = 0,326
Mide Kanseri	Tedavi almamış (n=14)	1,26 ± 0,35	5,41 ± 1,37	1,41 ± 0,29	5,76 ± 1,27	7,95 ± 1,18	6,10 ± 1,23	1,40 ± 0,53
	Kemoterapi almış (n=9)	1,23 ± 0,25	6,44 ± 1,38	1,25 ± 0,24	5,19 ± 1,25	7,75 ± 0,88	6,23 ± 0,99	1,29 ± 0,37
	Kemoterapi ve radyoterapi almış (n=7)	1,07 ± 0,25	5,66 ± 1,57	1,05 ± 0,42	6,39 ± 1,65	6,78 ± 1,54	6,99 ± 1,59	1,04 ± 0,45
	Sonuç	P = 0,319	P = 0,526	P = 0,152	P = 0,434	P = 0,601	P = 0,539	P = 0,535
Kan Kanseri	Kemoterapi alanlar (n=30)	1,90 ± 0,47	6,07 ± 1,47	1,04 ± 0,18	3,04 ± 0,79	7,51 ± 1,13	7,79 ± 0,80	0,98 ± 0,22

P < 0,05 İstatistiksel olarak anlamlı, P > 0,05 istatistiksel olarak anlamsız

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Fizyolojik koşullarda serbest oksijen radikalleri aerobik organizmalarda bulunmakta ve hücrel redoks sistemleri ve antioksidanlar aracılığı ile yüksek oranda kontrol altında tutulabilmektedir. Buna rağmen, oksijen radikallerinin artması ve hücrel redoks dengesinin zayıflaması sonucunda oksidatif stres oluşmaktadır. Antioksidan savunmada önemli rolü olan “glutasyon sistemi” nin yetersizliğı organizmadaki antioksidan/oksidan dengesini oksidan tarafa kaydıracaktır. Dolayısıyla oluşan serbest radikaller canlıya zarar vererek çeşitli hastalıklara neden olabilecektir. Kanseri de bu hastalıklardan birisidir. Çalışmamızda kolon, mide ve kan kanserli hastaların glutasyon ve glutasyon bağımlı enzimlerinin sağlıklı bireylere göre nasıl değıştiğı gözlemlenmeye çalışıldı.

Glutasyon metabolizmasındaki bozukluğun kanser patogenezinin sorumlu olabileceği etkenlerden biri olarak gösterilen pek çok çalışma vardır. Roger ve ark. (1993), meme tümörlerinde glutasyon içeriğinin normal dokuya göre artış gösterdiğini bildirirken, Cook ve ark. (1980), tümörlü doku ve normal doku glutasyon içeriğinde bir değışiklik olmadığını bildirmişlerdir. Kaçakçı ve ark. (2006), larenks kanseri olan aynı bireylerin tümörlü dokuları ile sağlam dokuları arasında GSH düzeyleri açısından fark bulamamışlardır. Aynı araştırmacılar bu hastalar ile sağlıklı bireylerin kan GSH düzeylerini karşılaştırdıklarında kanserli bireylerin GSH düzeylerini düşük bulmuşlardır. Akciğer karsinomlu hastalarda yapılan bir başka çalışmada ise hasta bireylerin eritrosit GSH değerlerinin sağlıklı bireylere göre önemli miktarda azaldığı gözlemlenmiştir (Şener, 2009).

Kolon kanserli hastalarda yapılan çalışmalarda Upadhyaya ve ark. (2004) ile Saygılı ve ark. (2003), eritrosit GSH düzeylerinin hasta bireylerde sağlıklı bireylere göre azalmış olduğunu bulmuşlardır. Scibior ve ark. (2008), mide kanserli bireylerin serumlarındaki GSH miktarını sağlıklı bireylere göre daha düşük bulurken, kolon kanserli bireylerin serum GSH miktarında önemli bir farklılık bulamamışlardır. Dadük ve ark. (2006) ile Kısaçam ve ark. (2010), mide kanserli hastalarda yapmış olduğu çalışmalarda eritrosit GSH düzeylerini sağlıklı bireylere göre mide kanserli hastalarda daha düşük bulmuşlardır. Akut lösemili hastalarda yapılan bir çalışmada da lenfositlerdeki GSH seviyeleri sağlıklı bireylere göre daha düşük bulunmuştur (Ghalaut ve ark., 1999). Yine kronik lenfoblastik lösemili hastalarla yapılan bir diğer çalışmada hasta bireylerin kan GSH değerleri sağlıklı bireylere göre daha düşük bulunmuştur.

Navarro ve ark. (1999), farelerde yapay tümör oluşturarak yaptıkları çalışmada, tümör oluşturmada önceki değerlerle karşılaştırıldığında, tümörlü farelerde kan GSH miktarında önemli bir azalma, kan GSSG miktarında ise önemli bir artış olduğunu gözlemlemişlerdir. Kanser hastalarıyla yapılan pek çok çalışmada hasta bireylerin eritrosit GSH miktarlarında önemli bir azalma olduğunu yukarıda belirtilen çalışmalar göstermektedir. GSH miktarındaki bu azalmaya bağlı olarak okside glutatyon (GSSG) miktarlarında da artış olması beklenmektedir. Bizde kolon, mide ve kan kanserli hastalarla yaptığımız bu çalışmada kanserli bireylerin eritrosit GSH miktarlarının sağlıklı bireylere göre önemli derecede azaldığı, buna karşılık beklendiği gibi kanserli hastaların eritrosit GSSG değerlerinin de sağlıklı bireylere göre önemli derecede arttığı görülmüştür (Tablo 3).

Oksidatif strese cevapta GSH miktarında azalma ve GSSG miktarında artma olması beklenir. GSH ve GSSG konsantrasyonlarındaki karşılıklı değişim oksidatif stresin işaretlerinden biri olarak düşünülen GSH/GSSG oranıyla ifade edilir (Nural, 2005). Ne zaman hücreler yüksek düzeyde oksidatif strese maruz kalırsa GSSG birikir ve GSH'ın GSSG'ye oranı azalır. Bu nedenle GSH/GSSG oranını saptamak hücre ve dokulardaki oksidatif stresin göstergesidir. Yaptığımız bu çalışmada da kanserli bireylerde GSH/GSSG oranı sağlıklı bireylere göre önemli derecede azalmıştır (Tablo 3). GSH/GSSG oranındaki bu azalma kolon, mide ve kan kanserli bireylerin önemli derecede oksidatif strese maruz kaldığını bizlere göstermektedir.

Glutatyon bağımlı bir enzim olan glutatyon peroksidaz genotoksik ve mutajen elektrofilik maddelerle konjugasyona girerek onların zehirsizleştirilmesinde rol oynamaktadır. Oksidan ve genotoksik maddelerin artmasının özellikle kimyasal karsinogenezin tüm safhalarında yer aldığına dair çalışmalar bulunmaktadır (Goodwin ve ark., 1983). Yapılan bu çalışmalarda genel anlamda kanserli doku ve kanda sağlıklı bireylere göre glutatyon peroksidaz miktarının anlamlı derecede azalış gösterdiği bildirilmiştir. Canbay ve ark. (2002), larinks kanserli hastalarda yaptıkları çalışmada hasta bireylerin eritrosit GPx değerlerinin sağlıklı bireylere göre önemli derecede düşük olduğunu bulmuşlardır. Yine aynı şekilde Canbay ve ark. (2003), tiroit kanserli hastalarda yaptığı çalışmada hasta bireylerin GPx aktivitesinde kontrol grubu bireylere göre önemli bir azalma olduğunu bildirmişlerdir.

Hopkins ve ark. (1973), kolon kanserini de içine alan bir kanser çalışmasında eritrosit GPx aktivitesinin çok geniş varyasyonlar gösterdiğini, ancak genel anlamda normal düzeylerden daha düşük olduğunu ileri sürmüşlerdir. Saygılı ve ark. (2003),

kolorektal kanserli hastalarda yapmış olduğu çalışmada da kontrol grubu ve hasta grubunda eritrosit GPx miktarını karşılaştırdıklarında hasta grubunda ileri derecede anlamlı bir düşüş saptamışlardır. Yine bu yönde yapılan bir başka çalışmada da Scibior ve ark. (2008), mide ve kolon kanserli bireylerin kan serumlarındaki GPx aktivitesinin sağlıklı bireylere göre önemli derecede düşük olduğunu bildirmişlerdir.

Gonzales ve ark. (1984), akut miyeloid lösemi, kronik lenfoid lösemi, hodgking hastalığı, lenfosarkoma ve viseral kanserlerde eritrosit GPx düzeyinin değişmediğini gözlemlerken, Bakan ve ark. (2003), kronik lenfoblastik lösemili hastaların serum GPx miktarlarının sağlıklı bireylere göre önemli derecede azaldığını bildirmiştir. GPx enzimi aktivitesindeki azalmanın çeşitli kanser türleri ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Raun-Harren ve ark., 2006).

Antioksidan kapasiteyi oluşturan GSH ve GPx miktarları, çalıştığımız kolon, mide ve kan kanserli bireylerde azalmıştır (Tablo 3). GPx aktivitesinin azalması, okside edici ajanların eritrosit üzerine yapacağı etkinin artmasına neden olmaktadır. Kanserli bireylerin eritrositlerindeki GPx aktivitesinin azalmış olması, H₂O₂ ve diğer oksijen radikallerinin birikimine neden olarak, oksidatif stres yükünü arttırmış olduğunu göstermektedir.

GSH düzeylerinin belirlenmesi kanser hastalığı da dahil çeşitli hastalıklarda iyi bir göstergedir. GSH serbest radikalleri direkt olarak ortamdan uzaklaştırabileceği gibi H₂O₂ ve lipitidroperoksitlerin uzaklaştırılmasından sorumlu bir enzim olan GPx için yardımcı substrat olarak önemli bir rol oynamaktadır. Kolon, mide ve kan kanserli hastaların eritrosit GSH düzeylerinde görülen bu azalma GPx aktivitesinde görülen azalmayı da açıklamaktadır.

Sigara kullanımı, beslenme alışkanlıkları, yaşam stili ve selenyum miktarındaki azalışın GPx enzim aktivitesinde azalmaya neden olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Neve, 1995). Bu çalışmada da kontrol grubunda sigara içen bireylerde GPx aktivitesinin içmeyen bireylere göre önemli derecede azaldığı gösterilmiştir. Ancak kanser hastalarında sigara içen ve içmeyen bireyler arasında GPx aktivitesi bakımından önemli bir fark bulunmamıştır (Tablo 5). Bunun nedeni olarak da kanser hastalarındaki antioksidan sistemin çeşitli nedenlerle yetersiz olması düşünülmektedir.

Glutasyon sistemi içerisindeki bir diğer enzim olan glutasyon S-transferaz çeşitli elektrofilik bileşikler glutatyona aktaran biotransformasyon enzimi olup, organizmayı karsinogenik bileşimlerden veya doku ve kandaki toksik etkilerden korumak gibi pek çok fonksiyonu vardır. Kanserli hastalarla yapılan birçok çalışmada kanserli bireylerin

doku ve eritrositlerindeki GST miktarının sağlıklı bireylere göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Patel ve ark. (2005), oral kanserli hastalarla ve Gromadzinska ve ark. (2003), akciğer kanserli hastalarla yaptıkları çalışmalarda eritrosit GST aktivitesini kanserli bireylerde sağlıklı kontrol gruplarına oranla daha yüksek bulmuşlardır. Yine Upadhya ve ark. (2004) ile Saygılı ve ark. (2003), kolon kanserli bireylerde yapmış oldukları çalışmalarda da, kolon kanserli bireylerdeki GST miktarının sağlıklı bireylerden anlamlı derecede yüksek olduğu bildirilmiştir. Aynı şekilde Scibior ve ark. (2008), da gastrointestinal sistem tümörleri olan hastalarla yaptıkları çalışmada mide ve kolon kanserli dokularda GST aktivitesini kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğunu bulmuşlardır.

Kolon, mide ve kan kanserli hastalarda yaptığımız bu çalışmada, kanserli bireylerin eritrositlerindeki GST miktarını sağlıklı kontrollere göre önemli derecede yüksek olduğunu gözlemlendi. Literatür taramaları sırasında kan kanserli bireylerin GST aktivitesindeki değişikliği gösteren hiçbir bilgiye rastlanmadı. Ancak kanser hastalarının doku ve eritrositlerinde GST miktarının arttığını gösteren çok sayıdaki çalışmaya dayanarak kan kanseri bireylerde de GST aktivitesinin artabileceği düşünülmektedir. Çalışmamızdaki bulgularımızda bu düşüncüyü desteklemektedir (Tablo 3).

Dokulardaki ve kandaki düşük GST düzeylerinin karsinojenlerin detoksifiye edilme kapasitesini azalttığı ve daha yüksek tümör riski taşıdığı düşünülmektedir (Peters ve ark., 1993). Hawie ve ark. (1990), GST aktivitesinin yüksek olduğu dokularda tümör riskinin daha az olacağını gözlemlemişlerdir. Ancak yukarıda da belirtildiği gibi pek çok çalışmada kanserli doku ve eritrositte GST miktarının sağlıklı dokulara göre oldukça yüksek olduğu gösterilmiştir. Artmış GST seviyesi kemoterapi ve diğer ilaç tedavilerinde bu sistemle metabolize olan pek çok ilacın (adriamisin, klorambusil, melfalan ve diğer nitrojen ilaçlar vs.) metabolizmasını hızlandırarak zararlı yan etkilerinin ortadan kaldırılmasını sağlamaktadır. Bu nedenle kemoterapi tedavisi alan kanser hastalarında GST aktivitesi artmaktadır (Tozkoparan ve ark., 2007). Bizim yaptığımız çalışmada ve diğer pek çok çalışmada da kanser vakalarının büyük bir çoğunluğunun tedavi sürecinde olmasından dolayı GST miktarının arttığı gözlemlenmiştir (Tablo 3).

Son zamanlarda GST'nin farklı insan tümörlerinde (kolon, akciğer, böbrek, over, özefagus ve mide) fazla miktarda salgılandığı ve artmış GST seviyelerinin kemoterapi ilaçlarının metabolizmasını hızlandırarak, ilaçla hedeflenen etkiye ulaşılamamasına, başka bir ifadeyle ilaca kazanılmış direnç gelişimine sebep olduğu gösterilmiştir

(O'Brien ve ark., 1996; Tew ve ark., 1997). Bu nedenle kemoterapide geleneksel elektrofilik kanser ilaçlarının (alkilleyici bileşiklerin) etkinliğinin düzenlenmesinde, GST inhibitörlerinin kullanımının faydalı olabileceği düşüncesi doğmuş ve bu sistemi hedef alan çeşitli bileşikler geliştirilmiştir (Townsend ve ark., 2003; Zhao ve ark., 2006). Sonuç olarak tümörlü dokularda ve eritrositlerde artan GST miktarı kemoterapi ilaçlarının etkilerini azaltmakla birlikte bu ilaçlara karşı tümörlü hücrelerde direnç oluşmasına da neden olmaktadır.

Antioksidan savunmanın etkinliğini sürdürebilmesi için oksitlenmiş glutatyonun tekrar indirgenmiş hale döndürülmesi gerekir. Glutatyon redüktaz, NADPH varlığında oksitlenmiş glutatyonun indirgenme reaksiyonunu katalizler. Kanser hastalarıyla yapılan birçok çalışmada glutatyon redüktaz miktarı farklılıklar göstermektedir. Yapılan bazı çalışmalarda kanser hastalarının GR miktarının sağlıklı bireylere göre arttığı gözlemlenirken, bazı çalışmalarda ise önemli bir farklılık bulunamamıştır. Patel ve ark. (2005), oral kanserli hastalarda yaptıkları çalışmada kanser hastalarının GR aktivitesinin sağlıklı bireylere göre daha yüksek olduğunu gözlemlemişlerdir.

Scibior ve ark. (2008), ise gastrointestinal sistem tümörlü hastalarla yaptıkları çalışmada mide kanserli hastaların GR aktivitesinin kontrol grubuna göre önemli bir değişiklik göstermediğini ancak kolon kanserli hastaların GR aktivitesinin kontrol grubuna göre önemli derecede yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Yine Saygılı ve ark. (2003) ile Skrzydlewska ve ark. (2001), da kolon kanserli hastaların GR miktarının sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede yüksek olduğunu gözlemlemiştir. Kronik lenfoblastik lösemili hastalarla çalışan Bakan ve ark. (2003), kanserli hastaların serumundaki GR aktivitesinin kontrol grubuna göre önemli bir farklılık göstermediğini bulmuşlardır.

Bizde kolon, mide ve kan kanserli hastalarla yaptığımız bu çalışmada, kolon ve mide kanseri hastalarının eritrosit GR aktivitesinin sağlıklı bireylere göre önemli derecede arttığını, ancak kan kanserli bireylerdeki eritrosit GR aktivitesindeki artışın kontrol grubu bireylerine göre istatistiksel olarak bir anlam ifade etmediği gözlemlendi (Tablo 3).

Heksoz monofosfat yolunun kilit enzimi olarak bilinen glukoz-6-fosfat dehidrogenaz enzimi reaksiyonu kataliz ederken kofaktör olarak NADP⁺'yi kullanmaktadır. Reaksiyon sonucunda üretilen NADPH+H⁺ ise hücre zarının oksidan ajanlara karşı korunmasında görev alan GSH'ın okside formdan GR enzimi yardımıyla redükte forma dönüştürülmesinde ve diğer pek çok reaksiyonda görev almaktadır. G6PD eksikliği,

lösemi hastaları başta olmak üzere, kanser hastalarıyla yapılan birçok çalışmada gösterilmiştir.

Cheng ve ark. (2001), nazofarengeal kanserli hastalarla yaptığı çalışmada hasta bireylerdeki G6PD aktivitesinin normal yetişkinlere oranla daha düşük olduğunu bulmuşlardır. Rzymowska ve ark. (1992) da meme kanser dokusunda G6PD aktivitesinin azaldığını bildirmişlerdir. Yine Sharma ve ark. (2011), akut myeloid lösemi, akut lenfoblastik lösemi ve kronik myeloid lösemili hastalarda yaptığı çalışmada, bu hastaların trombosit G6PD enzimi eksikliğini istatistiksel olarak anlamlı bulmuşlardır. Wurzel ve ark. (1961) tarafından yapılan çalışmada da lösemi hücrelerinin trombosit ve eritrositlerinde düşük G6PD aktivitesi saptanmıştır.

Kolon, mide ve kan kanserli hastalarla yaptığımız bu çalışmada hasta bireylerdeki G6PD enzimi aktivitesini sağlıklı bireylerden anlamlı derecede düşük olduğu bulundu (Tablo 3).

Eritrosit GR aktivitesi kolon, mide ve kan kanserli hastalarda artmıştır. Bu bulgu glutasyon rejenerasyonunda rol oynayan enzim miktarının artmasına karşın, glutasyon düzeyindeki azalma ile beraberdir. Ancak GR enziminin aktivite göstererek okside glutasyonu redükte hale getirebilmesi için NADPH'a ihtiyaç duymaktadır. GR oksitlenmiş glutasyonun indirgenme reaksiyonunu katalizlerken elektronlar önce NADPH dan FAD yolu ile glutatyona daha sonra ise iki sistein kalıntısı arasındaki disülfid bağlarına en son ise oksitlenmiş glutatyona transfer olmaktadır. Kanserli hastalarda, NADPH sağlayıcı enzim olan G6PD enziminin azlığı NADPH'ın yetersiz üretimine neden olmaktadır. NADPH'ın yetersiz üretimi neticesinde GR enzimi ortamda bol miktarda olsa bile yeterli aktiviteyi gösteremediği için ortamdaki GSH miktarı azalacak ve GSSG miktarı artacaktır. Çalışmamızda da gördüğümüz gibi kanser hastalarında G6PD aktivitesinin önemli derecede düşük olması ortamdaki NADPH'ın azalmasına neden olmakta ve sonuç olarak bu durum GR aktivitesini kısıtlamakta ve GSH miktarındaki azalmayı da beraberinde getirmektedir.

Sonuç olarak, kolon, mide ve çeşitli kan kanserlerinde yaygın olarak glutasyon sistemindeki değişikliklerin kanser oluşumunda tetikleyici mi yoksa sonuç mu olduğunu tesbit etmek için bu verilerin, genetik çalışmalar ve daha çok sayıda kanserli bireylerle çalışma yapılarak desteklenmesi daha doğru olacaktır.

5. KAYNAKLAR

- Akkuş, İ. (1995). Serbest radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, Mimoza Yayınları, Konya.
- Altıntaş, S. (2006). Kahramanmaraş'ta bazı iş kollarında çalışan boya işçilerinde plazma ve eritrosit membranı sialik asit, glutatyon, plazma nitrik oksit ve lipit peroksidasyonu düzeylerinin değerlendirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş.
- Antmen, Ş.E. (2005). Beta talasemide oksidatif stres, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Bakan, N., Taysi, S., Yilmazi Ö., Bakan, E., Kuşkay, S., Uzun, N. ve Gündoğdu, M. (2003). Glutathione peroxidase, glutathione reductase Cu-Zn superoxide dismutase activities, glutathione, nitric oxide, and malondialdehyde concentrations in serum of patients with chronic lymphocytic leukemia, Clin. Acta, 338, 143 – 149.
- Beutler, E., Duran, D. and Dvarte, B.M.K. (1963). Improved method for the determination of blood glutathione, J. Lab. Clin. Med., 51(3), 882 – 888.
- Blakely, W.F. (1990). Hydrogen peroxide induced base damage in DNA, Radiat Res, 121, 338 – 343.
- Bomfard, C.K., Kunkler, I.H. and Sheriff, S.B. (1983). Biological and pathological introduction, Walter and Miller's Textbook of Radiotherapy, 243 – 252.
- Brody, E.J. (1988). The destructive potential of free oxygen radicals, International Herald Tribune, April 2, 4 – 5.
- Canbay, E., Çelik, K., Dökmetaş, S., Karadayı, K., Turan, M., Keleştemur, F. ve Şen, M. (2003). Tiroid kanserli hastalarda değişen antioksidan enzim aktivitesi ve lipit peroksidasyonu, C.Ü. Tıp Fakültesi Dergisi, 25(4), 151 – 156.
- Canbay, E.İ., Çelik, K., Kunt, T., Ertemur, M. ve Canbay, E. (2002). Larinks kanserli hastalarda glutatyon peroksidaz aktivitesi ve lipit peroksidasyon düzeylerindeki değişiklikler, C.Ü. Tıp Fakültesi Dergisi, 24(4), 175 – 178.

- Cheeseman, K.H. and Slater, T.F. (1993). An introduction to free radical biochemistry, *British Med. Bull.*, Jul, 49(3), 481 – 493.
- Cheng, A.J., Chiu, D.T., See, L., Liao, C., Chen, H. and Chang, J.T. (2001). Poor prognosis in nasopharyngeal cancer patients with low glucose-6-phosphate dehydrogenase activity, *Jpn, J. Cancer Res.*, 92, 576 – 581.
- Choremis, C., Kattamis, A.C., Kuriyakau, M. and Gaurilidev, E. (1966). Viral hepatitis, in G6PD deficiency, *Lanced*, I, 269 – 270.
- Cook, M.G. and Mc Namara P. (1980). Effect of vitamin E on dimethylhydrazine-induced colonic tumors in mice, *Cancer Res.*, 41, 4458.
- Czapski, G. (1984). Reaction of OH : In Colowick SP. Kaplan NO (eds), *Methods in Enzymology*, Academic Pres. New York, Volume 105, 209 – 215.
- Çakatay, U. ve Kayalı, R. (2006). Serbest radikal biyokimyasının tarihsel süreçteki gelişimi, *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 37, 162 – 167.
- Dadük, Y. (2006). Mide kanserinde talsialik asit, glutatyon, malondialdehit ve bu parametrelerin birbirleriyle ve kanser evresi ile ilişkisinin incelenmesi, *Uzmanlık Tezi*, İstanbul Üniversitesi, İstanbul.
- Dikici, İ. (1999). Akut viral hepatitlerde interferon tedavisi görmüş kronik viral hepatitlerde oksidatif stresin araştırılması, *Uzmanlık Tezi*, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Ghalaut, V.S., Kharb, S., Ghalaut, P.S. and Rawal, A. (1999). Lymphocyte glutathione levels in acute leukemia, *Clin. Chim. Acta*, 285, 85 – 89.
- Giray, B., Gürsoy, A. ve Hıncal, F. (1996). Kanser oluşumu, risk faktörleri ve korunma, *Sendrom*, May, 96 – 107.
- Gonzales, R., Avclair, C., Voison, E., Gautero, H., Dhermy, D. and Bolvin P. (1984). Superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in red blood cells triom patients with malignant disease, *Cancer Res.*, 44, 4137- 4139.

Goodwin, W.J., Lane, H.W., Brodford, K., Marshall, M.V., Griffin, A.C. and Geopfert, H. (1983). Selenium and glutathione peroxidase levels in patients with epidermoid carcinoma of the oral cavity and oropharynx, *Cancer*, 51, 110 – 115.

Gromadzinska, J., Wasowicz, W., Rydzynski, K. and Szeszenia, N. (2003). Oxidative-stress markers and blood of lung cancer patients occupationally exposed to carcinogens, *Biological Trace Element Research*, Vol 91, 203 – 215.

Gutteridge, J.M.C. (1995). Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage, *Clin Chem.*, 41, 1819 – 1828.

Halliwell, B., Gutteridge, J.M. (1989). *Free radical in biology and medicine*, 2th Ed. Oxford, Clarendon Pres, 125 – 150.

Hassun, H.M. (1983). Oxygen toxicity and murtagenosis in prokaryotes, In : Cohen, G., Greenwold, R.A., eds., *Oxy Radicals and Their Scavenger System*, Vol. I., Elsevier Biomedical, 198 – 206.

Holley, A.E. and Cheeseman, K.H. (1993). Measuring free radical reactions in vivo, *Br.medbull. Jul.*, 49(3), 494 – 505.

Hopkins, J. and Tudhope, G.R. (1973). Glutathione peroksidase in human red cells in health and disease, *Bri. J. Haematol*, 25, 563 – 573.

Howie, A.F., Forrester, L.M., Glancey, M.J., Schlager, J.J. and Powis, G. (1990). Glutathione S transferase and glutathione peroxidase expression in normal and tumour human tissue, *Carcinogenesis*, 11, 451 – 458.

<http://thsk.gov.tr/tr/index.php/kanser-tipleri/324-kalin-barsak-kanseri?showall>

<http://thsk.gov.tr/tr/index.php/kanser-tipleri/326-losemi>

<http://thsk.gov.tr/tr/index.php/kanser-tipleri/329-midekanseri?showall>

Hubert, A.A., Dirven, M. and Van Badderren, P.J. (1994). Involvement of human glutathione S-transferase isoenzymes in the conjugation of Cyphosphamide metabolites with glutathione, *Cancer Res.*, 54, 6215 – 6220.

- Jendryazko, A., Pardela, M. and Kozlowski, A. (1993). Erythrocyte glutathione peroxidase in patients with colon cancer, *Neoplasma*, 40, 107 – 109.
- Jesberger, J.A. and Richardson, J.S. (1991). Oxygen free radicals and brain dysfunction, *Intern J. Neuroscience*, 5711 – 5717.
- John, A.C., Harvey, I.P. and Susan, N.I. (1991). Cellular glutathione and thiol measurement from surgically resected human lung tumour and normal lung tissue, *Cancer Res.*, 51(15), 4287 – 4294.
- Kaçakçı, A. (2006). Larenks kanserli olgularda kan serum ve dokuda eser element konsantrasyonları ve oksidan antioksidan sistemin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Kankofer, M. (2002). Plecantal release/retention in cows relation to peroxidative damage of macromolecules, *Rebrod Damamin*, 37, 27 – 30.
- Kısaçam, S. (2010). Gastrit ve mide kanseri hastalarında kan malondialdehit (MDA) ve redükte glutatyon (GSH) düzeylerinin karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars.
- Konukoğlu, D. ve Akçay, T. (1995). Glutathione metabolism and clinical importance, *T. Clin. J. Med. Sci.*, 15(4), 214 – 217.
- Köse, K. ve Doğan, P. (1992). Lipit peroksidasyonu, *Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 1, 340 – 350.
- Lohr, J.B. (1991). Oxygen radicals and neuropsychiatric illness, *Arch Gen Psychiatry*, 48, 1097 – 1106.
- Maede, Y. and Kuwabara, M. (1987). Elevated glutathione accelerates oxidative damage to erythrocytes produced by aromatic disulfide, *Blood*, 73, 312 – 407.
- Mason, R.P. (1990). Free radical reactions with DNA and its nucleotides, *Basic Life Sci*, 52, 119.
- Mates, J.M., Gomez-Perez, C. and Castro, I.N. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases, *Clin. Bio.*, Vol. 32, No. 8, 595 – 603.

- Meister, A. and Anderson, M.E. (1983). Glutathione, *Ann. Rev. Biochem*, 52, 711 - 760.
- Murray, R.K. and Granner, D.K. (1996). *Fizyolojik Öneme Sahip Lipitler*, Harper'in Biyokimyası, Barış Kitabevi, İstanbul.
- Navarro, J., Obrador, E., Carretero, J., Petschen, I., Avino, J., Perez, P. and Estrela, J.M. (1999). Changes in glutathione status and the antioxidant system in blood and in cancer cells associate with tumour growth in vivo, *Free Radical Biology & Medicine*, Vol. 26, 410 – 418.
- Neve, J. (1995). Human selenium supplementation as assessed by changes in blood selenium concentration and glutathione peroxidase activity, *J. Trace Elem Med. Biol.*, 9, 65 – 73.
- Nishiyama, Y. and Ikeda, H. (1998). Oxidative stress in related to exercise intolerance in patients with heart failure, *Am Heart J.*, 135, 115.
- Nitsu, Y., Takahashi, Y., Saito, T. and Hirata, Y. (1989). Serum glutathione S-transferase π as a tumour marker for gastrointestinal malignancies, *Cancer*, 63, 317 – 323.
- Nural, N. (2005). Sigaranın serum malondialdehit, eritrosit glutatyon redüktaz enzim aktivitesi ile yükseltgenmiş ve indirgenmiş glutatyon miktarına etkilerinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
- O'Brien, N.L. and Tew, K.D. (1996). Glutathione and related enzymes in multidrug resistance, *Eur. J. Cancer*, 6, 967 – 978.
- Özdemir, G. (1993). *Reaktif oksijen partikülleri (ROP)*, Roche Bilimsel Eserleri Serisi.
- Öztürk, S. (1996). Eritrositer glukoz-6-fosfat dehidrogenaz enzim eksikliğinde glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz ve vitamin E düzeyleri, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Adana.

- Patel, B.P., Rawal, U.M., Shah, P.M., Parajapati, J.A., Rawal, M.R., Dave, T.K. and Patel, P.S. (2005). Study of tobacco habits and alterations in enzymatic antioxidant systems in oral cancer, *Oncology*, 68, 511- 519.
- Peters, W.H.M., Roelofs, H.M.J., Hectors, M.P.C. and Nagengast, F.M. (1993). Glutathione and glutathione S-transferases in Barkett's epithelium, *Br. J. Cancer*, 67, 1423 – 1417.
- Piner, P.E. (2005). Fenthion içeren ortamlarda BSO ve NAC'nin *Oreochromis niloticus*'da betin dokusunda glutatyon metabolizması, lipit peroksidasyonu ve asetilkolinesteraz aktivitesine etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Piretti, M.V. and Pagliuca, G. (1987). Vasine M. proposal of an analytical method for the study of the oxidation products of membrane lipids, *Anal Biochem*, 167, 358 – 361.
- Raun-Haren, G., Olsen, A., Tjønneland A., Dragsted, L.O., Nexø, B.A. and Wallin, H. (2006). Associations between GPx1 Pro198Leu polymorphism, erythrocyte GPx activity, alcohol consumption and breast cancer risk in a prospective cohort study, *Carcinogenesis*, 27, 820 – 825.
- Richie, J.P., Skowronski, L. and Abraham, S.L. (1996). Blood glutathione concentrations in a large-scale human study, *Clin. Chem*, 42(1), 64 – 70.
- Roger, R.P., AnnMazetta, B.S. and Mark, L.B. (1993). Glutathione levels and variability in breast tumors and normal tissue, *Cancer*, 72(3), 783 – 787.
- Rzynowska, J. (1992). Enzyme activities in human breast tumours, *Acta Biochim Pol.*, 39(3), 289 – 294.
- Saygılı, E.İ., Akçay, T. ve Konukoğlu, D. (2003). Glutathione and glutathione-related enzymes in colorectal cancer patients, *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 66, 411 – 415.

- Saygılı, İ. (1997). Kolorektal kanserli hastalarda lipit peroksidasyonu ve antioksidan sistemler, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Schiffer, C.A., Lee, E.J. and Takafumi, T. (1989). Prognostic impact of cytogenetic abnormalities in patients with de novo acute nonlymphocytic leukemia, *Blood*, 73, 263 – 270.
- Scibior, D., Skryzcki, M., Podsiad, M. and Czczot, H. (2008). Glutathione level and glutathione-dependent enzyme activities in blood serum of patients with gastrointestinal tract tumors, *Clin. Bio*, 41, 852 – 858.
- Sharma, S., Purohit, A.H.L. and Kochupillal, V. (2011). Platelet enzyme abnormalities in leukemias, *Indian Journal of Cancer*, Volume 48, Issue 3, 323 – 327.
- Skrzydowska, A., Stankiewicz, A., Sulkowska, M., Sulkowski, S. and Kasacka, I. (2001). Antioxidant status and lipid peroxidation in colorectal cancer, *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 64, 213 – 222.
- Şener, F. (2009). Akciğer karsinomalarında oksidatif stres biyogöstergelerinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Şengil, A. ve Gürbilek, M. (1992). Serbest radikaller, *Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 13(4), 673 – 681.
- Takizawa, T., Ikuta, T., Huang, L.Y. and Yoshida, A. (1986). Human glucose-6-phosphate dehydrogenase primary structure and cDNA cloning, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 83, 4157 – 4166.
- Tekkes, Y. (2006). Streptozotosin ile diabet oluşturulmuş farelerde aspirin ve E vitaminin dokularda lipit peroksidasyonu ve antioksidan sisteme etkisinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş.
- Tew, K.D., Dutta, S. and Schultz, M. (1997). Inhibitors of glutathione S-transferases as therapeutic agents, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 26, 91 – 104.

- Townsend, D.M. and Tew. K.D. (2003). The role of glutathione S-transferase in anti-cancer drug resistance, *Oncogene*, 22, 7369 – 7375.
- Tozkoparan, B. ve Aytaç, S.P. (2007). Kanser kemoterapisinde terapötik hedef olarak glutatyon S-transferazlar, *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, Cilt 27, Sayı 2, 139 – 164.
- Türkmen, S., Afrasyap, L., Govenen, G. ve Aldemir, M. (1996). Erythrocyte glutathione levels and related enzyme activities in patients with benign and malignant breast disease, *Türk Onkoloji Dergisi*, 11(1), 30 – 33.
- Umudum, Z., Avcı, B. ve Erman, F. (2009). *Deneysel Biyokimya, Aktif Yayınları*, 135 – 138.
- Upadhyaya, S., Mohan, K.S., Vanajakshamma, K., Kunder, M. and Mathias, S. (2004). Oxidant-antioxidant status in colorectal cancer patients-before and after treatment, *Indian Journal Of Clin. Bio.*, 19(2), 80 – 83.
- Wintrobe, M.M., Lee, R.G., Bitthel, C.T., Foerster, J., Athens, W.J. and Lukens, N.J. (1991). Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and related deficiencies involving the pentose phosphate pathway and glutathione metabolism, *Wintrobe's Clinical Hematology*, 9th Ed. Lea and Febiger, 1006 – 1023, Philadelphia.
- Woo, P.T.K., Sin, Y.M. and Wong, M.K. (1993). The effects of short-term acute cadmium exposure on blue tilapia *Oreochromis aureus*, *Environ. Biology of Fishes*, 37, 67 – 74.
- Wurzel H., McCreary, T., Baker, L. and Gumerman, L. (1961). Glucose-6-phosphate dehydrogenation activity in platelets, *Blood*, 17, 314 – 318.
- Yalçın, A., Beyan, C., Ural, A.U. (2001). Lösemiler, *Klinik Hematoloji*, 144 – 263, GATA Yayınları, Ankara.
- Yanbeyi, S. (1999). Aspirin ve antioksidant butylated hydroxyanisole tavşanlarda eritrosit total katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz aktiviteleri üzerine etkileri, *Doktora Tezi*, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.







Yerer, M.B. ve Aydoğan, S. (2000). Oksidatif stres ve antioksidanlar, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, 9(1), 49 – 53.

Yüzüak, H. (2008). Yaşlanma sürecinde pankreas dokusunda NO_x, MDA, GSH düzeyleri ve melatoninin etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Zhao, G. and Wang, X. (2006). Advance in antitumor agents targeting glutathione S-transferase, Curr. Med. Chem., 13, 1461 – 1471.

6. EKLER

EK-1: Cumhuriyet Üniversitesi Etik Kurul Raporu

 T.C. Cumhuriyet Üniversitesi TIP FAKÜLTESİ BİLİMSEL ARAŞTIRMALARI DEĞERLENDİRME KURULU			
Konu: Sayı: 2010/109	07.07.2010		
Karar No: 2010-04/10			
Yüksek Lisans Öğrencisi Kemal GÖKÇE'nin, "Çeşitli Kanserlerde Glutathione Sisteminin Araştırılması" konulu Yüksek Lisans Tezinin Bilimsel Araştırmaları Değerlendirme Kurulunca uygun olduğuna;			
Karar verilmiştir.			
<i>Ünvanı/Adı Soyadı</i>	<i>Üye</i>	<i>Uzmanlık Dalı</i>	<i>İmzası</i>
Prof.Dr.M.Kemal YILDIRIM	Başkan	Farmakoloji	
Prof.Dr.Dilara İÇAĞASIOĞLU	Üye	Çocuk Sağ.ve Hast.	katılmadı
Prof.Dr.Ayhan KOYUNCU	Üye	Genel Cerrahi	katılmadı
Doç.Dr.Sefa GÜLTÜRK	Üye	Fizyoloji	
Doç.Dr.Yavuz SİLİĞ	Üye	Biyokimya	katılmadı
Yrd.Doç.Dr.Gülay YILDIRIM	Üye	Deontoloji	
Yrd.Doç.Dr.Ziynet ÇINAR	Üye	Biyostatistik	
			

EK-2. Kan Donörü Anket Bilgisi

Gönüllünün,

Adı-Soyadı:

Adresi:

Tel-Faks:

Tarih ve İmza:

Cinsiyeti:

Yaşı:

Hastalığın Adı:

Hastalığın Evresi:

Kemoterapi ve radyoterapi alıp almadığı:

Kaç yıldır hastasınız?:

Sigara kullanıp kullanmadığı:

Ailenizde bu hastalığa veya farklı bir kanser türüne yakalanan varmı?:

Doğum yeri ve burada ne kadar süre yaşadığı:

Şimdi nerede yaşadığı ve burada ne kadar süredir yaşadığı:

Şu andaki mesleği ve bu mesleği kaç yıldır yapmakta olduğu:

Daha önce başka mesleklerde çalıştınız mı ve ne kadar zaman:

Açıklamaları yapan araştırmacının,

Adı-Soyadı:

Görevi:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

7. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı	Kemal GÖKÇE
Doğum Yeri ve Tarihi	Ankara, 12.08.1988
Medeni Hali	Bekar
Yabancı Dil	İngilizce
İletişim Adresi	Cumhuriyet Üniversitesi, Biyoloji Bölümü
E-posta Adresi	kemalgokce0688@hotmail.com

Eğitim ve Akademik Durumu

Lise	Sokullu Mehmet Paşa Lisesi, Ankara
Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, 2005-2009
Yüksek Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Genel Biyoloji Anabilim Dalı, 2009-2013