

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

KANSERLİ HASTALARDA OKSİDATİF PROTEİN HASARI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Burcu BABA

Tez Danışmanı
Yrd. Doç. Dr. Aysun HACIŞEVKİ

ANKARA
Ocak 2010

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

KANSERLİ HASTALARDA OKSİDATİF PROTEİN HASARI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Burcu BABA

Tez Danışmanı
Yrd. Doç. Dr. Aysun HACIŞEVKİ

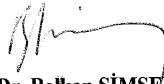
Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
02/2009-26 proje numarası ile desteklenmiştir.

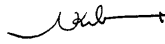
ANKARA
Ocak 2010

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek
Lisans Programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri
tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi : 17/02/2010


Prof. Dr. Bolkan ŞİMŞEK
Gazi Üniversitesi
Jüri Başkanı


Prof. Dr. Nedret KILIÇ
Gazi Üniversitesi


Yrd. Doç. Dr. Aysun HACİŞEVKİ
Gazi Üniversitesi

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	I
İçindekiler	II
Şekiller, Grafikler	V
Tablolar	VI
Semboller, Kısaltmalar	X

1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. ROS Kaynakları	4
2.1.1. Ekzojen Kaynaklar	4
2.1.2. Endojen Kaynaklar	5
2.2. Oksidanların Hedefi Olarak DNA	6
2.3. Oksidanların Hedefi Olarak Lipidler	7
2.4. Oksidanların Hedefi Olarak Proteinler	9
2.4.1. Protein Oksidasyonu	10
2.4.1.1. Polipeptit Omurgasının Oksidatif Parçalanması	12
2.4.1.2. Amino Asitlerin Yan Zincirlerinin Oksidasyonu	15
2.4.1.2.1. Sülfür İçeren Amino Asit Rezidülerinin Oksidasyonu	16
2.4.1.2.2. Aromatik Amino Asit Rezidülerinin Oksidasyonu	16
2.4.1.3. Protein-Protein Çapraz Bağlarının Oluşması	19
2.4.2. Proteinlerin Oksidatif Modifikasyon Türleri	20
2.4.3. Oksidatif Protein Hasarı Belirteçleri	21
2.4.3.1. Protein Karbonil	21
2.4.3.2. Protein Tiyol	24
2.4.3.3. Nitrotirozin	25
2.4.3.4. Ditirozin	27
2.4.3.5. 2-Oxohistidin	28
2.4.4. Protein Oksidasyonunun Önemi Ve Biyolojik Sonuçları	28
2.5. Reaktif Türlerin Kanslerle İlişkisi	31

2.6. Kanser	33
2.6.1. Karsinogenez	34
2.6.1.2. Karsinogenezin Evreleri	35
2.6.1.2.1. Başlama Evresi	36
2.6.1.2.2. Gelişme Evresi	36
2.6.1.2.3. İlerleme Evresi	38
2.6.1.3. Karsinogenezde Moleküler Hedefler	38
2.6.1.4. Epigenetik Değişiklikler	40
2.7. Gastrointestinal Kanser	40
2.7.1. Kolorektal Kanser	41
2.7.2. Mide Kanseri	43
2.7.3. Karaciğer Kanseri	46
2.7.4. Pankreas Kanseri	49
2.7.5. Özofagus Kanseri	52
3. GEREÇ VE YÖNTEM	55
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	55
3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler	55
3.3. Hasta ve kontrol gruplarının tanımı ve özellikleri	55
3.3.1. Hasta Grubu	56
3.3.2. Kontrol Grubu	56
3.4. İstatistiksel Analiz	56
3.5. Kullanılan Yöntemler	58
3.5.1. Nitrotirozin Seviyesi Tayin Yöntemi	58
3.5.2. Malondialdehit (MDA) Seviyesi Tayin Yöntemi	59
3.5.2.1. Örneklerin Hazırlanması	59
3.5.2.2. Standart Çalışma Çözeltilerinin Hazırlanması	60
3.5.2.3. Yöntemin Gün İçi ve Günler Arası Tekrarlanabilirliği	61
3.5.2.4. Yöntemin Verimliliği	62
3.5.3. Nitrik Oksit Seviyesi Tayin Yöntemi	62

4. BULGULAR	65
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	87
6. ÖZET	98
7. SUMMARY	100
8. KAYNAKLAR	102
9. EKLER	124
10. ÖZGEÇMİŞ	126

ŞEKİLLER VE GRAFİKLER

Şekil-1: Lipid peroksidasyon mekanizması	8
Şekil-2: Oksidasyonda ve protein omurgasının parçalanmasında ROS'un rolü	14
Şekil-3: Prolin ve glutamik asit yan zincirlerinin oksidasyonu ile protein omurgasının parçalanması	15
Şekil-4: Aromatik amino asit rezidülerinin oksidasyonu	17
Şekil-5: Protein-protein çapraz bağlarının oluşumu	19
Şekil-6: Protein karbonillerin glikasyon, glikooksidasyon ve PUFA (çoklu doymamış yağ asiti) peroksidasyon ürünleri ile reaksiyonu tarafından oluşumu	23
Şekil-7: Reaktif nitrojen türleri ile tirozinin nitrolanmasıyla 3-nitrotirozin oluşumu	26
Şekil-8: Tirozil radikali ve o-o'-ditirosin	28
Grafik-1: NT kalibrasyon grafiği	59
Grafik-2: MDA kalibrasyon grafiği	61
Grafik-3: NO kalibrasyon grafiği	64

TABLÖLAR

Tablo-1: Reaktif oksijen türlerinin ekzojen ve endojen kaynakları	4
Tablo-2: Hasta ve kontrol grubunun özellikleri	57
Tablo-3: NT standartlarının konsantrasyona karşılık gelen absorbans değerleri	58
Tablo-4: MDA standartlarının konsantrasyona karşılık gelen absorbans değerleri	60
Tablo-5: Serum MDA düzeylerinin tekrarlanabilirliği	61
Tablo-6: Serum MDA düzeylerinin doğruluğu ve % verim hesabı	62
Tablo-7: NO standartlarının konsantrasyona karşılık gelen absorbans değeri	63
Tablo-8: Total hasta ve kontrol grubu oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması	65
Tablo-9: Total hasta ve kontrol grubu biyokimya parametrelerinin karşılaştırılması	66
Tablo-10: Total hasta grubunun oksidatif stres parametreleri arasındaki korelasyon	66
Tablo-11: Kontrol grubunun oksidatif stres parametreleri arasındaki korelasyon	67
Tablo-12: Total hasta grubunun biyokimya parametreleri arasındaki korelasyon	67
Tablo-13: Kontrol grubunun biyokimya parametreleri arasındaki korelasyon	68
Tablo-14: Total hasta grubunun oksidatif stres parametreleri ve biyokimya parametreleri arasındaki korelasyon	69
Tablo-15: Kontrol grubunun oksidatif stres parametreleri ve biyokimya parametreleri arasındaki korelasyon	69
Tablo-16: Birinci hasta grubu ve kontrol grubu oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması	70

Tablo-17: Birinci hasta grubunun oksidatif stres parametreleri arasındaki korelasyon	70
Tablo-18: Birinci hasta grubunun biyokimya parametreleri arasındaki korelasyon	71
Tablo-19: Birinci hasta grubu oksidatif stres parametreleri ve biyokimya parametreleri arasındaki korelasyon	71
Tablo-20: İkinci hasta grubu ve kontrol grubu oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması	72
Tablo-21: İkinci hasta grubunun oksidatif stres parametreleri arasındaki korelasyon	72
Tablo-22: İkinci hasta grubunun biyokimya parametreleri arasındaki korelasyon	73
Tablo-23: İkinci hasta grubu oksidatif stres parametreleri ve biyokimya parametreleri arasındaki korelasyon	73
Tablo-24: Üçüncü hasta grubu ve kontrol grubu oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması	74
Tablo-25: Üçüncü hasta grubunun oksidatif stres parametreleri arasındaki korelasyon	74
Tablo-26: Üçüncü hasta grubunun biyokimya parametreleri arasındaki korelasyon	75
Tablo-27: Üçüncü hasta grubu oksidatif stres parametreleri ve biyokimya parametreleri arasındaki korelasyon	75
Tablo-28: Oksidatif stres parametrelerinin hasta alt grupları arasındaki korelasyonu	76
Tablo-29: Yaşa göre total hasta ve kontrol grubunun oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması	76
Tablo-30: Cinsiyete göre total hasta ve kontrol grubunun oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması	77

Tablo-31: Total hasta grubunun cinsiyete göre oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması	78
Tablo-32: Kontrol grubunun cinsiyete göre oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması	78
Tablo-33: Hasta alt gruplarının cinsiyete göre oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması	79
Tablo-34: Total hasta grubundaki kadınların menapoz durumuna göre oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması	80
Tablo-35: Vücut kitle indeksine göre total hasta ve kontrol grubunun oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması	80
Tablo-36: Kalıtsal kanser hikâyesine göre total hasta ve kontrol grubunun oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması	81
Tablo-37: Kalıtsal kanser hikâyesine göre total hasta grubunun oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması	81
Tablo-38: Sigara içme durumuna göre total hasta ve kontrol grubunun oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması	82
Tablo-39: Alkol kullanma durumuna göre total hasta ve kontrol grubunun oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması	83
Tablo-40: Egzersiz yapma durumuna göre total hasta ve kontrol grubunun oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması	83
Tablo-41: Ekonomik duruma göre total hasta ve kontrol grubunun oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması	84

Tablo-42: Öncelikli olarak tüketilen gıda türüne göre total hasta ve kontrol grubunun oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması	85
Tablo-43: Öncelikli olarak tüketilen yağ türüne göre total hasta ve kontrol grubunun oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması	86

SEMBOLLER, KISALTMALAR

ROS: Reaktif oksijen türleri

O₂^{•-} : Süperoksit anyon radikali

OH[•] : Hidroksil radikali

RO₂[•] : Peroksil

RO[•] : Alkoksil

HO₂[•] : Hidroperoksil

H₂O₂ : Hidrojen peroksit

O₃ : Ozon

HOCl : Hipokloröz asit

¹O₂ : Singlet oksijen

RNS : Reaktif nitrojen türleri

NOS : Nitrik oksit sentaz

NO : Nitrik oksit

NO₂[•] : Nitrit dioksit

ONOOH : Peroksinitröz asit

ROONO : Alkilperoksinitrit

NO⁺ : Nitrozil

NFκB : Nükleer Faktör Kapa B

SOD : Süperoksit dismutaz

GP_x : Glutasyon peroksidaz

GST : Glutasyon-S-transferaz

RSH-P_x : Tiyol-spesifik peroksidaz

MSR : Metiyonin sülfoksit redüktaz

NAD⁺: Nikotinamid adenin dinükleotit

NADP⁺ : Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat

Mg : Magnezyum

Mn : Mangan

Zn : Çinko

8-OHdG : 8-hidroksi-deoksiguanozin

PUFA : Çoklu doymamış yağ asitleri
MDA : Malondialdehit
TBA : 2-Tiyobarbitürik asit
MeSOX : Metiyonin sülfoksit
ONOO⁻ : Peroksinitrit
AGEs : İleri glikasyon son ürünleri
DNPH : 2,4-dinitrofenilhidrazin
DNP : Dinitrofenil
HNE : Hidroksinonenal
NT : Nitrotirozin
LDL : Düşük dansiteli lipoprotein
HDL : Yüksek dansiteli lipoprotein
VLDL : Çok düşük dansiteli lipoprotein
H. pylori : Helicobacter pylori
HCC : Hepatoselüler kanser
HBV : Hepatit B
HCV : Hepatit C
SCC : Skuamöz (yassı) hücreli karsinom
ACE : Özofageal adenokarsinom
VKI : Vücut kitle indeksi
GERD : Gastroözofageal reflü hastalığı
TCA : Trikloroasetik asit
TEP : 1,1,3,3-tetraetoksipropan
NO₂⁻ : Nitrit
NO₃⁻ : Nitrat

1. GİRİŞ

Oksidanlar direkt veya indirekt olarak proteinler, lipidler, DNA ve karbohidratları kapsayan bütün biyomoleküllere zarar verme yeteneğine sahip reaktif oksijen türleridir¹. Reaktif oksijen türleri (ROS), oksijen içeren okside edici ajanlar olarak tanımlanmaktadır². ROS, biyomoleküllerin tüm major sınıflarını yapılarında ve fonksiyonlarında eş zamanlı değişiklikler ile kimyasal olarak değiştirebilmektedir³. ROS normal hücresel metabolizmanın ürünleridir fakat patofizyolojik koşullar altında yüksek oranda üretilir^{2,4}.

Reaktif oksijen türleri iki grupta sınıflandırılır: serbest radikaller ve radikal olmayanlar^{5,6,7}. Radikaller bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron içeren türlerdir^{2,8,9,10,11,12}. Eşleşmemiş elektronlar atom ya da molekülün kimyasal reaktivitesini artırmaktadır^{2,11,13}. Biyolojik olarak en önemli serbest radikaller; süperoksit anyon radikali ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$), peroksil ($RO_2^{\cdot}$), alkoksil ($RO^{\cdot}$) ve hidroperoksil ($HO_2^{\cdot}$) dir. Hidrojen peroksit (H_2O_2), ozon (O_3), hipokloröz asit ($HOCl$) ve singlet oksijen (1O_2) radikal olmayan türlerdir⁷ fakat canlı organizmalarda kolaylıkla serbest radikal reaksiyonlarına yol açabilmektedirler^{6,14}. Reaktif nitrojen türleri (RNS) ise moleküllerinde bir nitrojen atomu içerirler ve çoğu biyolojik olarak önemli reaktif maddeler olarak gösterilmektedir. RNS, nitrik oksit sentaz (NOS) tarafından L-argininin L-sitrüline dönüşümü sırasında in vivo sentezlenen basit molekül nitrik oksitten (NO) türemektedir. RNS, serbest radikal nitrit dioksit ($NO_2^{\cdot}$) ve radikal olmayan, peroksinitrit ve protonlanmış formunu (peroksinitröz asit, $ONOOH$), alkilperoksinitrit ($ROONO$) ve nitrozil (NO^+) gibi türleri içermektedir⁷.

Süperoksit ya da hidroksil radikalleri gibi bazı reaktif oksijen türleri oldukça kararsızdırlar. Oysa hidrojen peroksit gibi diğer türler serbestçe yayılmacı ve nispeten uzun ömürlüdürler^{15,16}. Bu çeşitli radikal türler pek çok farklı kaynaktan ya ekzergonik olarak meydana gelirler ya da hücre içinde üretilirler¹⁵. Örneğin immün sistem hücreleri oksidatif yanmayı tetikleyen inflamatuvar süreçlerde hem süperoksit anyonu hem de nitrik oksiti üretirler. Bu koşullar altında, nitrik oksit ve süperoksit anyonu birlikte reaksiyona girerek oksidatif olarak çok daha aktif molekül olan peroksinitrit anyonunu üretirler¹¹. Fizyolojik proseslere katılan ROS arasında en önemlileri O_2^- , H_2O_2 ve NO gibi görünmektedir⁷.

ROS/RNS canlı sistemlere ya zararlı ya da yararlı olabildiklerinden¹⁷ ROS/RNS'nin biyolojik sistemlerde çift yönlü rol oynadıkları bilinmektedir^{11,12}. Reaktif oksijen türlerinin düşük konsantrasyonlarda sinyal iletim yollarının aktivasyonu ve modülasyonu¹⁷, NFκB gibi transkripsiyon faktörlerinin aktivitelerinin modülasyonu, apoptozisin regülasyonu ve mitokondriyal enzim aktivitelerinin regülasyonunu kapsayan çeşitli önemli hücresel fonksiyonlara hizmet ettiği bilinmektedir². Bunun aksine, yüksek konsantrasyonlarda ROS/RNS hücresel sinyal iletimini bozabilir ve lipidler, proteinler ve DNA'ya zarar verebilir¹⁸. ROS'un hücrelere zararına karşı organelleri ve hücresel bileşenleri korumak için pek çok antioksidan savunma sistemi geliştirilmiştir¹⁹.

ROS'u aktif olmayan türevlere çevirebilen bu antioksidanlar: süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz (GP_x), glutatyon-S-transferaz (GST), tiyol-spesifik peroksidaz ($RSH-P_x$), metiyonin sülfoksit redüktaz (MSR), tiyoredoksin

redüktaz gibi enzimler ve glutatyon; ferritin, transferrin gibi çeşitli metal-bağlayıcı proteinler; çeşitli metabolitler ve kofaktörler (NADP^+ / NADPH , NAD^+ / NADH , lipoik asit, ürik asit, bilirubin v.b.) ; bazı diyetel elemanlar (vitamin A, C ve E) ve metal iyonları (Mg^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+}) dır^{3,20,21,22,23,24}.

Normal koşullar altında ROS'un oluşumu ve nötralizasyonu arasında iyi yönetilen bir denge vardır, bundan dolayı biyomoleküllerin modifikasyonu minimaldir¹. "Oksidatif stres" oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki denge oksidanların lehine kontrolden çıktığı zaman oluşur^{25,26}.

Son yirmi yılda reaktif oksijen türlerinin deneysel ve klinik tıptaki rolüne aşırı bir ilgi bulunmaktadır^{11,17}. ROS-indüklü hasar hücre ölümü, mutasyonlar, kromozomal değişiklikler ve bir de karsinogenezle sonuçlanabilir¹⁷. DNA, protein oksidasyonu ve lipid peroksidasyonu karsinogenezde büyük bir etkiye sahiptir²⁷. Hücreel lipidlerin ve proteinlerin oksidasyonu, sinyal iletimi ve gen ekspresyonu gibi çeşitli hücre düzenleyici fonksiyonlarda değişikliklerle karsinojenik sürecin birkaç basamağını etkileyebilmektedir. Bu yüzden, oksidatif stres biyomarkerları hastalığın patojenik adımlarının ve hastalık riskinin tahminine yardım için potansiyele sahiptir²⁸.

Bu çalışmada gastrointestinal kanserli hastalarda protein oksidasyonunun ve peroksinitrit oluşumunun göstergesi olarak nitrotirozin (NT), reaktif nitrojen türlerinin bir indikatörü olarak nitrik oksit ve lipid peroksidasyon göstergesi olarak malondialdehit (MDA) düzeyleri ölçülerek sağlıklı kontrol değerleri ile karşılaştırılmıştır. Bu çalışma kapsamında protein oksidasyonu ve lipid peroksidasyonu arasında bir korelasyon olup olmadığı da değerlendirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. ROS KAYNAKLARI

Reaktif oksijen türleri, tüm canlı organizmalarda normal metabolizmanın bir ürünü^{2,29} ve çevresel ajanlara maruz kalmanın bir sonucu olarak oluşmaktadır³⁰.

Tablo-1: Reaktif oksijen türlerinin ekzojen ve endojen kaynakları ⁵

Reaktif oksijen türleri (ROS)	
Ekzojen Kaynaklar	Endojen Kaynaklar
γ-ışınması	Hücreler (örneğin nötrofiller)
UV-ışınması	Direkt-ROS üreten enzimler (örneğin NO sentaz)
Ultrason	İndirekt-ROS üreten enzimler (örneğin ksantinoksidaz)
Gıda	Metabolizma (örneğin mitokondri)
İlaçlar	Hastalıklar (örneğin mental bozukluk, iskemik prosesler)
Kirletici maddeler	
Ksenobiyotikler	
Toksinler	

2.1.1. Ekzojen Kaynaklar

Canlı organizmaların iyonize^{21,31} ve iyonize olmayan ışımaya maruz kalması ROS'un başlıca ekzojen kaynağını oluşturmaktadır^{5,11,22}. X ve λ ışınları gibi iyonize ışınlar serbest radikallerin üretiminde önemli rollere sahiptirler. ROS üretimini indükleyen ışınlamalar oksijen ve suyun varlığına ihtiyaç duymaktadır¹⁹. İyonize ışımadan en fazla oluşan reaktif tür suyun radyolizinden oluşan hidroksil radikalidir^{19,31,32}. Ultraviyole ışıması (UV-A ya da UV-B) güçlü bir ROS üreticisidir^[11] ve antioksidan enzimlerinin düzeylerini düşürür¹⁹. Ozon fotokimyasal hava kirliliğinin önemli bir bileşenidir, biyolojik molekülleri direkt olarak oksitleyebilir ve buna ek olarak, fizyolojik pH da

su ile yavaşça reaksiyona girerek hidroksil radikallerini verir³³. Ayrıca ozon süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerin inaktivasyonuna yol açar¹⁹. Araba egzoz dumanı, sigara dumanı ve endüstriyel kontaminantlar gibi hava kirleticiler organizmaya deri ile direkt olarak veya solunum yoluyla saldıran ve zarar veren ROS kaynaklarını oluşturmaktadır⁵.

İlaçlar da başlıca ROS kaynağıdır^{5,34}. Geniş çeşitlilikteki ksenobiyotikler (örneğin toksinler, pestisitler ve paraquat gibi herbisitler)^{11,35} ve kimyasallar (örneğin hardal gazı, alkol) da in vivo metabolizmanın bir yan ürünü olarak ROS üretirler. Diğer bir oksidan kaynağı gıdalardır, tükettiğimiz gıdaların büyük bir bölümü yüksek derecede oksitlenmiştir ve peroksitler, aldehitler, oksitlenmiş yağ asitleri ve geçiş metalleri gibi farklı türlerde oksidanlar içermektedirler⁵.

2.1.2. Endojen Kaynaklar

Organizmanın ekzojen kaynaklardan ROS'a maruz kalması oldukça yüksek olmasına rağmen, endojen kaynaklara maruz kalması çok daha önemlidir çünkü bu organizmada tüm hücrelerin yaşam süresi boyunca devam eden bir süreçtir⁵.

Solunum zinciri güçlü bir ROS kaynağıdır^{2,5,29,24,35,36}. Mitokondriyal yapılar oksidatif strese oldukça duyarlıdır³⁶. Normal aerobik solunumun bir sonucu olarak mitokondri O_2 tüketir, O_2 'ni H_2O üretmek için birbirini izleyen basamaklarla indirir³⁷. Bu işlem süresince bazı elektronlar elektron transport zincirinden kaçır²⁹ ve $O_2^{\cdot -}$, $OH^{\cdot}$ veya H_2O_2 üretmek için oksijen ile etkileşime girerler¹⁹.

Enzimler ROS'un diğ er bir endoj en kaynağını oluştururlar. Pek çok enzim kendi aktivitelelerinin yan ürünü olarak ROS üretir, ksantin oksidaz tarafından süperoksit radikallerinin oluşumu örnek gsterilebilir⁵. Nitrik oksit sentaz (NOS) enzimleri de L-argininin L-sitrüline deaminasyonu ile nitrik oksit (NO) retir^{5,11,19,38,39}. Peroksizomlar yağ asitleri ve diğ er moleküllerin indirgenmesinden sorumlu organellerdir, yan ürün olarak H₂O₂ retirler³⁷. Bunlara ek olarak, hücresel reaktif oksijen türlerinin endoj en kaynakları nötrofiller, eosinofiller ve makrofajlardır^{26,34}. Aktive olmuş makrofajlar süperoksit anyon, nitrik oksit ve hidrojen peroksiti içeren çeşitli reaktif oksijen türlerinin artışına sebep olan oksijen alımında artış başlatırlar^{8,11,26,34}.

2.2. Oksidanların Hedefi Olarak DNA

DNA kararlı, iyi korunan bir molekül olmasına rağmen, ROS DNA ile etkileşime girebilir ve çeşitli tiplerde hasara neden olabilir^{2,5,29}. ROS indüklü DNA hasarı: DNA baz modifikasyonları^{30,40,41}, tek ve çift dal DNA kırılmaları^{2,30,40,41,42}, purinlerin kaybı², deoksiriboz şekere hasar^{41,42}, DNA-protein çapraz bağı^{30,42} ve tamir sistemlerine hasarı kapsamaktadır^{5,11,29}.

Tüm ROS'lar hasara neden olmaz; çoğu hasar hidroksil radikallerine bađlanmaktadır⁵. Örneğin purin ve pirimidin bazlarına hasar OH[•] saldırısının kimyasal parmak izini taşımaktadır ve in vivo OH[•] oluşumunun nükleus içinde oluştuğu ileri srlmektedir¹⁴. Eğer OH[•] DNA'ya saldırırsa, OH[•] DNA'ya yakın bir yerde üretilmiş olmalıdır çünkü OH[•] oluşum yerinden difüze olamaz, oldukça reaktiftir. DNA'nın OH[•] radikaline maruz kalmasında iyonize radyasyon bir kaynak olabilir ve çeşitli ürünler oluşur. OH[•] ya da OH[•] gibi türler için diğ er potansiyel kaynaklar ONOO[•] dekompozisyonu, O₂^{•-} ile HOCl in reaksiyonu, DNA

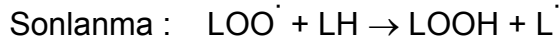
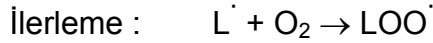
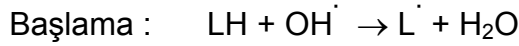
bazlarına HOCl saldırısını kapsamaktadır. Ayrıca DNA yerlerine yüksek bağlanma afinitesine sahip demir gibi geçiş metalleri, H₂O₂ ile reaksiyona girerek DNA molekülüne yakın OH[•] üretimini katalize edebilir^{5,14}. DNA baz hasar ürünlerinden birkaçı nükleozid 8-hidroksi-deoksiguanozin (8-OHdG),^{2,5,24,29} 8-hidroksi-adenin ve 7-metil-8-hidroksiguanin'dir. Bunlardan en önemlisi 8-OHdG'dir¹⁴. Bu DNA ürünü önemlidir çünkü hem nispeten kolaylıkla oluşur hem de mutajenik ve karsinojeniktir¹¹.

2.3. Oksidanların Hedefi Olarak Lipidler

Oksidanlar tarafından biyolojik moleküllerin yıkımına dayanan önceki araştırmalar lipidleri de kapsamaktadır⁴². Lipid hasarı genel olarak lipid peroksidasyonu olarak adlandırılır⁵. In vivo lipid peroksidasyonu önemlidir¹⁴ ve oksidatif hücre hasarının en iyi bilinen belirtilerinden biridir⁴³. Peroksidasyon akıcılıkta azalma, membran bağlı enzimlerin ve reseptörlerin inaktivasyonu ve spesifik olmayan iyon geçirgenliğinde değişim gibi biyolojik membran fonksiyonlarının bozulmasına neden olur^{14,42}. Araşidonik asit gibi çoklu doymamış yağ asidi yan zincirleri serbest radikal atağına doymuş ya da doymamış yağ asitlerinden çok daha duyarlıdır^{8,29}.

Lipid peroksidasyonu üç adımda oluşmaktadır: başlama, ilerleme, sonlanma^{5,11}. İlk basamağın radikal saldırısı ile çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) ya da PUFA yan zinciri üzerindeki bir metilen grubundan hidrojen atomunun çıkarılmasıyla ilerlediği düşünülmektedir^{2,3,5,8,14,24,43,44}. İlerleme basamağında oluşan karbon merkezli radikal moleküler oksijenle etkileşime girerek peroksil radikalini (ROO[•]) oluşturur^{2,3,24,43,44}. Yeni oluşan peroksil radikali komşu PUFA yan zincirinden hidrojen atomu çıkarma yeteneğindedir böylelikle

oksidatif hasar yayılır^{3,5,24,42} ve bu şekilde zincir reaksiyonlarını devam ettirir^{2,5,24}. Lipid peroksidasyonunun son basamağı, zincir sonlanması, bir peroksil radikalının diğer bir radikal ya da antioksidanlarla etkileşimini takiben oluşur⁵.



Şekil-1 : Lipid peroksidasyon mekanizması ^{2,24} (LH : çoklu doymamış yağ asiti; L[·] : alkil radikali; LOOH : lipid hidroperoksit)

PUFA peroksidasyonunun ilk reaksiyon ürünü lipid hidroperoksitlerdir^{3,17}. Bir kez oluşan lipid hidroperoksitler çeşitli ürünlere ayrılır, bazıları sitotoksik, mutajenik ve genotoksik özelliklere sahiptir³. Örneğin lipid peroksidasyon ürünlerinden malondialdehit (MDA)^{24,29,44,45,46,47,48,49}, membran komponentlerinde çapraz bağlanma ve polimerizasyona yol açarak esneklik, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzeyi determinantlarının agregasyon durumu gibi intrinsek membran özelliklerine sahip olduğu için DNA'nın nitrojen bazları ile de reaksiyona girebilir⁵⁰. Bu özellikleri ile MDA mutajenik, kültür hücreleri için genotoksik ve karsinojeniktir^{44,45,46,47,50}. Bu yüzden lipid hidroperoksitlerinin oluşumu ve lipid hidroperoksit ürünleri biyolojik olaylarda lipidlere oksidatif hasarın boyutlarının izlenmesinde önemlidir^{3,29}.

İnsanlarda, lipidlere oksidatif hasarın göstergesi olan PUFA'nın peroksidasyon ürünü malondialdehit (MDA) miktarı, tiyobarbitürik asit (TBA) testi ile ölçülmektedir^{3,29}. MDA, tiyobarbitürik asit ile kolayca reaksiyona girer ve renkli bir ürün verir^{44,49}.

2.4. Oksidanların Hedefi Olarak Proteinler

Endojen ve ekzojen kaynaklardan ROS'un devamlı oluşumu hücrel elemanlara devamlı ve biriken oksidatif hasara yol açar ve pek çok hücrel fonksiyon değişir⁵. Biyolojik makromoleküllerin üç ana sınıfı (lipidler, nükleik asitler ve proteinler) serbest radikal saldırısına duyarlıdır ve hepsinin in vivo oksidatif hasara uğradığına dair çok kanıt vardır⁴².

Proteinler canlı hücrelerin major elemanlarını oluşturmaktadırlar ve nispeten bir minör yapısal modifikasyon proteinlerin fonksiyonlarında belirgin bir değişime yol açar. Oksidatif stres altında, proteinler ROS'un başlıca hedefidirler^{24,51}.

Hidroksil radikali ($\text{OH}^\bullet$) veya $\text{OH}^\bullet$, süperoksit anyon radikali ve oksijenin kombinasyonuna ($\text{OH}^\bullet + \text{O}_2^{\cdot -} \rightarrow \text{O}_2$) maruz kalmış proteinler birincil yapılarında değişiklik göstermektedirler. Mevcut çalışmalar birincil yapıdaki değişikliklerin ikincil ve tersiyer yapının biçiminde bozulmayla sonuçlandığını ortaya koymaktadır⁵². Proteinlerin sadece birincil değil ayrıca ikincil ve tersiyer yapılarındaki bozukluklar ile oluşan oksidatif modifikasyonu protein molekülünün kendi amino asit kompozisyonuna bağlı olarak protein agregasyonu veya fragmentasyonu ile sonuçlanır⁵³.

Proteinlerin serbest radikal harabiyetinden ne derece etkileneceği amino asit kompozisyonuna bağlıdır. Proteinin hücrel lokalizasyonuna ve radikalin toksisite gücüne göre protein harabiyetinin boyutları değişebilir⁵⁰.

2.4.1. PROTEİN OKSİDASYONU

Protein oksidasyonu reaktif oksijen türleri ile direkt olarak (primer modifikasyon reaksiyonları) veya oksidatif stresin sekonder ürünleri ile reaksiyonu sonucu indirekt olarak (sekonder modifikasyon reaksiyonları) indüklenen proteinlerin kovalent modifikasyonu olarak tanımlanmaktadır¹.

Reaktif oksijen türlerinin üretimine neden olan tüm reaksiyonlar ve ajanlar protein oksidasyonuna yol açabilmektedir⁵⁴. Proteinlerdeki serbest amino asitler ve amino asit rezidüleri bir ya da daha çok reaktif oksijen türleri tarafından oksidasyona oldukça duyarlıdır⁵⁵. Protein içinde ya peptit bağı ya da yan zincir hedeflenir^{56,57}. Protein ya düşük molekül ağırlıklı ürünlere ayrılır ya da çapraz bağı yüksek molekül ağırlıklı ürünler oluşur^{55,56,57}.

Protein oksidasyonu esas olarak hidroksil radikali ($\text{OH}^\bullet$) ile başlar. Diğer taraftan oksidasyon sürecinde O_2 ile birlikte, süperoksit anyon radikali ($\text{O}_2^{\bullet-}$) ve süperoksit anyon radikalinin protonlanmış formu olan hidroperoksil ($\text{HO}_2^\bullet$) in varlığı da gereklidir^{54,55}. Proteinlerin oksidatif reaksiyonları amino asitlerin yan zincirlerinin oksidasyonuna²⁹ (hidroksil ya da karbonil türevlerine modifikasyonuna), protein-protein çapraz bağlarının oluşumuna ve protein omurgasının oksidasyon yolu ile protein fragmentasyonuna neden olur^{54,55,58,59,60,61}.

Protein oksidasyonunu indükleyen pek çok farklı mekanizma vardır: metal-katalizli oksidasyon, parçalanmayı indükleyen oksidasyon, amino asit oksidasyonu ve lipid ve şekerlerin otooksidasyonu^{19,29,48,62}.

Birkaç amino asit ROS ile yan zincir reaksiyonu aracılığıyla direkt modifikasyona uğrayabilir¹⁹. En duyarlı amino asitler aromatik yan zinciri olanlar ve sülfidril grupları içerenlerdir^{19,54,55,63}.

ROS iki ayrı yol ile peptit bağı ayrılmasını indükleyebilir: diamid yolu ve α -amidasyon yolu^{19,64}. Proteinlerin alkoksil radikalleri ve alkilperoksit türevleri ya α -amidasyon ya da diamid yolu ile parçalanmaya uğrayabilir^{55,64}.

Protein oksidasyonunun indüklenmesi için en yaygın mekanizma proteinlerin metal-katalizli oksidasyonudur¹⁹. Proteinlerin metal-katalizli oksidasyonu proteinler üzerinde metal bağlama yerlerinde H_2O_2 ve Fe(II) etkileşimini içeren yan spesifik bir prosestir⁶⁴. Bu proses H_2O_2 oluşumuna ve Fe(III) ya da Cu(II) gibi iyonların varlığına ihtiyaç duyar. NADH ve NADPH oksidaz ve diğer oksidasyon sistemleri H_2O_2 ve Fe(II) ya da Cu(I) in oluşumunu katalizler. Bu, oksijen ve Fe(III) ya da Cu(II) den sağlanır^{19,20,58,66}. Fe(II) ve Cu(I) iyonları protein içinde spesifik metal bağlama bölgesine bağlanırlar ve $OH^\bullet$ üretmek için H_2O_2 ile reaksiyona girerler. $OH^\bullet$ de metal bağlama bölgesinin yanındaki amino asit rezidülerine saldırır^{19,20,58,66,67}. Prolin, histidin, lizin ve arginin metal-katalizli oksidasyon reaksiyonları tarafından en sık oksitlenen amino asit rezidüleridir^{58,68}.

Radikallere bağlı oksidatif protein hasarı, eşleşmemiş elektronlar, metal iyonlarına bağlı reaksiyonların yanı sıra lipid ve şekerlerin otooksidasyonu ile de başlamaktadır^{48,62}. Şekerin otooksidasyonu ile dikarbonil rezidüleri protein omurgasına komşu süperoksit radikalleri üretir^{69,70}. Böylece protein-bağlı glukoz glikooksidasyona uğrar⁶⁹.

2.4.1.1. Polipeptit Omurgasının Oksidatif Parçalanması

Proteinlerin ROS tarafından oksidasyonu peptit bağlarının parçalanmasına yol açar^{19,21,29,55}. Peptit bağlarının parçalanması iki ayrı yolla; α -amidasyon ve diamid yoluyla olur^{19,54,55}.

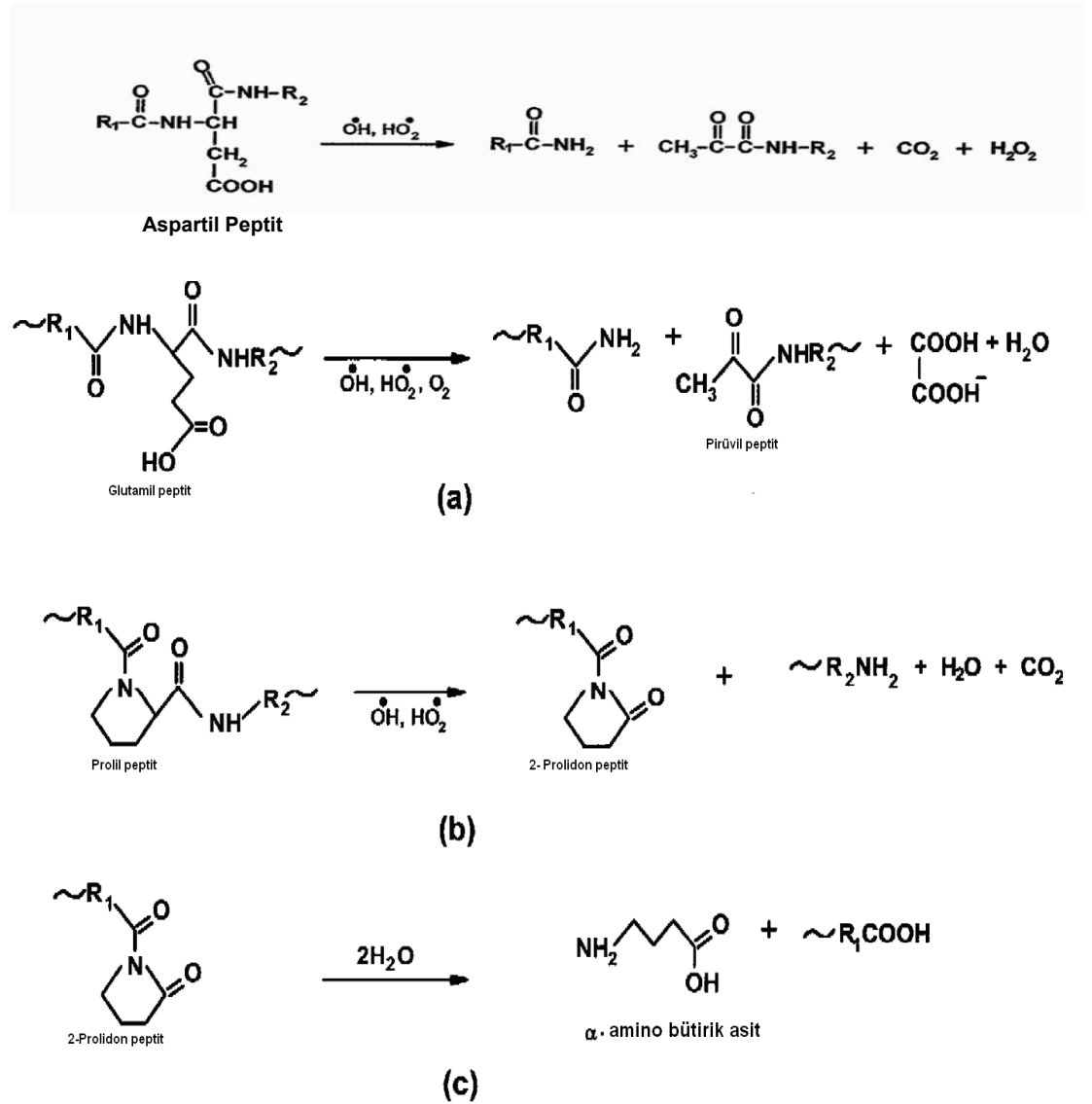
Polipeptit parçalanma Şekil-2'de örneklendirilmiştir⁶⁴. Oksidasyon H_2O oluşturmak için polipeptit zincirinden bir α -hidrojen atomunun $OH^\bullet$ ne bağlanarak ayrılmasıyla başlar ve proteinin karbon merkezli radikal türevi (reaksiyon a, b) peroksil radikali (reaksiyon c) oluşturmak için O_2 ile hızlı bir şekilde reaksiyona girer. Bu türev kolayca $HO_2^\bullet$ ya da Fe^{2+} ve H^+ (reaksiyon d, e) ile reaksiyona girerek protein peroksit'e çevrilir. Bu peroksit başka $HO_2^\bullet$ veya Fe^{2+} (reaksiyon f, g) ile reaksiyona girebilir ya da dismutasyonla (reaksiyon o) alkoksil türevi oluşturabilir^{19,54,64}.

Alkoksil türevi iki farklı mekanizmadan biri ile peptit bağı parçalanmasına uğrar. Birincisinde hidroksil türevi (reaksiyon i, j) doymamış türeve (reaksiyon k) dönüşür. Bu doymamış türev α -amidasyon yolu ile (reaksiyon l) peptit bağı kırılmasına uğrar. Böylece protein N-terminal bölgesinin amid türevi (bileşik I) ve proteinin sonundaki karboksilin N-alkil karbonil türevi (bileşik II) oluşur. Bu, peptit karbonil türevinin üretimi için bir mekanizma sağlar. Alternatif olarak, alkoksil türevi N-terminal parçalanma ürününün (bileşik III) diamid türevinin ve proteinin sonundaki karboksilin izosiyanat türevinin (bileşik IV) oluşumuna yol açan diamid yoluyla¹⁹ (reaksiyon h ve m) parçalanmaya uğrar⁶⁴.

Şekil-3'de gösterildiği gibi peptit bağı parçalanması protein zincirinin glutamil, aspartil ve prolil rezidülerinin OH ile reaksiyonuyla da oluşabilir^{19,55,64}. Proteinlerin prolin rezidülerinin oksidasyon mekanizması prolin rezidülerinin 2-pirolidon türevine oksidasyonunu içerir. 2-prolidon'un asit hidrolizi 4-aminobütirik asit'i verir^{54,55}. Glutamil ve aspartil rezidülerinin oksidasyonu ise N-pirüvil türevini verir⁵⁵.

β- Bölünme:

Şekil-2 ve 3'de özetlenen reaksiyonlara ek olarak, proteinlerin iyonize ışımaya maruz kalması amino asit yan zincirinin β-bölünmesine yol açar. Örneğin alanin, valin, lösin ve aspartik asit rezidülerinin β-bölünmesi sırasıyla serbest formaldehit, aseton, izobutiraldehit ve glioksilik asitin meydana gelmesine yol açar^{61,64}. Her durumda, yan zincirin parçalanması polipeptit zincirde karbon merkezli radikal ($\sim \text{NH}^+ \text{CHCO} \sim$) oluşumuna sebep olur⁶⁴.



Şekil-3 : Prolin, aspartik asit ve glutamik asit yan zincirlerinin oksidasyonu ile protein omurgasının parçalanması^{55,64}

2.4.1.2. Amino Asitlerin Yan Zincirlerinin Oksidasyonu

Proteinlerin serbest radikallerle reaksiyonları çeşitli amino asit yan zincirlerinde oksidasyonla sonuçlanır^{29,63}. Proteinlerin tüm amino asit rezidüleri OH[·] ile oksidasyona duyarlıdır^{15,54}. Özellikle metiyonin, sistein ve aromatik amino asitler ROS-aracılı oksidasyona son derece duyarlıdır^{40,71}. Bazı rezidülerin oksidasyonda oluşan ürünleri tam olarak karakterize edilememiştir¹⁵.

2.4.1.2.1. Sülfür İçeren Amino Asit Rezidülerinin Oksidasyonu

Sülfür içeren amino asitler, sistein ve metiyonin, ROS'un hemen hemen tüm formları ile oksidasyona oldukça duyarlıdır^{11,12,54,63,72}. Ilımlı koşullar altında bile sistein rezidüleri disüfitlere^{54,72,73} ve oksoasitlere^{35,72,74}; metiyonin rezidüleri ise metiyonin sülfoksit (MeSOX) rezidülerine döner^{11,54,55,63,70,73,74}.

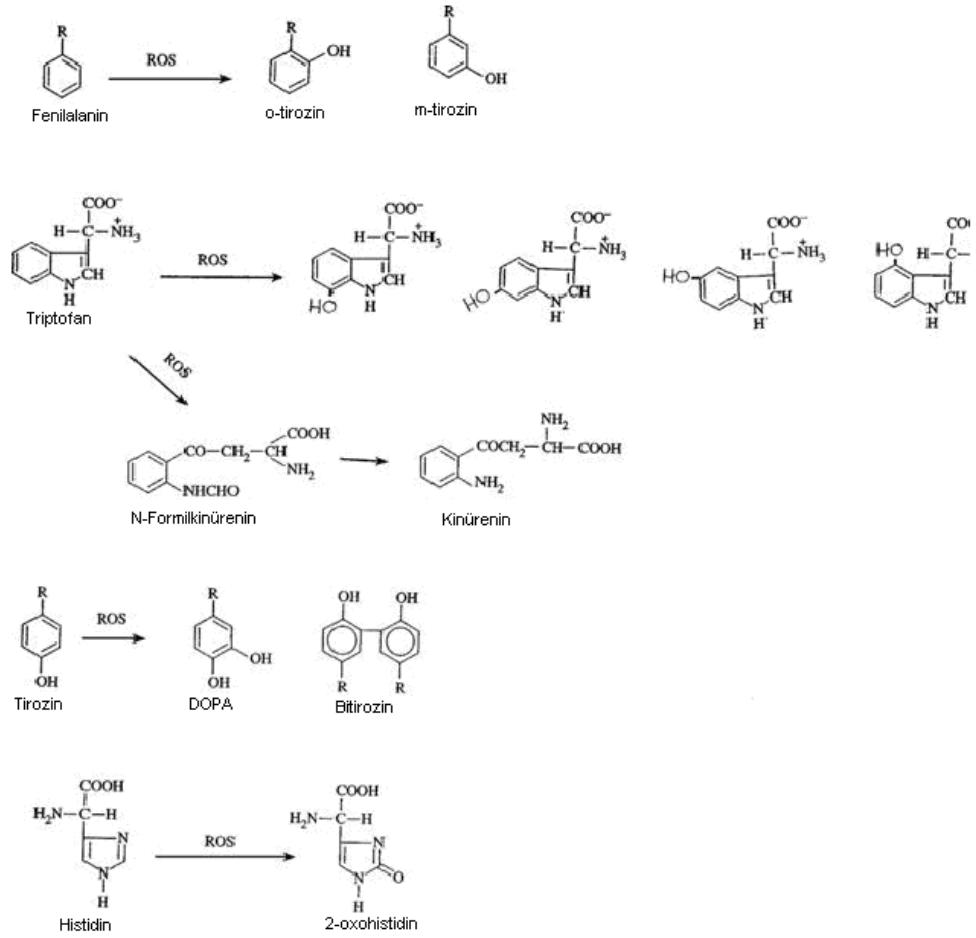
Sistein rezidülerindeki sülfidril gruplarının oksidasyonu genellikle protein ya da peptitlerde agregasyona neden olan intra- veya intermoleküler disüfitlerin oluşumuyla sonuçlanmaktadır⁶³.

Sülfür amino asitlerinin oksidasyonu enzimatik olarak tersinirdir^{11,19,63}. Pek çok biyolojik sistem sisteinin ve metiyoninin okside formlarını onların modifiye olmayan formlarına geri döndüren disüfit redüktazı ve MeSOX redüktazı içermektedir. Bunlar proteinlerin tamir edilebilen tek oksidatif modifikasyonlarıdır^{54,55}.

2.4.1.2.2. Aromatik Amino Asit Rezidülerinin Oksidasyonu

Proteinlerin aromatik amino asit rezidüleri ROS'un çeşitli formları ile oksidasyonda en önemli hedefler^{19,55}. Aromatik amino asitlerin oksidasyonu çeşitli hidroksi türevlerinin oluşumuna yol açar^{62,63}.

Fenilalanin rezidüleri orto- ve meta-tirozin rezidülerine oksitlenir^{29,72}; tirozin rezidüleri 3,4-dihidroksi (DOPA) türevine ve bir de bi-tirozin çapraz bağlı türevlerine dönüşür^{55,60,72,74}. Triptofan rezidüleri formilkinürenin ve kinürenin'e^{70,72} ve çeşitli hidroksi türevlerine oksitlenir^{54,60,72,73}. Histidin rezidüleri 2-oxohistidin^{70,72}, asparagin ve aspartik asit rezidülerine dönüşür^{54,60}.



Şekil-4 : Aromatik amino asit rezidülerinin oksidasyonu⁵⁵

Peroksinitrit İle Reaksiyon:

Nitrik oksit nörotransmisyon, kan basıncı regülasyonu, savunma mekanizmaları, düz kas gevşemesi ve immün regülasyonunu kapsayan geniş çeşitlilikteki farklı fizyolojik süreçlerde önemli bir oksidatif biyolojik sinyal molekülü olarak hareket eden reaktif bir radikaldır^{11,75,76}. NO[•] biyolojik dokularda arginini sitriline metabolize eden spesifik nitrik oksit sentaz (NOS) tarafından üretilir^{5,11,19,24,76}. NO[•] çeşitli radikallerle reaksiyona girebilir^[11]. Örneğin en önemli reaksiyonlarından biri fizyolojik koşullar altında süperoksit ve nitrik oksit radikallerinin peroksinitrit ile sonuçlanan reaksiyonudur^{5,11}.

Nitrik oksit (NO[•]) in arginin metabolizmasının normal bir ürünü olduğunun ve peroksinitrit (ONOO⁻) oluşturmak için O₂^{-•} ile hızlıca reaksiyona girdiğinin keşfedilmesi ile peroksinitrit (PN)'in biyolojik etkileri üzerinde kapsamlı olarak çalışılmıştır⁵⁴.



Proteinlerin metiyonin ve sistein rezidüleri özellikle peroksinitrit ile oksidasyona açıktır. Ayrıca tirozin ve triptofan rezidüleri de PN-bağımlı nitrasyon için seçici hedeftirler⁵⁴. Tirozin rezidüleri ile peroksinitritin reaksiyonu hem 3-nitrotirozin ve ditirozin'i hem de hidroksillenmiş halka ürünlerini verir⁷⁴.

Yan-spesifik metal-katalizli oksidasyon:

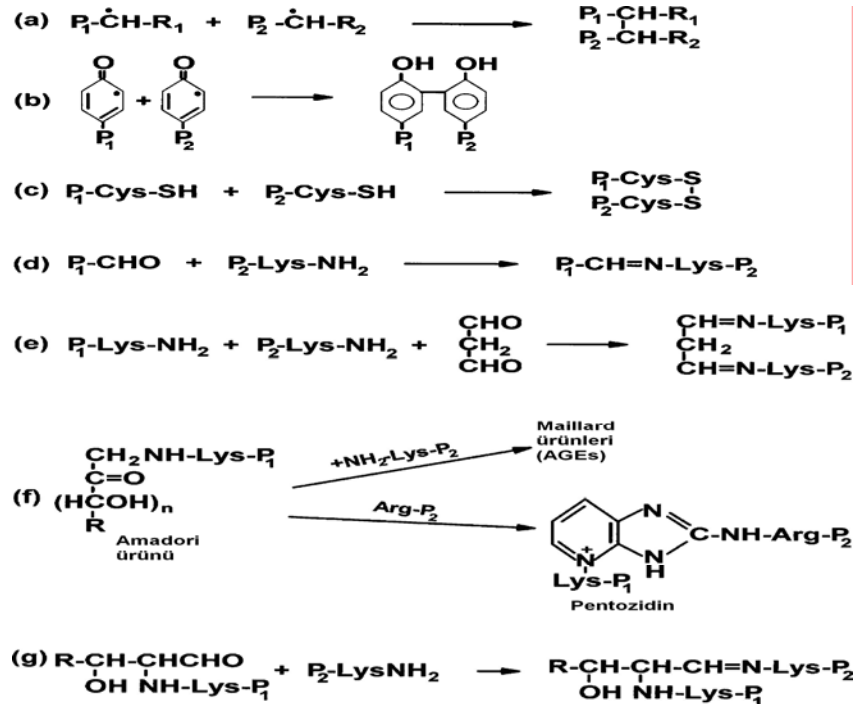
Bazı proteinlerin amino asit rezidülerinin yan zincirleri metal iyon-katalizli oksidasyonla kolaylıkla oksitlenir⁵⁵. Lizin, arginin, prolin ve treonin rezidülerinin yan zincirlerinin oksidasyonu karbonil türevlerini verir^{55,63,68}.

Lizin rezidüsü Fe(II)-katalizli oksidasyon için hedef varsayıldığında bu mekanizmaya göre, Fe(II) nin lizinin amino grubuna bağlanmasıyla oluşan şelat kompleks hidroksil radikali oluşturmak için H₂O₂ ile reaksiyona girer. OH[•] lizin kalıntısına saldırır ve onun 2-amino-adipik semialdehit rezidüsüne dönüşümüne yol açar. Diğer amino asit hedeflerinin Fe(II) ile benzer reaksiyonları karbonil türevlerinin oluşumuyla sonuçlanır⁵⁵.

2.4.1.3. Protein-Protein Çapraz Bağlarının Oluşması

Proteinlerin oksidatif modifikasyonu farklı mekanizmalar aracılığıyla protein içi veya proteinler arası çapraz bağlı türevlerin oluşumuna neden olabilir⁵⁵. Bu mekanizmalar:

- İki karbon-merkezli radikalin direkt etkileşimi
- İki tirozin radikalinin etkileşimi
- Sistein sülfidril gruplarının etkileşimi
- Oksitlenmiş proteinlerin karbonil grupları ile aynı ya da farklı proteinlerdeki lizin rezidülerinin birincil amino gruplarının etkileşimi^{11,55,64}
- Malondialdehit'in her iki aldehit grubu ile aynı veya iki farklı protein molekülündeki iki farklı lizin rezidüsüyle reaksiyonu
- Protein karbonilden türemiş glikasyon/glikooksidasyon ürünü ile aynı veya farklı protein molekülünün ya lizin ya da arginin rezidüsünün etkileşimi
- Lizin rezidüsünün birincil amino grubu ile lipid peroksidasyon ürünleri (4-hidroksi-2-nonenal) ile Michael katılma reaksiyonu aracılığıyla elde edilmiş protein aldehitlerin etkileşimi^{55,64}.



Şekil-5: Protein-protein çapraz bağlarının oluşumu⁵⁵

2.4.2. PROTEİNLERİN OKSİDATİF MODİFİKASYON TÜRLERİ

Protein oksidatif modifikasyonunun pek çok farklı türü vardır çünkü protein oksidasyonunun oluşması için çok fazla mekanizma vardır ve tüm amino açıl yan zincirler oksidatif olarak modifiye hale gelebilir¹.

Proteinlerin oksidatif modifikasyonları için genel kabul gören bir sınıflandırma şeması yoktur. Ancak protein oksidatif modifikasyonu, oksitlenen rezidünün ve oluşan ürünün özelliğine göre spesifik ve global olmak üzere iki gruba ayrılabilir^{56,57}.

Proteinlerin spesifik modifikasyonu durumunda, belirli bir amino asit rezidüsü oksitlenir ve oksidasyondan kaynaklanan ürün oldukça spesifiktir^{56,57,77}. Hem fenilalanin rezidülerinin o-tirozin'e ve tirozin'in ditirozin'e hem de metiyonin'in metiyonin sülfoksit'e oksidasyonu bu tip modifikasyonlara örnektir. Sülfidril gruplarının disülfid bağı oluşumuna oksidasyonu da proteinlerin spesifik oksidasyonunun göstergesi olarak kullanılmaktadır⁷⁷.

Buna karşılık, proteinlerin global modifikasyonu birden çok amino asit rezidüsünün değiştiği ve birden çok ürünün oluştuğu modifikasyonlardır. Karbonil gruplarının oluşumu global modifikasyonun bir örneğidir^{56,57,77}. Protein karbonil grupları lizin, prolin, arginin ve treonin rezidülerinin yan zincirlerinin oksidasyonu ile oluşmaktadır^{55,63,68,71,78}. Protein yan zincirlerinin direkt oksidasyonuna ek olarak karbonil grupları; proteinlerin glikasyon, glikooksidasyon ve lipid peroksidasyon ürünleri ile reaksiyona girmesiyle de oluşmaktadır⁷⁹. Gama ışınları, metal-katalizli oksidasyon, HOCl, ozon ve ¹O₂ gibi geniş aralıktaki oksidasyon kaynakları proteinlerde ve amino asitlerde karbonil gruplarının oluşumuna yol açabilir^{67,80,81}. Ancak bunların indüklenmesi;

metiyonin ve sistein rezidülerinde bulunan sülfür atomlarının oksidasyonu ile kıyaslandığında daha zordur^{80,81}.

Genelde, protein karbonil içeriği oksidatif stresin global işareti olarak kullanılmaktadır. Karbonilasyon tersinmez oksidatif bir prosestir bu nedenle daha şiddetli oksidatif stresin göstergesidir ve nispeten kolaylıkla tayin edilebilmektedir⁷⁷.

Proteinlerin global oksidasyonu, spesifik oksidasyonla karşılaştırıldığında daha fazla sayıda proteine etki ettiğinden daha zararlıdır⁷⁷. O halde spesifik modifikasyonlar risk açısından değerlendirildiğinde, global modifikasyona göre protein molekülünün daha küçük bir kısmında etkili olması nedeniyle, protein fonksiyonları için daha az bir risk taşır.

Sonuç olarak, spesifik veya global analiz seçimi üstlenilen çalışmanın amacına bağlıdır ve pek çok durumda her ikisi de oksidatif stres ya da hasar için yararlı belirteçlerdir^{56,57}.

2.4.3. OKSİDATİF PROTEİN HASARI BELİRTEÇLERİ

Çok sayıda ve farklı çeşitte oksidatif protein modifikasyonu olmasına bağlı olarak, protein oksidasyonunun tek bir evrensel belirteci yoktur⁸². Oksidatif protein hasarını saptamada kullanılan başlıca belirteçler:

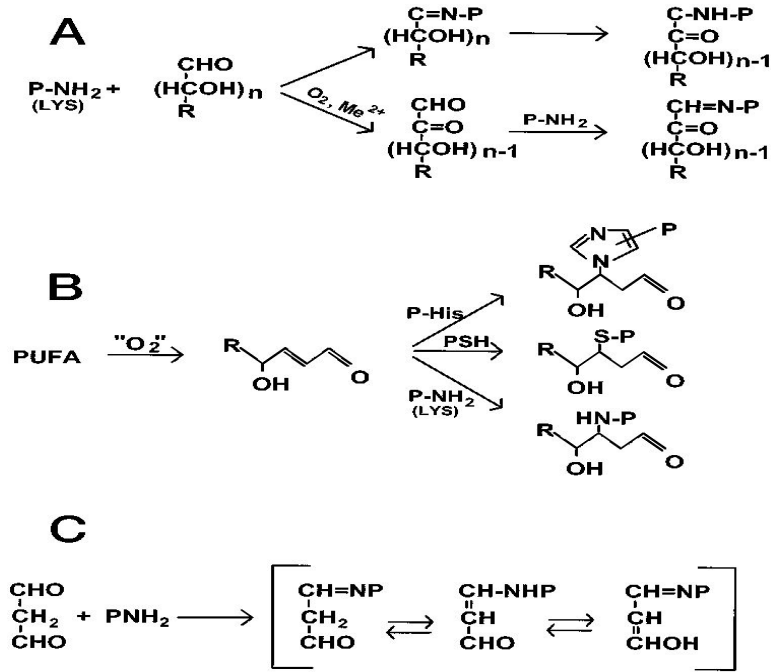
2.4.3.1. Protein Karbonil

Protein karbonil türevleri peptit ana zincirinin oksidatif parçalanmasıyla^{3,20,83,84,85} ya da arginin, lizin, prolin ve treonin gibi amino asit yan zincirlerinin direkt oksidasyonu (primer modifikasyon)

oluşabilir^{71,78,85,86}. Protein karbonil türevlerine yol açan sekonder modifikasyon reaksiyonları; proteinlerin karbohidrat ve lipid oksidasyon ürünleri ile reaksiyonlarını içermektedir^{20,54}. Lipid peroksidasyonu sırasında oluşan aldehitlerin (4-hidroksi-2-nonenal, malondialdehit) lizin, sistein veya histidin rezidüleri ile Michael-katılma reaksiyonu⁸⁷; indirgen şekerler veya bu şekerlerin oksidasyon ürünlerinin proteinlerdeki lizin rezidülerinin primer amino grupları ile reaksiyonu (glükasyon ve glükooksidasyon reaksiyonları) sonucu oluşan reaktif karbonil türevleri (ketoaminler, ketoaldehitler, deoksizonlar) protein yapısına karbonil gruplarının katılmasına yol açar^{3,54,55,82,86,88}.

Lipidlerden türevlenen aldehitler veya otooksidasyona uğramış şekerler Schiff bazı oluşumu yolu ile proteinlerdeki amino gruplarına bağlanır^{62,87,89}. Schiff bazıları kararsız, kısa ömürlü türlerdir⁶². Schiff bazı oluşumunu genellikle hızla Amadori düzenlemesi takip eder^{62,70}. Schiff bazı reaksiyonunun ilk basamakları tersinirken, daha sonra Amadori ürünlerine yeniden düzenlenmesi bunu imkânsız hale getirir⁷⁴.

İleri glükasyon son ürünlerine (AGEs) karboksimetillizin, karboksietillizin ve pentozidin; lipoksidasyon son ürünlerine ise malondialdehit-lizin ve 4-hidroksi-nonenal-protein eklentileri örnek olarak verilebilir^{3,82}.



Şekil-6 : Protein karbonillerin glikasyon, glikooksidasyon ve PUFA (çoklu doymamış yağ asiti) peroksidasyon ürünleri ile reaksiyonu tarafından oluşumu. A. Şekerlerin protein lizil amino grupları (P-NH₂) ile reaksiyonları. B. 4-hidroksi-2-nonenal'in lizin (P-NH₂), histidin (P-His) ya da sistein (PSH) rezidülerine Michael katılma reaksiyonu. C. Protein amino gruplarının (PNH₂) lipid peroksidasyon ürünü malondialdehit ile reaksiyonu⁵⁴.

Protein karbonil içeriği proteinlerin oksidatif modifikasyonunun en genel ve kapsamlı çalışan belirteçidir^{78,86,88,90,91}. Protein karbonillerin başlıca avantajı oksidatif hasarı daha geniş aralıkta kapsaması ve diğer moleküllere göre daha kararlı olmasıdır. Protein karbonillerin kimyasal kararlılığı onları laboratuvar ölçümleri için uygun hedefler yapmaktadır. Depolama için de kullanışlıdır; depolama sürecindeki kararlılıklarının -80°C de 10 yıl olduğu kanıtlanmıştır^{82,86}. Protein karboniller erken oluşurlar⁶⁸ ve oksidatif stresin diğer parametreleriyle kıyaslandığında kanda daha uzun süre dolaşırlar (Serumda en az 4 saat kararlıdır)^{81,82}.

Protein karbonil düzeylerinin ölçülmesi oksidatif protein hasarını belirlemede duyarlı bir yöntemdir^{20,83,84,85}. Protein karbonil

gruplarının bulunması ve miktarının belirlenmesi için farklı duyarlı yöntemler geliştirilmiştir ve bunların çoğu karbonil grubu ile 2,4-dinitrofenilhidrazin (DNPH) in kararlı dinitrofenil (DNP) hidrazon ürününün oluşumuna yol açan reaksiyonunu içerir^{68,80,82,89,92,93,94}.

2.4.3.2. Protein Tiyol

Pek çok oksidan protein tiyol oksidasyonuna neden olur⁹⁵. Tiyol proteinler hedef olarak uygundurlar çünkü sistein rezidüleri oksidasyona oldukça duyarlıdır^{95,96}. Tiyol gruplarının disüflitlere ve oksoasitler gibi diğer oksitlenmiş türevlere dönüşümü, radikal aracılı protein oksidasyonunun en erken gözlenebilen belirtisidir⁶². Örneğin, nitrik oksit tiyol gruplarını S-nitrozilasyona uğratarak protein S-nitrozotiyol (protein-SNO) oluşturup protein ve reseptör fonksiyonlarını değiştirebilir¹¹ ya da hidrojen peroksit disüflit oluşumu ile protein tiyollerin kaybına yol açabilir veya tiyol grubunu sülfidik veya sülfonik asitlere direkt olarak oksitleyebilir⁹⁵. Ayrıca tiyol grupları hidroksinonenal (HNE), malondialdehit (MDA) gibi lipid peroksidasyon ürünlerinin sistein rezidülerine kovalent olarak bağlanmasıyla da oksidasyona uğrayabilir¹.

Protein tiyoller farklı mekanizmalarla antioksidan görevi görürler^{83,85}. Antioksidan fonksiyonunu, peroksidasyonu başlatan oksidanları tutarak gösterirler. Böylelikle vitamin E ve/veya lipidleri saldırıdan korurlar^{83,85,97}. Glutatyon ve sistein gibi düşük molekül ağırlıklı tiyoller önemli hücresel antioksidanlardır⁹⁸. Özellikle glutatyon oksidatif hasara karşı hücresel savunmada merkezi bir rol oynar⁹⁹. Glutatyon ve sistein gibi biyolojik tiyoller oksidanlarla indüklenen protein inaktivasyonunu, ya direkt olarak radikallerle reaksiyona girerek ya da indirekt olarak proteinlerdeki serbest tiyol grupları ile geri dönüşümlü bağlar oluşturarak önlerler⁶².

Pek çok protein ve enzim yan zincirlerinde sülfidril grubuna sahip sistein rezidülerinden oluşmaktadır⁹⁹. Serbest radikaller proteinlerdeki tiyol (-SH) gruplarının oksidasyonuna yol açarak oksidatif protein hasarına neden olur^{54,62,91}. Proteinlerin sisteinlerindeki kovalent modifikasyonları proteinin kendine özgü fonksiyonu için tehlikeli olabilir⁹⁹.

Serbest radikallerin plazmada protein SH gruplarının oksidasyonuna neden olduğu gösterilmiştir⁸⁴. Albümin en fazla olan plazma proteindir^{84,91,97} ve oksidatif stresin başlıca plazma protein hedefidir¹⁰⁰. Albüminin konformasyonu değiştirildiğinde, tiyol (-SH) grupları oksitlenebilir. Bundan dolayı plazma tiyol (T-SH) düzeyinin ölçülmesi aşırı serbest radikal üretiminin iyi bir yansımasıdır^{84,91}.

2.4.3.3. Nitrotirozin

Nitrotirozin (NT) oluşumu oksidatif protein hasarına neden olan bir diğer moleküler mekanizmadır⁸⁴. Hedef proteinlerin peroksinitrit aracılı nitrasyonu tirozin rezidülerinde oluşur ve ana ürün olarak 3-nitrotirozin üretilir¹⁰¹.

Peroksinitrit güçlü ve sitotoksik bir oksidandır^{8,102,103}. Peroksinitrit direkt sitotoksik olabildiği gibi kendisi yıkıldığında hidroksil radikali ($\text{OH}^\cdot$) ve nitronyum iyonu (NO_2^+) gibi radikal ürünlere de dönüşür^{8,27,104,105}.

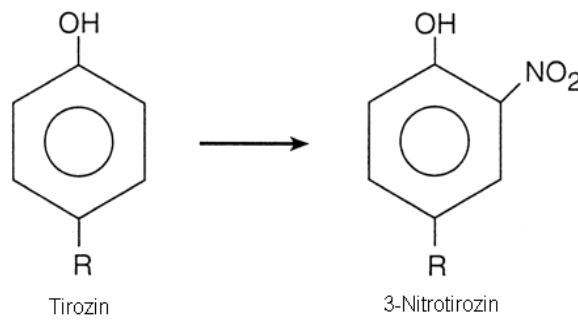
Peroksinitrit (ONOO^-); süperoksit anyonu ($\text{O}_2^{\cdot -}$) ile nitrik oksit (NO) arasındaki reaksiyondan oluşur^{42,70,102,103,105,106,107}. Peroksinitrit oluşumu hem nitrik oksit hem de süperoksit anyon radikalinin konsantrasyonuna dolayısıyla da hem nitrik oksit sentaz (NOS) hem de süperoksit dismutaz (SOD) ın aktivitesine bağlıdır. Nitrik

oksit, nitrik oksit sentaz tarafından üretilir^{3,11}; süperoksit konsantrasyonu da süperoksit dismutaz tarafından kontrol edilir^{14,108}. Normal koşullarda, süperoksit dismutaz, oluşan tüm süperoksit radikallerini dismutasyona uğratmaya yetecek düzeydedir. Fakat süperoksit düzeyleri çok artmışsa ya da fazla miktarda nitrik oksit meydana gelmişse peroksinitrit oluşur¹⁰⁹. Peroksinitritin yaşam süresi fizyolojik çevrede hızlı reaksiyonlarla kısaltılır. Peroksinitrit milisaniyeden kısa zamanda biyohedeflerle reaksiyona girer¹⁰⁸.

Peroksinitritin proteinler üzerine atağının ana ürünü tirozinin orto- pozisyonunda nitrolanmasıdır, bu da nitrotirozin oluşumuna yol açar^{83,84,85,110,111}. Tirozinin nitrolanması bir kovalent protein modifikasyonudur¹¹¹.

Tirozinin geri dönüşümsüz olarak nitrasyonu, tirozinin fosforillenmiş ve fosforillenmemiş formlarının birbirine dönüşümünü engelleyerek, enzim aktivitesinin düzenlenmesini ve sinyal ileti mekanizmalarının regülasyonunu etkiler^{54,55,106,108}.

Nötral pH'da 3-nitrotirozin; peroksinitrit ile protein oksidasyonunun karakteristik, kararlı bir ürünü olmasına bağlı olarak, nitrotirozin konsantrasyonu NO-bağımlı in vivo hasarın tespitinde kullanışlı bir belirteçtir^{14,84,112}.



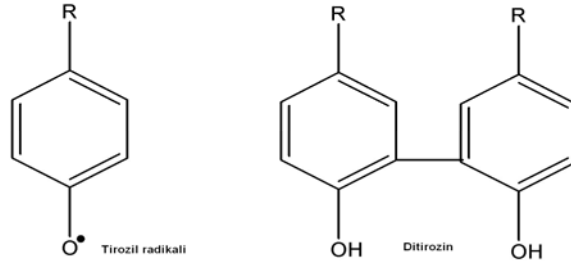
Şekil-7 : Reaktif nitrojen türleri ile tirozinin nitrolanmasıyla 3-nitrotirozin oluşumu¹¹⁴

2.4.3.4. Ditirozin

Tirozinin oksidasyonu en çok dihidroksillenmiş maddeleri verir. Tirozinin oksidasyonu sonucu dimerik madde olan ditirozin oluşur⁷⁴. Protein tirozin rezidülerinin fenoksil hidrojen atomu tirozil radikali vermek için kolaylıkla ayrılır. Bu türler proteinler üzerinde kararlı çapraz bağlar oluşturarak hızla fazla tirozil radikalleriyle reaksiyona girerler. Oluşan başlıca ürün o-o'-ditirozin'dir^{29,112}. Tirozil radikali oluşumu hidroksil radikali ve ONOO⁻ gibi bazı güçlü oksidanların bir sonucu olarak oluşur¹¹².

Ditirozin tirozil (fenoksil) radikallerinin dimerizasyonu ile ortaya çıktığından bu ürünün verimi radikal akışına bağlıdır^{72,74}. o-o'-Ditirozin myeloperoksidazlar gibi peroksidazlar ve diğer hem proteinlerini içeren oksidatif sistemler ile üretilen tirozil radikali ile de üretilir¹¹³. Örneğin myeloperoksidaz/H₂O₂ sistemleri ditirozini verir^{62,74}. Myeloperoksidaz fagositler tarafından salgılanan bir hem proteindir ve serbest metal iyonlarına gerek duymaz¹¹⁴. Myeloperoksidaz hidrojen peroksite gereksinim duyan bir reaksiyon ile tirozini hızla ditirozinine çevirir¹¹⁵. Myeloperoksidaz hidrojen peroksiti L-tirozini tirozil radikaline çevirmek için kullanır ve kararlı çapraz bağlı ürün ditirozin üretilir¹¹⁶.

o-o'-Ditirozin yoğun bir şekilde floresan bir bileşiktir^{73,114,115}. Ditirozin bir peptit bağı ile değil de hem proteolitik bozulmaya hem de asit hidrolizine dirençli bir kovalent bağ ile bağlı olan farklı bir moleküldür¹¹⁷. Ditirozin metabolik olarak kararlı olduğundan avantajı vardır⁸⁶. Ditirozin normalde proteinlerde düşük seviyelerde bulunur. Seviyeleri oksitlenmiş proteinlerde çarpıcı biçimde artar¹¹³. Ditirozinin bu özellikleri onu protein oksidasyonu için yararlı bir belirteç yapmaktadır¹¹⁷.



Şekil-8 : Tirozil radikali ve o-o'-dittirozin⁵³

2.4.3.5. 2-Oxohistidin

Histidin oksidasyon reaksiyonlarına en çok maruz kalan amino asitlerden biridir¹¹⁸. Histidinin metal-katalizli oksidasyonu 2-oxohistidin oluşumuna neden olur^{1,24,72,118}. Oxohistidin histidin oksidasyonunun tek belirticidir. Bu ürünün diğer oksidanlarla oluşup oluşmadığı ya da oksiradikal kimyası için spesifik olup olmadığı belirsizdir⁷⁴.

2.4.4. PROTEİN OKSİDASYONUNUN ÖNEMİ VE BİYOLOJİK SONUÇLARI

Reaktif oksijen türleri (ROS) biyomoleküllerin tüm çeşitlerine zarar verebilir ve DNA, lipidler ve proteinlere oksidatif hasar toksik ve belki de eş zamanlı olabilir^{81,82}. Proteinler biyolojik sistemlerde yüksek oranda bulunduklarından ve hücrelerde aslında pek çok fonksiyonel prostenen sorumlu olduğundan ROS için ana hedeftirler⁸⁶. Bununla birlikte proteinler muhtemelen oksidatif hasara en duyarlı moleküllerdir⁸².

Hücresel homeostazi için protein oksidasyonunun önemi proteinlerin düzenleyici hücre yapılarında, hücre sinyal iletiminde ve hücrenin çeşitli enzimatik proseslerinde hayati rol oynadığı gerçeğinden türemektedir. Bu nedenle protein oksidasyonu hücre sinyal iletimine, hücre yapısına ve enzimatik proseslere direkt olarak etki ederek oksidatif strese katkı sağlamaktadır¹⁹.

Pek çok protein hasarı tamir edilemezdir ve protein yapısının oksidatif değişimleri: enzimatik ve bağlanma aktivitelerinde inhibisyon, agregasyona ve proteolize duyarlılığın artması, hücreler tarafından alımın artması ya da azalması ve bağışıklık sisteminde değişim gibi geniş aralıkta fonksiyonel sonuçlara neden olur⁸⁶.

Enzimlerin ve yapısal proteinlerin oksidatif modifikasyonları birkaç insan hastalığının etiyolojisinde ve ilerlemesinde rol oynar⁸¹. Enzimlerin oksidatif modifikasyonu onların konformasyonlarında substrat ve/veya allosterik efektörlere afinitelerini etkileyen değişikliklere yol açar¹¹⁹. Enzimlerin oksidatif modifikasyonunun enzim aktivitelerini geniş bir aralıkta inhibe ettiği gösterilmiştir. Genellikle aktif bölgenin içinde ya da yanında bir metale sahip enzimler özellikle metal-katalizli oksidasyon ile inhibisyona duyarlıdırlar. Enzimlerin oksidatif modifikasyonu, modifiye moleküllerin yüzdesine ve modifikasyonun kronikliğine bağlı olarak hücresel veya sistemik metabolizma üzerinde ya hafif ya da şiddetli etkilere sahip olabilir¹. Glutamin sentaz ve kreatin kinaz oksidatif olarak duyarlı enzimlerdir⁹².

Yapısal proteinlerin modifikasyonu da fonksiyon kaybına yol açabilir¹. Örneğin plazma proteini fibrinojen okside olduğu zaman katı pıhtı oluşturma yeteneğini kaybeder^{1,82}. Pıhtılaşmanın inhibisyon derecesi proteindeki karbonil oluşumu ile ilişkilidir¹. Ayrıca proteinlerin –SH gruplarının kaybı ağır metaller ve sülfür içeren amino asitlerin albümin tarafından bağlanması gibi spesifik fonksiyonların kaybına da yol açabilir¹²⁰.

Protein oksidasyonunda proteaz inhibitör aktivitesinde kayıp meydana gelir⁵⁹. α -1 antitripsin gibi proteaz inhibitörleri oksidatif

olarak modifiye olduklarında ciddi fizyolojik sonuçlar izlenir¹. Bu plazma proteini akciğer ve kıkırdak gibi dokularda proteoliz inhibisyonundan sorumludur. α -1 antitripsin'de metiyonin rezidüsünün modifikasyonu fonksiyon kaybına neden olur^{1,69}. Bu modifikasyondan sorumlu birincil oksidan HOCl olabilir¹.

Plazma düşük dansiteli lipoprotein (LDL) birkaç farklı tipte oksidatif modifikasyona uğradığı kanıtlanmıştır. LDL'nin Cu^+ a maruz bırakılması LDL proteinin oksidasyonuna neden olur. Bu da karbonil gruplarının oluşumuna, agregasyona ve temizleyici reseptör vasıtasıyla doku makrofajları tarafından hücrel alımda artışa yol açar ve birikim söz konusu olur¹. Okside LDL'nin kontrolsüz alımı aterosklerozun patogeneğinde rol oynamaktadır^{69,114}.

Benzer şekilde gözün lensinde kristalin proteininin oksidasyonunun protein çapraz bağları ve yüksek molekül ağırlıklı agregatlara yol açtığı düşünülmektedir. Lenste böyle protein modifikasyonları katarakt oluşumuna neden olur^{1,121,122}.

Sinoviyal sıvıdaki immünoglobulinlerin oksidasyonu agregasyona neden olur ve romatoid artrit etyolojisine katkıda bulunur¹.

Sonuç olarak, reseptörlerin, sinyal ileti mekanizmalarının, yapısal proteinlerin, transport sistemlerinin ve enzimlerin rol oynadığı hücrel olaylar oksidatif protein hasarından etkilenir⁸³. Ayrıca proteinlerin in vivo oksidatif hasarı yalnızca kendi görevlerinde değil bir de diğer biyomoleküllere ikincil hasara (örneğin DNA tamir enzimlerinin inaktivasyonu, DNA replikasyonunda DNA polimerazlarının kaybı ve otoimmün cevaba neden olan yeni antijenlerin gelişmesi) neden olduğundan önemlidir^{83,86}.

2.5. REAKTİF TÜRLERİN KANSERLE İLİŞKİSİ

Reaktif oksijen türleri direkt ya da indirekt olarak nükleik asitlere, lipidlere ve proteinlere geçici ya da kalıcı zarar verebilir¹²³. Oksidatif serbest radikal reaksiyonları ve oksidatif hasar pek çok durumda antioksidan savunma mekanizmalarıyla tutularak kontrol edilir fakat oksijen serbest radikallerin miktarının aşırı olduğu durumlarda ya da savunma mekanizmalarının tamir edilemediği yerlerde oksidatif hasar oluşur¹²⁴. Hücrel makromoleküllere oksidatif hasar kanseri içine alan pek çok hastalığın patolojisine dahil edilmektedir^{14,17,46,123,124}.

Kanser pek çok iyi gelişmiş ülkedeki ölümlerin başlıca nedenlerinden biridir¹²⁵ ve çok basamaklı bir prosestir^{126,127}. Bu proseste, tek bir hücre normal dokudan er geç organizmayı yıkabilen malign hücreye gelişebilir. Kanser gelişimi aracılığıyla oluşan hücrel ve moleküler değişikliklerin kompleks dizisi, çeşitli endojen ve çevresel uyarıcıların arabuluculuğuyla olabilir¹²⁶. Reaktif oksijen türlerinin karsinojenlerin birkaç özelliğine sahip oldukları kanıtlanmıştır³⁹.

Organizmada ya fizyolojik ya da patolojik metabolizma aracılığıyla üretilen serbest radikaller; DNA, protein ve lipidlere zarar vererek karsinogenezin hem başlamasında hem de ilerlemesinde önemli rol oynarlar^{2,27,39,128}. Bu son derece reaktif olan bileşikler karsinogenezde başlatıcı ve/veya ilerletici olarak hareket edebilirler; DNA hasarına neden olurlar, protoonkogenleri aktive ederler, lipid peroksidasyonunu başlatırlar, enzim sistemlerini inaktive ederler ve hücrel antioksidan savunma sistemini değiştirirler^{39,129,130}. Örneğin NO[•] karsinojenik nitrozaminlerin oluşumu, RNS üretimi ve DNA hasarı tamir mekanizmalarının inhibisyonu ile DNA hasarına aracılık edebilir. Böylece tümör başlatıcı ajan olarak ifade edilebilir. Bununla birlikte, NO[•] un kanser gelişiminin adımlarına da etkisi vardır³⁹. NO[•] karsinogenez

tümör süpresör onkoprotein p53'ü inaktive ederek ilerletebilir¹³¹.

Oksidatif stresin karsinogenez gelişimine katkıda bulunduğu spesifik mekanizma büyük oranda bilinmemektedir. Fakat en az iki farklı mekanizmanın oksidatif hasar ve karsinogenez gelişiminde rol oynadığı düşünülmektedir.

Oksidatif hasarın karsinogenezi etkilediği ilk mekanizma gen ekspresyonunun modülasyonu aracılığıyla¹³². Aktif oksijen türlerinin protein kinaz yollarını stimüle ettiği, bu şekilde de sinyal iletim yollarını etkilediği gösterilmiştir^{35,36,132}. Bu ayrıca çoğalma ve tümör gelişimi için esansiyel genlerin ekspresyonunun modülasyonuna yol açmaktadır^{128,132}.

İkinci mekanizmada, radikaller karsinogenezin başlamasında rol oynayan mutasyonlar ve kromozomal yeniden düzenlemeler gibi genetik değişiklikleri indükler^{17,132,133}. Oksidatif DNA hasarı DNA replikasyonunun blokajına ve geniş sitotoksiteye neden olan geniş aralıktaki kromozomal anormalliklere yol açar¹³². Oksidanların başlatma potansiyelinin karsinogeneze katkısı belirli onkogenlerde ve tümör süpresör genlerde DNA baz değişikliklerini indükleme yeteneklerinden kaynaklanır^{125,132}. Hidroksil radikalının belli onkogenleri aktive ettiği kanıtlanmıştır. Aktivasyon bu genlerde DNA nokta mutasyonlarının indüksiyonu aracılığıyla ilerler. Baz nokta mutasyonlarının p53 gibi tümör süpresör genlerinin inaktivasyonuna yol açtığı bulunmuştur¹³².

Kanserde sürekli oksidatif stres tümör hücrelerinin belirli transkripsiyon faktörleri ve onkogenlerin aktivasyonu, genomik instabilite, kemoterapi direnci, saldırı ve metastaz gibi bazı özelliklerini açıklayabilir¹³⁴.

Kanserde oksidatif stresin önemini özetleyecek olursak; ilk olarak oksidatif stres, intraselüler sinyal iletim sistemi aracılığıyla NF- κ B gibi transkripsiyon faktörlerini aktive edebilir^{2,35,87} ve protoonkogenlerin ekspresyonunu indükleyebilir. İkinci olarak, oksidatif stres kanserde mutasyona ve kromozomal sapmaya yol açan iplik kırılmaları ve modifiye baz ürünleri ile DNA hasarını indükler (genomik instabilite). Üçüncü olarak, kanser hücrelerinde kanser hücrelerinin kemoterapiye karşı dirençli olmasını sağlayan spesifik antioksidan sistemlerini aktive edebilir. Son olarak, ROS spesifik olarak, α_1 -proteaz inhibitör, α_2 -makroglobulin, α_2 -plazma inhibitörünü kapsayan proteaz inhibitörlerine zarar verebilir¹³⁵.

2.6. KANSER

Kanser insanları etkileyen en karmaşık hastalıklardan biridir. Moleküler ve hücre biyolojisinde yapılan hızlı ve etkileyici ilerlemelere rağmen, kanser hücrelerinin karsinogenez boyunca nasıl geliştiği ve metastatik yeteneklerini nasıl kazandıkları hala kapsamlı olarak tartışılmaktadır^{136,137}. Kanser kronik bir hastalıktır çünkü solid tümör durumunda kişinin bir kimyasal ya da viral karsinojene maruz kalmasından tümörün klinik olarak bulunmasına kadar olan süre 20-40 yıllık bir süredir¹³⁸. Bugün 100'den fazla farklı türde insan kanseri tanımlanmış ve spesifik organların içinde çeşitli tümör alt tipleri bulunmuştur^{136,137}.

Çok hücreli organizmalarda, hücre büyümesi genel olarak organizmanın spesifik ihtiyaçlarına cevap verebilecek iyi regüle edilmiş bir prosestir. Ancak, zaman zaman, hücresel çoğalmanın normal regülasyonu kaybedilir ve hücre ihtiyaçtan fazla kopyalanabilir. Eğer bu hücreler düzensiz büyüme özelliğini sürdürürlerse, sınırsız büyüme potansiyelli hücre klonu ya da tümör oluşabilir. Tümörler benign ve

malign olmak üzere ikiye ayrılır. Benign tümörler ortaya çıktıkları yerde kalırken, malign tümörler ya da kanserler dokulara saldırma ve uzak yerlere yayılma kabiliyetine sahiptirler¹³⁹. Kanser gelişimi sürecinde tümör hücreleri normal hücrelerin yapamadığı bölünme, komşu hücreler yapılarına saldırma, metastaz ve konakçıyı öldürme gibi yetenekler kazanırlar¹³⁸.

En yaygın insan kanserlerinin neoplastik evrimi birçok mutasyonel olayın sonucu olarak meydana gelir^{140,141}. Mutasyonlar DNA'nın nükleotit dizisindeki değişiklikler olarak tanımlanır^{125,138}. Bu mutasyonlar nokta mutasyonları, delesyon mutasyonları, kromozomal yeniden düzenlemeler, gen amplifikasyonu ve kromozom kayıpları ve kazanımlardır^{125,140,142,143}.

2.6.1. KARSİNOGENEZ

Karsinogenez çok basamaklı bir süreçtir^{35,136,144,145,146}. Karsinogenez ekzojen ajanlara maruz kalınmasıyla indüklenebilir ya da istemeden veya aktif aracı olmadan kendiliğinden (pasif karsinogenez) oluşabilir.

Pasif karsinogenez kontrolsüz değişkenlerin bir sonucudur¹⁴⁷. Normal hücre bölünmesi, DNA replikasyonu sırasında düşük seviyede spontan hatalara sebep olabilir ve spontan DNA hasarı fizyolojik sıcaklıklarda sitozin deaminasyonundan, normal hücreler fizyoloji ile ilişkili oksidatif hasardan ve gıda, hava ya da sudaki mutajenlerden kaynaklanabilir. Böylece mutasyonlar spontan olarak normal hücreler proselerden oluşur¹⁴⁵.

Aktif ve pasif karsinogenez arasında bir fark yoktur, ancak, bazı karsinogenik ajanların etki mekanizmasının deneysel olarak

belirlenmesinde, karsinogenik süreç sırasında kontrolsüz (spontan) olaylar büyük bir rol oynayabilir¹⁴⁷.

Canlı organizmalarda karsinogenez aktif olarak çeşitli farklı ajanlarla indüklenebilir. Bu ajanlar 4 farklı kategoriye ayrılır: kimyasal, fiziksel, biyolojik ve genetik^{39,147}. Hem biyolojik hem de genetik karsinogenezde, karsinojenik ajan nispeten yüksek molekül ağırlıklı haberci makromoleküllerden, ya DNA ya da RNA'dan oluşur. Diğer yandan, ışıma karsinogenezi, haberci makromoleküllerin mekanizmasıyla değil de yüksek enerjili fotonlar ya da parçacıklar ile mevcut DNA'nın direkt veya indirekt mekanizmasından meydana gelir¹⁴⁷. Kimyasalların insan kanserlerinin indüklenmesinde büyük önemi olduğu görülmektedir. Kimyasal karsinojenler geniş aralıkta yapılar içerirler¹⁴⁸. Yaygın özellikleri, son formlarının elektrofilik¹⁴⁰ reaktanlar olması ve pek çok durumda bu reaktanları in vivo metabolizma aracılığıyla ortaya çıkarmalarıdır¹⁴⁸. Çok küçük moleküler ağırlıklı kimyasallar ile karsinogenez ya hücrel DNA üzerine kimyasalın direkt etkisini ya da DNA yapısında kalıcı kimyasal değişime neden olan hücrel DNA ile reaksiyona girebilen kimyasalın metabolizmasını içerir¹⁴⁷.

İnsan karsinojenlerinin etki mekanizması hem genetik hem de epigenetik prosesleri kapsar^{139,140,142,145}.

2.6.1.2. Karsinogenezin Evreleri

Karsinogenez çok basamaklı, multijenik ve çok nedenli bir süreçtir¹⁴⁵. Karsinogenez üç farklı evreye ayrılır: başlama, gelişme ve ilerleme^{139,144,145,149}.

2.6.1.2.1. Başlama Evresi

Başlama evresi hücrelerin genetik materyalinde kalıtsal mutasyonları gerektirir^{127,144,146}. Başlama evresi mutajenlere maruz kalınmasıyla indüklenir ve hücrenin doku büyüme sınırlamasına duyarlılığını azaltan bir mutasyonla başlar^{35,144}. Bu mutasyon hücreye büyüme avantajı sağlar¹⁴⁶. Çoğu tümör başlatıcı ajan elektrofilik reaktandır¹²⁷. Karsinogenlerin elektrofilik türevlerinin DNA ile kovalent reaksiyonları bu mutasyonların başlıca nedenidir^{127,148}. Bu ajanların tek bir işlemi genellikle tümöre neden olmaz fakat tümör oluşumuna sebep olan potansiyel hasara yol açar¹³⁹.

Bu evre uyarılmış hücrede sürekli ve tersinmez¹²⁷ bir değişikliği yansıtır¹⁴⁷. Başlama hücresel doku morfolojisinde küçük veya gözlenemeyen değişikliklere sebep olur. Başlama evresi süresince mutasyona uğramış hücreler çok yavaş çoğalırlar ve er geç maksimuma ulaşırlar. Bu periyodun süresi belirsizdir. Uyarılmış populasyon, dokunun görünüşünde gözlenemeyen bir değişiklik yaratmasına rağmen, yine de normal doku üzerinde avantajlıdır çünkü evrime izin veren adaptif yer üzerinde bulunmaktadır. Bu yüzden daha tümör oluşturuvcu fenotiplerdir¹⁴⁴.

Başlangıç evresinin tersinmez doğası ve eşikten yoksun olması ajanlara önemli seviyelerde maruz kalınmasının insan kanserinin gelişmesi için önemli risk olduğunu akla getirmektedir¹⁴⁷.

2.6.1.2.2. Gelişme Evresi

Gelişme evresi gen aktivasyonu ile karakterize edilir ve tüm hedef doku üzerinde harekete geçer¹⁵⁰. Gelişme evresi papilloma gibi pek çok benign tümörün gelişimiyle sonuçlanan mutajenik olmayan

promotörlerin tekrarlanan uygulamalarıyla tamamlanır¹⁵¹. Genelde, tümör promotörler başlatıcılardan tamamen farklı özelliklere sahiptirler¹³⁹. İlk olarak promotörler kendileri mutajenik değildir ve DNA'ya kovalent olarak bağlanmazlar¹²⁷, gelişme yaygın olarak gen yapısında değil gen ekspresyonunda değişiklikleri içeren epigenetik^{145,150} bir olaydır^{139,152}. Promotörler direkt olarak yapısal genetik değişiklikleri indükleyememesine rağmen, mutasyona yol açan metabolik değişiklikleri indükleyebilir¹³⁹.

Gelişme evresini başlama ve ilerleme evresinden ayıran en önemli özelliği tersinir olmasıdır^{127,147}. Ayrıca başlangıç evresinin aksine, gelişme evresi devamlı olarak çeşitli çevresel faktörlerle modüle edilebilir¹⁴⁷. Deneysel kanıtlar başlama evresinden sonra, tümör oluşumunun yaralanma ya da inflamasyon gibi bir dış olay ile uyarılabildiğini göstermektedir¹⁴⁴.

Spesifik olarak, çeşitli promotörlere maruz kalmanın bir sonucu olarak oluşan aktif oksijen radikalleri baz modifikasyonları, DNA ipliğinin kırılması ve kromozomal değişikliklere yol açabilir. Bu ikincil etkiler hücrelerin gelişimden ilerlemeye geçişini hızlandırabilir¹³⁹.

Promotörlerin etkisi bir eşik gösterir ve tersinirdir¹²⁷, eğer maruziyetin dozu ve sıklığı yeterli derecede düşük ise bu ajanlar insan kanserlerinin indüklenmesi için nispeten daha düşük risk oluştururlar. İnsanda promotörlere devamlı maruziyet, gelişme evresinde bir veya daha fazla hücrede ilerleme evresinin pasif (spontan) olayının bir sonucu olarak maligniteyle sonuçlanır¹⁴⁷.

2.6.1.2.3. İlerleme Evresi

İlerleme evresi aslında gen amplifikasyonu, kromozomal translokasyonlar, kromozomal delesyon ve/veya duplikasyon için artmış kapasiteyi içeren genetik anormalliklerle sonuçlanan karyotipik instabiliteyle¹⁵³, evrimle ve tersinmez gelişimiyle karakterize edilebilir¹⁴⁷. Malign tümörler benign ya da diğer neoplastik lezyonlardan kendi histopatolojik özellikleri nedeniyle ayrılırlar¹⁴⁵. İlerleme ya da malign dönüşüm olarak adlandırılan benign tümörlerin karsinomalara dönüşüm oranı, bazı ajanlara muamele ile arttırılabilir.

Başlama evresine benzer şekilde, ilerleme evresinin genetik bir temele sahip olduğu ve aslında tersinmez olduğu düşünülmektedir¹³⁹. Tersinir gelişme evresinden ilerleme evresinin ayrılmasının bu evreye eşlik eden hücre genomundaki belli değişikliklerden dolayı olduğu farzedilmektedir¹⁴⁷.

2.6.1.3. Karsinogenezde Moleküler Hedefler

Çoğalma ve farklılaşmanın regülasyonunu kapsayan genlerin ekspresyonunda ya da fonksiyonlarında değişime yol açan kalıtsal değişiklikler karsinogenezde önemlidir¹³⁹. Protoonkogenler ve tümör süpresör genler böyle gen sınıflarından ikisidir^{139,145,154}. Protoonkogenler normal hücresel genlerdir, mutasyonel mekanizmalarla onkogenlere aktive edildiklerinde tümörler için pozitif çoğalma sinyallerine yol açan büyüme ve farklılaşma regülasyonunu değiştirirler^{139,152}.

Protoonkogen ürünler hücre sinyalinin tüm evrelerine karışan molekülleri içerir. Büyüme faktörleri, membran-ilişkili tirozin-spesifik kinazlar, guanozin trifosfat bağlayıcı proteinler, büyüme faktörü

reseptörleri, sitoplazmik tirozin kinazlar, steroid benzeri büyüme faktörü reseptörleri, serin/treonin-spesifik protein kinazlar ve gen ekspresyonuyla ilişkili nükleer proteinler gibi sinyal elementleri onkogenler tarafından kodlanamaz. Protoonkogenlerin aktif olduğu genetik mekanizmalar, gen amplifikasyonu, nokta mutasyonu ve kromozomal yeniden düzenlemeleri kapsar¹³⁹.

Tümör süpresör genler tanımlanmamış mekanizmalarla hücrelerin neoplastik büyümesini bloke ederler^{145,152} ve bu yüzden inaktive edilmek zorundadırlar yoksa tümör hücreleri kaybedilir¹⁴⁵. Tümör süpresör genleri inaktive eden genetik değişiklikler çoğalma ve farklılaşmanın kontrol kaybına yol açar ve neoplastik dönüşümü arttırırlar^{139,152}. Her iki allel de genel olarak fenotip değişikliğinden etkilendiği için tümör süpresör genlerde mutasyonlar hücre üzerinde resesif etkilere sahiptir¹³⁹.

En iyi çalışan tümör süpresör genler Rb geni ve p53 genidir. Rb geni, nadir görülen retinoblastoma kanseri ile ilişkilidir, fosforillenmediği zaman bir protein kodlar, G1'den S fazına geçişi bloke eder. p53 geninin mutasyonları insan kanseriyle ilişkili en yaygın genetik lezyonlardır. Rb geninde olduğu gibi, p53 geni hücre replikasyonunu bloke eden p53 proteinini üretir. p53 proteini DNA'yı bağlar ve protein kinaz aktivitesini inhibe eden gen ürünlerinin ekspresyonunu indükler^{139,143}. p53, hasarlı DNA'lı hücrelerde çoğalmayı durdurmak için çalışır ve replikasyondan önce hücrelere hasarı tamir için izin verir^{139,155}. p53 kaybı ya da inaktivasyonu yalnızca uyarılmış hücrelerin çoğalmasına izin vermez, hasarlı DNA replike olduğu zaman kanser hücreleri olarak nitelendirilen genomik instabiliteye katkı sağlayan başka mutasyonların da meydana gelmesine izin verir¹³⁹.

Pek çok kanıt normal bir hücrenin malign hücreye dönüşmesi için tek bir değişimin yeterli olmayacağını ileri sürmektedir. Karsinojenik proses boyunca neoplastik hastalık gelişimi için çoklu tümör süpresör genlerin kaybı veya inaktivasyonu ya da protoonkogenlerin aktivasyonu ya da bunların kombinasyonunun gerektiği açıkça görülmektedir¹³⁹.

2.6.1.4. Epigenetik Değişiklikler

DNA dizisinde değişiklikler ya da mutasyondan kaynaklanan genetik olmayan kalıtsal değişiklikler epigenetik olarak adlandırılır^{139,142,143,156,157}. Epigenetik değişiklikler DNA metilasyonu^{142,143}, transkripsiyon aktivasyonu, translasyonel kontrol ve posttranslasyonel modifikasyonlar gibi değişiklikleri içeren düzenleyici gen ekspresyonunu kapsar^{139,154}.

2.7. GASTROİNTESTİNAL KANSER

Gastrointestinal kanserler dünyanın her tarafında kanser ölümlerinin öne çıkan nedenleri arasındadır^[158]. İnsanlarda sindirim sistemi kanserin başlıca yeridir; bununla birlikte, sindirim sisteminin elemanları arasında özofagustan anüse kanserin insidansında büyük farklılıklar vardır¹⁵⁹.

Kanserlerin çok büyük çoğunluğunda özellikle mide, kolon ve rektumu kapsayan gastrointestinal sistem kanserlerinde hem çevresel hem genetik faktörlerin birleşiminin çok büyük payı vardır¹⁶⁰.

2.7.1. Kolorektal Kanser

Kolorektal kanser kolon veya rektumda gelişen kanserdir¹⁶¹. Kolorektal kanser tüm dünyada kansere bağlı ölümlerin başlıca nedenlerinden biridir. Erken teşhis ve tedavide yeni gelişmeler olmasına rağmen ölüm oranı fazla değişmemiştir¹⁶².

Kolorektal kanser yıllık yaklaşık 1 milyon hasta insidansı ve yıllık 500000 den fazla ölüm oranı ile dünya çapında bir problemdir¹⁶³. Kolorektal kanser riski yaşla artmaktadır^{161,163}. Kolorektal kanser 50 yaşından önce nadirdir fakat bu sınırdan sonra, insidansı önemli oranda artar¹⁶³. Genel olarak kolorektal kanser insidansı ve ölüm oranı erkeklerde kadınlardan %35 daha fazladır¹⁶¹. Hasta sayısı ve ölümleri popülasyonların yaşlanmasının ve genişlemesinin bir sonucu olarak hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde artmaktadır. Bu kanser için risk ülkeden ülkeye ve hatta ülkelerin içinde değişmektedir¹⁶³.

Kolonik karsinogenez birkaç morfolojik ve moleküler adımı içeren çok aşamalı bir süreçtir¹⁶⁴. Bu çok aşamalı ilerleme yıllar gerektirir, muhtemelen 10 yıllar alır ve buna, karakterize edilmiş birkaç genetik değişiklik eşlik eder¹⁶⁵.

Histolojik olarak polipler neoplastik (adenom) ya da neoplastik olmayanlar olarak sınıflandırılır. Neoplastik olmayan poliplerin malign potansiyeli yoktur, neoplastik poliplerin ya da adenomların malign potansiyeli vardır. Adenomlar mutasyona uğramış epitelium kök hücrelerinin monoklonal türevleridirler¹⁶⁶. Genellikle, çoğu kolorektal kanserin (>%95) benign, neoplastik adenomatöz poliplerden (adenomlardan) ortaya çıktığı kabul edilmektedir^{164,166}. Adenomatöz

polipler bir veya daha fazla normal hücrenin çoğalmasındaki ve hücrenin olgunlaşma sürecindeki bir hatadan ortaya çıkmaktadır. Adenomların varlığıyla kolorektal kanser insidansı arasında güçlü bir ilişki vardır. Araştırmacılar tüm poliplerin uzaklaştırılmasının kolorektal kanserin insidansında büyük bir azalmaya yol açtığını göstermişlerdir¹⁶³.

Risk Faktörleri:

Kolorektal kanserin aile geçmişi ve kişisel kolorektal kanser, kolorektal polipler veya kronik inflamatuvar bağırsak hastalıkları geçmişi kolorektal kanser riski için başlıca risk faktörleridir^{133,161}. Kolorektal kanserli birinci dereceden akrabası olan kişilerin kolorektal kanser olma riski yüksektir^{161,163,164,167}. Kolorektal kanserli kişilerde ilk kanser tamamen ortadan kalkmış olsa bile kolon ve rektumun diğer bölgeleri yeni kanserlerin gelişimi için oldukça uygundur. Eğer ilk kolorektal kanser 60 yaşında veya daha gençken olmuşsa, ikinci kanser riski daha fazladır¹⁶¹. Bir ya da daha fazla adenomatöz polipleri olanların kolorektal kanser riski artmaktadır^{161,163,167}. Önemli süreklilikte (8-10 yıl) ve tüm bağırsağı kapsayan kronik iltihabi bağırsak hastalığı olanlarda da kolorektal kanserin gelişme riski artmaktadır¹⁶¹.

Kolorektal kanserin gelişmesi beslenme alışkanlığıyla da son derece alakalıdır¹⁶². Epidemiyolojik çalışmalar düzenli sebze ve lif alımının riski azalttığını; kırmızı et, yağ ve alkol tüketiminin ise riski önemli oranda arttırdığını kanıtlamıştır^{162,166}. Ayrıca vücut ağırlığının korunmasında yardımcı olan düzenli egzersiz kolorektal neoplazi riskini azaltmaktadır^{161,166}.

Sigara ve alkol kullanımı kolorektal kanser riskiyle bağlantılıdır. Aşırı alkol tüketimi yüksek bir risk faktörüdür¹⁶⁶. Sigaranın

da kolorektal adenomlar ve karsinomların oluşumuyla ilişkili olduğu saptanmış olup, risk hem dozla hem de sigaraya başlanmasından itibaren geçen sürenin uzunluğuyla ilişkilidir¹⁶⁴.

Semptomlar:

Kolorektal kanserin semptomları; rektumdan kanama, feçesin şeklinde değişiklik ve feçeste kan, karnın aşağısında şiddetli ağrı ve kısmi bağırsak obstrüksiyonudur^{161,166}.

2.7.2. Mide Kanseri

Mide kanseri dünya çapında önemli bir sorundur¹⁶⁸. Dünya genelinde ikinci en sık görülen kanserdir^{169,170,171} ve her yıl yaklaşık olarak 875000 yeni hasta ile kansere bağlı ölümlerin en sık görülen nedenlerinden biridir^{128,172}.

Son 50 yılda, mide kanserinin insidansı ve mide kanserinden ölüm oranı dünya genelinde özellikle de gelişmiş ülkelerde düşmüştür^{128,173,174}. Bu gelişmeler tedavideki ilerlemelerden ziyade daha iyi yaşam koşullarıyla ve taze meyve, vitamin ve sebzelerin tüketimindeki artışla açıklanmaktadır¹⁷³. Ayrıca daha iyi soğutma; tuz ve konserve gıdaların tüketiminin azalması ve helicobacter pylori enfeksiyonunu azaltan antibiyotiklerin kullanımının artması da mide kanserinden ölümleri azaltmaktadır. Ancak tahmini 5 yıllık yaşam süresi % 20 ile düşük olmaya devam etmektedir¹⁷⁴.

Mide kanseri pek çok ülkede daha çok büyük yaş gruplarının hastalığıdır¹⁷⁴. Mide kanseri insidansı yaşla giderek artar. Hastaların çoğu 50-70 yaş arasındadır ve 30 yaşından küçük olanlarda nadir görülür¹⁷⁵. Mide kanserinin global yaş standardına göre insidansı

erkeklerde kadınlardan yaklaşık 2,2 kat daha fazladır. Genel olarak, 40-50 yaşın altındaki yaş gruplarında oran 1'e yakındır¹⁷⁴.

Mide kanserinin yaklaşık olarak %90'ı adenokanserdir. Geriye kalan %10'un çoğunu non-Hodgkin lenfoma ve leiomyosarkom oluşturur¹²². Mide adenokanseri 40 yaşın altında nadirdir ve insidansı yaklaşık olarak 60 yaşlarında en yüksektir¹⁷⁶.

Adenokanserler histolojik olarak 2 sınıfa ayrılır: intestinal tip ve diffüz tip^{170,173,174,175,177}. İntestinal tip genellikle midenin merkezden uzak kısmında çok görülür ve erkeklerde ve yaşlılarda daha yaygındır^{173,174,175}. Diffüz tip nispeten genç yaş gruplarında daha yaygındır ve erkeklerin kadınlara oranı eşittir¹⁷⁵.

Risk Faktörleri:

Gıda ve beslenme mide kanserinin nedeninde ve önlenmesinde önemli rol oynar. Tuz ve tuzlu-konserve gıdaların kanserin nedenleri arasında olduğuna dair güçlü kanıtlar vardır¹⁷⁸. Tuzun yüksek dozda kullanılması mide kanseri riskini arttırmaktadır^{170,175}. Tuzlu-konserve gıdalar yüksek seviyelerde etkili karsinojen olarak gösterilen N-nitrozo bileşikleri veya onların öncülerini içerebilmektedir. Aşındırıcı niteliğe sahip tuzlu gıdalar mide mukozasının bozulmasına neden olur. Meyve ve sebzelerin yüksek tüketimi mide kanseri riskiyle negatif olarak ilişkilidir^{170,174}. Taze meyve ve sebzeler ya da mikrobeyinler içeren baskın bir diyet mide kanserine karşı koruyucudur^{170,175,177}.

Sigara tüketimi ve mide kanseri arasında önemli bir ilişki bulunmuştur. Yüksek sigara ve alkol kullanımı hiç kullanmayanlarla karşılaştırıldığında nonkardia mide kanseri riskini 5 kat arttırmaktadır¹⁷⁸.

Helicobacter pylori (H. pylori) bakterisi ile enfeksiyonun güçlü bir risk faktörü olduğu saptanmıştır^{128,174,177,178,179}. H. pylori enfeksiyonu mide kanserlerinin büyük çoğunluğunda görülen kronik gastritin gelişmesini ve ilerlemesini kapsayan mekanizmalarla mide kanserine ilerleyebilir^{175,179}. Mide kanseri insidansının yüksek olduğu ülkelerde H. pylori enfeksiyonunun yaygınlığı genel olarak daha yüksektir. Gelişmiş ülkelerde H. pylori enfeksiyonunun düşüşünü mide kanseri insidansının azalması takip eder¹⁷⁸.

Mide kanserlerinin yaklaşık olarak %10-15'i aile geçmişi durumu ile ortaya çıkar. Mide kanseri riski birinci dereceden akrabası hasta olanlarda yaklaşık iki ya da üç kat artmaktadır^{128,178}.

İleri sürülen diğer risk faktörleri A kan grubu ve mide polipleridir^{175,176}. A kan grubunun diffüz kanserler için bir risk faktörü olduğu düşünülmektedir¹⁷⁴. Ayrıca pernisiyöz anemi de mide adenokanserleri riskini arttırmaktadır^{174,176}.

Semptomlar:

Ne yazık ki, mide kanserli hastaların çoğu erken basamakta ya hafif semptom verirler ya da hiç semptom vermezler. Geç teşhis edilmesinin başlıca nedeni bu hastaların genellikle belirsiz ve spesifik olmayan semptomlar göstermesidir. Bunlar: mide ekşimesi, midede gaz toplanması, yemeklerden sonra karnın zamanından önce dolması, aşırı geğirme, nadiren bulantı/kusma ve ağrıdır¹⁷⁸.

Tümör daha büyük olduğunda açıklanamayan kilo kaybı, anoreksiya, kusma, anemi ve hematemez (kan kusma) hastalığın ileri basamağına uyan semptomlardır. Metastatik hastalığın belirtileri ise

karın ağrısı, karaciğer büyümesi, asit varlığı, sarılık veya hissedilen lenf tümörleridir^{176,178}.

Mide kanserinin teşhisi genellikle hastalığın doğal gelişim sürecinde geç basamakta yapılır, bu etkili tedaviyi zorlaştırmaktadır^{171,180}.

2.7.3. Karaciğer Kanseri

Karaciğer rejenerasyon işlemi ile fiziksel veya kimyasal yaralanmaya cevap verdiği için eşsizdir. Zarar görmüş dokular ve organlar tamir olabilmeye yeteneğine sahip olmalarına rağmen, sadece karaciğer kayıp fonksiyonel hacmi yeniden doldurabilme yeteneğine sahiptir¹⁸¹. Karaciğer en sık metastaza uğrayan organdır¹⁸². Her yıl yaklaşık olarak 560000 hasta teşhis edilmekte ve 550000 ölüm olmaktadır¹⁸³. Çok kötü prognozdan dolayı ölümlerin sayısı neredeyse insidansla aynıdır¹⁸⁴.

Karaciğer malign tümörün en çok bilinen histolojik türü hepatoselüler kanser (HCC) dir^{181,185}. Diğer türleri: çocukluk çağı hepatoblastoma, yetişkin kolanjiyokarsinom ve anjiyosarkomdur^{182,185}.

Karaciğer kanserinin başlıca formu olan HCC dünyada en sık görülen 6. kanserdir ve kanser kökenli ölümlerin 3. sıklıkta nedenidir^{183,184,185}. Pek çok ülkede karaciğer kanserinin % 75-90'ı HCC'dir. Bu nedenle karaciğer kanseri insidansı ve ölüm oranı HCC insidansı ve ölüm oranını yansıtmaktadır¹⁸³.

Kanserin gelişimi nispeten yavaş çok adımlı bir süreçtir¹⁸⁴. Bu yüzden klinik olarak belirlenmesi birkaç yıl alır¹⁸¹. HCC'nin gelişimi

viral enfeksiyonla ve konakçı gen ekspresyonundaki değişimlerle ilişkilidir. HCC karaciğer kapsülünü gerdiği için çok ıstırap çektiren bir kanserdir¹⁸⁴. HCC'nin bazı nedenleri bilinmektedir bu nedenle önlenmesi mümkündür. Çoğu HCC'nin arka planı kronik hepatit ve/veya karaciğer sirozudur¹⁸¹.

Risk Faktörleri:

HCC için risk faktörleri biyolojik ve kimyasal ajanları kapsayan çevresel faktörler ve genetik faktörlere bölünebilir. Metabolik bozukluklar, DNA tamir bozuklukları ve diğer değişime duyarlı faktörler gibi genetik faktörler HCC'nin gelişmesine katkıda bulunur¹⁸¹.

Başlıca biyolojik ajanlar Hepatit B (HBV) ve C (HCV) virüsleridir^{181,183,184,185}. Karaciğer kanseri için başlıca risk faktörü HBV ve HCV ile enfeksiyondur^{183,184,185}. İki hepatit virüsü HCC için bağımsız risktirler¹⁸⁴. HCC'nin %50'den fazlası sürekli HBV enfeksiyonunun ve yaklaşık %25'i de sürekli HCV enfeksiyonunun bir sonucudur¹⁸¹. HBV ve HCV ile çift enfeksiyon her ikisinin yalnız olmasından daha yüksek bir risktir¹⁸⁴.

Kimyasal ajanlar sigara, alkol, vinil klorür, polisiklik aromatik hidrokarbonlar ve nitrozaminleri kapsar. Bu ajanlar sinyal iletim yolunun uyarılmasını kapsayan çeşitli moleküler olaya karışmaktadırlar¹⁸¹. Sigaranın HCC riski üzerine etkisi kapsamlı olarak çalışılmaktadır, bulgular henüz sonuçsuzdur. Bazı çalışmalarda pozitif bir ilişki bulurken bazılarında hiçbir ilişki bulanamamıştır. Ancak birikmiş kanıtlar sigara ve HCC arasında zayıf bir ilişki ile uyumludur¹⁸³. Bulgular alkol ve HCC arasında pozitif bir ilişki olduğunu desteklemektedir^{183,185}. Alkol karaciğer ilişkisinin en muhtemel mekanizması karaciğer

sirozunun gelişimi aracılığıyla¹⁸⁵. HCC'nin büyük bir oranı sirotik karaciğerden gelişir. Alkolün sirozu indüklediği kesindir ve siroz da HCC'nin % 60-90'ında etkili bir faktördür. Vinil klorüre mesleki maruziyet karaciğerin anjiyosarkoması için tanınmış bir risk faktörüdür¹⁸³.

Karaciğer kanseri için şüphelenilen diğer risk faktörleri; diyet, obezite, diyabet, insülin direnci, oral kontraseptiklerin kullanımı ve aşırı demir yüklemesidir¹⁸⁵. Aflatoksin B birincil diyetel risk faktörüdür. Aspergillus türlerinden üretilen aflatoksinler mantar toksinlerdir ve genel olarak mısır, yer fıstığı ve bazı diğer ürünlere bulaşır^{181,183,184,185}. Karaciğerde metabolize edildikten sonra, toksin DNA'da guanine bağlanır, bu da mutasyona neden olur^{181,184}. Aflatoksinler HBV ilişkili karaciğer kanseri riskinin modifiye edilmesinde önemli bir rol oynar^{181,183,185}. Sebze tüketimi ile HCC riski arasında ters bir ilişki vardır^{183,185}. Ayrıca pek çok çalışma yeşil çay tüketiminin karaciğer kanseri riskini azalttığını göstermektedir¹⁸³.

Obezite kanserin pek çok türünün gelişimi için önemli bir risk faktörüdür¹⁸⁵. Obezitenin HCC, özellikle diyabet ve alkolsüz steatohepatit riskini arttırdığına inanılmaktadır^{183,185}. Diyabet obezite ile yakından ilişkili bir durumdur, hem kronik karaciğer hastalığı hem de HCC için bir risk faktörü olduğu ileri sürülmüştür¹⁸⁵. İnsülin direncinin siroz ile ilişkili olduğu bilinmektedir¹⁸³. Karaciğer hastalığının çeşitli formlarına sahip hastaların bozuk glukoz toleransına eğilimli olduğu bilinmektedir¹⁸⁵.

Birleşmiş östrojen-progesteron oral kontraseptiflerin (OC) kullanımı karaciğer adenomaların riskini fazlasıyla arttırmaktadır ve HCC riski ile ilişkilidir^{183,185}.

Vücutta demir depolanmasında artış HCC'ye neden olur^{183,185}. Aşırı demir yüklemesinin etkileri sirozun gelişiminden bağımsız gibi görünmektedir ancak alkol ve HBV/HCV enfeksiyonları ile etkileşim içindedir¹⁸⁵. Demirin kofaktör olduğu ileri sürülmektedir¹⁸³.

Semptomlar:

Karaciğer kanserinde yaygın semptomlar: karnın üst kısmında ağrı veya rahatsızlık, göğüs kafesinin altında sağ tarafta hissedilir kitle, kilo kaybı, assit ve portal hipertansiyon sekellerdir¹⁸².

2.7.4. Pankreas Kanseri

Pankreas kanseri son derece agresif ve kapsamlı lokal saldırı ve en çok lenf nodülleri ve karaciğerde oluşan metastaz oluşumu ile karakterize edilir^{133,186}. Pankreas kanserinin insidansı gelişmiş ülkelerde gelişmekte olan ülkelere göre daha yüksektir¹⁸⁷. Pankreas kanseri için yıllık insidans oranı yaklaşık olarak her 100000 kişide 9 kişidir. İnsidans oranı yaş ile artar^{188,189}.

İlaç gelişimi ve moleküler genetikteki ilerlemelere rağmen, pankreas kanseri 5 yıllık yaşam süresi oranı % 5'ten az olan en öldürücü gastrointestinal kanserdir¹⁸⁷. Pankreas kanserinin öldürücü doğası lenfatik sisteme ve uzak organlara hızla yayılma eğiliminin olmasından ve radyoterapi ve kemoterapiye cevap vermemesinden ileri gelir^{190,191}. Hayatta kalma klinik semptomların geç gelişiminden dolayı düşüktür öyle ki teşhis zamanında pankreas kanserlerinin %80'i metastatiktir¹⁸⁸.

Tümörler pankreasın üç ana hücre tipinin özellikleri ile pankreasta ortaya çıkmaktadır: asinar hücreler, endokrin hücreler ve

pankreatik kanal hücreleri¹⁸⁶. En yaygın pankreas tümörü duktal adenokarsinomadır^{176,188}. Kanserlerin %75'ten fazlası pankreasın baş kısmında oluşur¹⁸⁷.

Risk Faktörleri:

Pankreas kanseri için tanımlanmış çeşitli demografik, konakçı ve çevresel risk faktörleri vardır¹⁸⁷. Birkaç demografik risk faktörü pankreas kanserinin gelişimi ile ilgilidir¹⁸⁸. Pankreas kanseri için başlıca demografik risk faktörü ilerlemiş yaştır^{176,187,188,189,192}. Diğer demografik faktörler, cinsiyet ve düşük sosyoekonomik koşullardır¹⁸⁸. Pankreas kanseri erkeklerde kadınlardan biraz daha yüksektir^{176,188,189}.

Pankreas kanserinin gelişimi için en belirgin riskler konakçı faktörleri, genetik yatkınlık ve tıbbi geçmiştir^{187,189,191}. Pankreas kanserli hastaların %10'unun bir ya da daha fazla birinci veya ikinci dereceden pankreas kanserli hastalarının olduğu tahmin edilmektedir^{187,191}.

Pankreas kanserlerinin gelişimiyle ilişkili diğer faktörler; yüksek yağlı/kolesterollü diyet^{189,193}, siroz, kronik pankreatit¹³³, diyabet¹⁸⁹ ve kolesistektomi geçmiştir¹⁸⁸. Çalışmalar pankreas kanseri ile et tüketimi ve karbohidrat alımı arasında pozitif bir ilişkinin olduğunu ve meyve ve sebze tüketiminin koruyucu etkisi olduğunu ileri sürmektedir¹⁹². Diyabet, pankreatit ve pankreas kanserinin gelişimi arasındaki ilişki karmaşıktır çünkü pankreas kanseri pankreatik parankimaya zarar verdiği için kendisi de diyabet ve pankreatite neden olabilmektedir^{188,193}.

Obezite ve fiziksel aktivite arasındaki etkileşimlerin pankreas riskini etkilediği gösterilmiştir. Pankreas kanserinin gelişmesi

için en fazla riskin vücut kitle indeksi yüksek olanlarda ($\geq 25 \text{ kg/m}^2$) ve düşük total fiziksel aktiviteli bireylerde olduğu görülmüştür; oysa fazla fiziksel aktivitenin obez hastalarda pankreas kanseri riskini azalttığı görülmüştür¹⁸⁷.

Çevresel faktörler, pankreas kanserinin gelişiminde önemli rol oynamaktadır¹⁸⁸. En önemli çevresel faktör sigaradır^{187,188,189,191}. Sigara içenlerin pankreas kanserine yakalanma riski 2-3 kat fazladır^{133,188}. Örneğin sigara, kalıtsal pankreatiti olan bireylerde pankreas kanseri riskini genel popülasyonla kıyaslandığında 54 kattan 154 kata arttırmaktadır. Dahası bu hastalarda, kanser sigara içenlerde içmeyenlere göre ortalama 20 yıl önce gelişmektedir¹⁸⁷.

Semptomlar:

Pankreas kanserlerinin çoğu pankreasın baş kısmında olduğundan duktal adenokarsinoma için olağan klinik bulgular safra ya da pankreatik kanal saldırısı ya da komşu safra kanalının sıkıştırılmasıyla bağlantılıdır.

Erken semptomlar: spesifik olmayan karın ağrısı, bulantı, kusma, uyumakta zorluk ve anoreksiyadır¹⁸⁷. Sık sık görülen yaygın semptomlar ağrısız, ilerleyen obstrüktif sarılık ve epigastrik ağrı ya da sırta vuran karın ağrısıdır^{176,187}. Bu semptomlar pankreas ve safra ağacının değerlendirilmesine sebep olmasına rağmen, geç olduğundan, tümör genellikle çok ilerlemiştir ve hastanın başarılı bir şekilde iyileştirilme olasılığı yoktur¹⁸⁷. Metastazdan dolayı epigastrik kitle ya da karaciğerde düzensiz büyüme olabilir¹⁷⁶.

Erken teşhis yapılmasına yardımcı bazı işaretler ve semptomlar; iştah kaybı, açık renk dışkı, karın ağrısı, sarılık, olağandışı

şişme ve geçirme, kilo kaybı ve koyu renk idrardır^{176,187}. İlişkisi bulunmuş fakat daha az önemli olan diğer semptomlar; kabızlık, ishal, bitkinlik, kaşıntı, uyku yeteneğinde değişiklik ve olağan dışı mide ekşimesidir¹⁸⁷.

2.7.5. Özofagus Kanseri

Özofagus kanseri, geniş submukozal yayılımı nedeniyle geç semptom vermesi, erken lenfatik metastaz nedeniyle de bölgesel yayılım göstermesi ve multisentrite özelliğinden dolayı prognozu kötü maligniteler arasındadır¹⁹⁴. Özofagus kanseri erken basamaklarında yüksek oranda tedavi edilebilirdir fakat çok ilerlediği zaman genellikle ölümcüldür¹⁹⁵. Genel olarak, özofagus kanserlerinde hastaların %20'den azı 5 yıldan uzun yaşayabilir¹⁹⁶.

Özofagus kanserlerinin çoğu adenokarsinom (ACE) ve skuamöz (yassı) hücreli karsinomlar (SCC) dır^{196,197}. SCC ve ACE insidanslarında ve anahtar etiyolojik faktörlerinde büyük farklılıklar gösterirler. Paylaştıkları başlıca özellik yüksek ölüm oranıdır¹⁹⁸. En sık görülen özofagus kanseri tipi skuamöz hücreli kanserdir. Genellikle özofagusun 2/3'ünde oluşur. Özofagusun alt 1/3'ünde ise en sık adenokarsinom bulunur¹⁹⁷.

Risk Faktörleri:

Yaş ve cinsiyet risk faktörleridir; özofagus kanserli hastaların %75'i 55 ve 85 yaşları arasındadır ve %50'den fazlası 70 yaşından büyüktür. Ayrıca erkekler özofagus kanserinin gelişmesi için kadınlardan 3 kat daha fazla risk altındadırlar¹⁹⁶.

Obezite pek çok kanser için güçlü risk faktörlerinden biridir. Ancak vücut kitle indeksi (BMI) ve özofagus kanserleri arasındaki

ilişkiyle ilgili var olan epidemiyolojik çalışmaların çelişen sonuçları vardır. Bireysel çalışmaların sonuçları farklı olmasına rağmen obezite potansiyel risk faktörüdür¹⁹⁹. Artmış vücut kitle indeksi ACE ile güçlü olarak ilişkiliyken, SCC ya hiçbir ilişki göstermemiştir ya da ters bir ilişki göstermiştir^{198,200}.

Obezite gastroözofageal reflü hastalığı (GERD) riskini arttırabilir ve böylece özofagus adenokarsinom için indirekt risk faktörü olabilir^{196,201,202}. Gastroözofageal reflü hastalığı tutarlı olarak artmış özofagus karsinomları riski ile ilişkilidir^{198,203}. Çünkü gastroözofageal reflü hastalığı özofagus adenokarsinomları için prekürsör lezyon olan Barret özofagus riskini arttırır^{177,200,201,203}. Barret özofagus, normal skuamöz epitelinin kolumnar intestinal-tip epitel ile yer değiştirmesiyle özofagusun lümenindeki metaplastik bir değişimdir²⁰¹. Akalazya, tylosis, Plummer-Vinson sendromu da skuamöz hücre karsinomlarıyla ilişkilidir¹⁹⁶. Baş ve boyun kanserlerinin özofagus kanseri ile belirli bir ilişkisi vardır¹⁹⁵.

Sigara ve alkol kullanımı SCC için güçlü ve iyi tanımlanmış risk faktörlerindendir fakat ACE dikkate alındığında bu ajanların daha az önemli rol oynadığı görülmektedir^{200,202}.

Diyet her iki kanser tipini de etkiler¹⁹⁸. Total yağ, doymuş yağ ve kolesterol bakımından yüksek diyetler özofagus kanseri riskini arttırmaktadır²⁰². Meyve ve sebzelerin fazla tüketilmesi düşürmektedir. Meyve ve taze sebzeler kansere karşı koruyucu faktörlerdir^{198,201,202}. Kilo verilmesi ve egzersiz yapılması gibi yaşam tarzı değişiklikleri de özofagus kanserlerinin insidansını düşürür¹⁹⁸. Bunlara ek olarak, aspirin ve diğer non-steroidal inflamatuvar ilaçlar her iki kanser tipi için güncel olarak en iyi gelecek vaat eden kimyasal koruyuculardır^{198,202}.

Helicobacter pylori enfeksiyonu özofagus adenokarsinomuyla ters olarak ilişkilidir²⁰². H. pylori ACE insidansını düşürür¹⁹⁸. Özofagus kanseri için diğer risk faktörleri çamaşır sodası gibi aşındırıcı maddelerin yutulması ve uzun süreli çevresel ya da iş yeri toksik dumanlara maruz kalınmasıdır¹⁹⁶.

Semptomlar:

Özofagus kanseri erken evrelerinde semptom vermez ya da belirsiz semptom verir. İleri evrelerinde, semptomlar direkt olarak tümörün büyüklüğüne ve lokalizasyonuna bağlıdır¹⁹⁶. Olguların %90'ında özofagus karsinomunun ilk belirtileri disfaji ve kilo kaybıdır¹⁹⁷.

Disfaji özofagus kanserinin oldukça ileri döneminin belirtisidir. Bazen de disfaji oluşmadan hastalık komşu organlara yayılma (trakea veya bronşlara açılma) veya metastazlarla belirti verebilir. Hastaların yarısına yakınında odinofaji bulunur¹⁹⁷.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

2-Tiyobarbitürik asit (TBA)

Trikloroasetik asit (TCA)

1,1,3,3-tetraetoksipropan (TEP)

Nitrotirozin ELISA kiti (NWK-NTR01)

Cayman Nitrat/Nitrit Kolorimetrik Analiz Kiti (katalog no. 780001)

3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

Manyetik karıştırıcı	Santrifüj tüpü
Vorteks	Mezür
Spektrofotometre	Balonjoje
Hassas terazi	Ependorf tüp
Derin dondurucu	Küvet
Su banyosu	Santrifüj
Mikropipet	Multi kanallı pipet

3.3. Hasta ve kontrol gruplarının tanımı ve özellikleri

Bu çalışmadaki kan örnekleri Dr. Abdurrahman Yurtaslan Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi Bölümü'nden sağlandı. Çalışma randomize, tek merkezli ve multidisipliner olarak planlandı. Çalışma öncesinde, Dr. Abdurrahman Yurtaslan Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nden Tıbbi Etik Kurul onayı alındı. Çalışmayla ilgili olarak aday katılımcı ön bilgilendirilmesi yapıldı. Kabul edenlere çalışma ile ilgili ayrıntılı bilgiler verildi ve birer anket uygulandı.

3.3.1. Hasta Grubu

Çalışmaya, gastrointestinal kanser tanısı almış 70 erkek ve 38 kadından oluşan toplam 108 hasta dahil edildi. Birinci grup mide kanseri tanısı almış, 9'u kadın toplam 40 kişiden; ikinci grup kolorektal kanser tanısı almış, 13'ü kadın toplam 40 kişiden; üçüncü grup pankreas, karaciğer ve özofagus kanser tanısı almış 16'sı kadın toplam 28 kişiden oluşturuldu. Hasta grubunun yaş ortalaması 54.18 ± 1.36 ve vücut kitle indeksi ortalaması 24.54 ± 0.31 olarak hesaplandı.

3.3.2. Kontrol Grubu

Kontrol grubu, herhangi bir sistematik hastalığı bulunmayan, 25'i kadın 10'u erkek olmak üzere toplam 35 sağlıklı kişiden oluşturuldu. Kontrol grubunun yaş ortalaması 41.46 ± 1.92 ve vücut kitle indeksi ortalaması 25.57 ± 0.78 olarak hesaplandı.

Kan örneklerinden elde edilen serumlar ve plazmalar analiz yapılincaya kadar -80°C 'lik derin dondurucuda muhafaza edildi. Hasta ve kontrol grubuna ait özellikler Tablo-2'de belirtilmiştir.

3.4. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz için SPSS (Statistical Package for the Social Sciences ver. 14.01, Lisans No : 9869264) bilgisayar programı kullanıldı. Sayısal değişkenler, ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edildi. Bağımsız grup ortalamaların karşılaştırılmasında; independent samples t-testi (Student t test), gruplar arası farkların önemliliğinde tek yönlü varyans analizi kullanıldı. Değişkenler arasındaki ilişkiye pearson katsayısı ile bakıldı. İstatistiksel analizlerin tümünde $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Tablo-2: Hasta ve kontrol grubunun özellikleri

FAKTÖRLER		Hasta grubu (n=108)	Kontrol grubu (n=35)
Yaş ortalaması		54.18±1.36	41.46±1.92
Yaşı (yıl)	≥45	83	7
	<45	25	28
Cinsiyet	Kadın	38	25
	Erkek	70	10
Menapoz durumu	premenapoz	9	24
	postmenapoz	29	1
Vücut kitle indeksi (kg/m ²) ortalaması		24.54±0.31	25.57±0.78
Egzersiz	Egzersiz yapan	17	19
	Egzersiz yapmayan	91	16
Kalıtsal kanser hikâyesi	1. dereceden	9	8
	2. dereceden	19	-
	olmayan	80	27
Sigara	içen	11	14
	içmeyen	50	12
	bırakan	47	9
Alkol	kullanan	5	3
	kullanmayan	103	32
Ekonomik durum	orta	66	30
	düşük	42	3
	yüksek	-	2
Öncelikli tüketilen gıda türü	Yeşil sebze ve meyve	51	24
	Et ve et ürünleri	50	7
	Hamurlu gıdalar	6	4
	Süt ve süt ürünleri	1	-
Öncelikli tüketilen yağ türü	Sıvı yağ	65	31
	Margarin	37	4
	Tereyağ	6	-

3.5. Kullanılan Yöntemler

3.5.1. Nitrotirozin Seviyesi Tayin Yöntemi

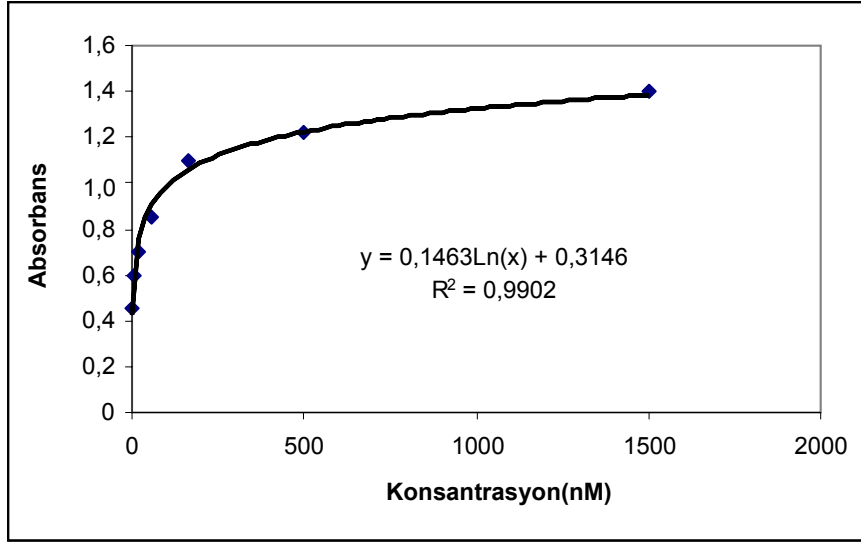
Northwest Life Science Specialties (NWLSS™) Nitrotirozin ELISA kiti (NWK-NTR01) biyolojik örneklerde nitrozillenmiş proteinlerin nicel ölçümü için amaçlanmıştır. NWLSS™ ürünü biyolojik sistemlerde proteinler üzerinde oksidatif stres ve peroksinitrit oluşumunun miktarının belirlenmesini sağlar.

Kit prosedürüne uygun olarak yapılan işlemlerden sonra 450 nm dalga boyunda okuyucuda absorbanslar ölçüldü. Standartlar için elde edilen absorbans değerleri Tablo-3'te gösterilmektedir. Konsantrasyonlara karşılık gelen absorbans değerleri ile oluşturulan kalibrasyon grafiği Grafik-1'de gösterilmektedir.

Plazma örneklerinin nitrotirozin konsantrasyonları standart kalibrasyon grafiğinden elde edilen denklem ile hesaplandı.

Tablo-3: NT standartlarının konsantrasyona karşılık gelen absorbans değerleri

Konsantrasyon(nM)	Absorbans
2.1	0.45
6.2	0.6
18.5	0.7
55.6	0.85
166.7	1.1
500	1.22
1500	1.4



Grafik-1: NT kalibrasyon grafiği

3.5.2. Malondialdehit (MDA) Seviyesi Tayin Yöntemi

Serumda malondialdehit düzeyinin tayininde, MDA'nın tiyobarbitürik asit ile konjugasyonu temeline dayanan yöntem kullanıldı²⁰⁴.

3.5.2.1. Örneklerin Hazırlanması :

2-Tiyobarbitürik asit (TBA) çözeltisinin hazırlanması:

% 0,67 (a/h)'lik TBA çözeltisi uygun miktarda TBA'in distile su içinde, manyetik karıştırıcıda ısıtılarak çözülmesiyle hazırlandı. TBA çözeltisinin taze hazırlanması gerekmektedir.

Trikloroasetik asit (TCA) çözeltisinin hazırlanması:

%20 (a/h)'lik TCA çözeltisi uygun miktardaki TCA'in distile su içinde çözülmesi ile hazırlandı.

100 µl serum (kör için distile su) üzerine 500 µl TCA ve 1000 µl TBA çözeltisi ilave edildi ve karıştırıldı. Karışım su banyosunda

100°C'de 20 dakika bekletildi. Sürenin sonunda buz banyosunda soğutularak +5°C'de 12000 g'de 5 dakika santrifüj edildi. Üst kısımdaki çözeltinin absorbansı 532 nm'de ölçüldü.

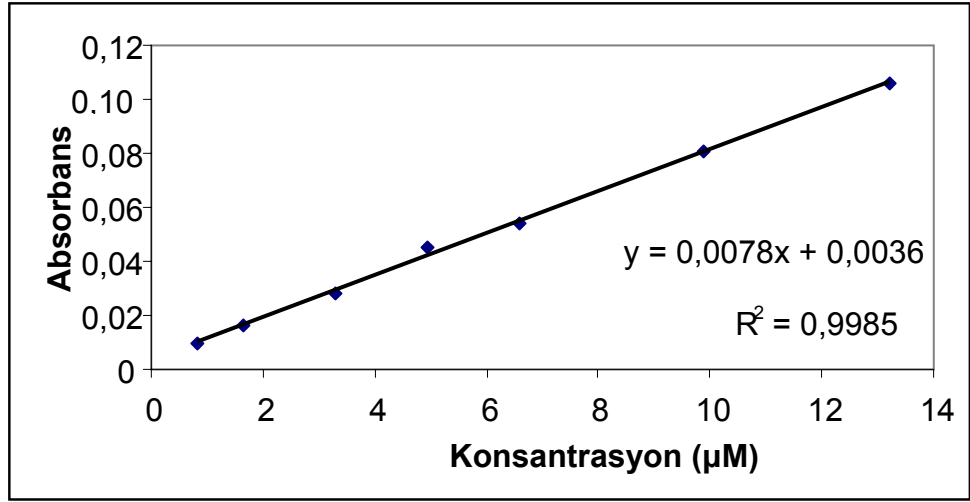
3.5.2.2. Standart Çalışma Çözeltilerinin Hazırlanması:

%97'lik 1,1,3,3-tetraetoksipropan (TEP) çözeltisinden 100 µl alıp distile su ile 10 ml'ye tamamlandı (Stok I, 44 mM). Stok I'den 10 µl alınarak 10 ml'ye tamamlandı (Stok II, 44 µM). Stok II'den hareketle 13.2 – 0.22 µM konsantrasyon aralığında standart çözeltiler hazırlandı.

100 µl standart çözelti üzerine 500 µl TCA ve 1000 µl TBA çözeltisi ilave edildi. Karışım su banyosunda 100°C'de 20 dakika bekletildi. Sürenin sonunda buz banyosunda soğutularak 532 nm'de absorbansları ölçüldü. Standartlar için elde edilen absorbans değerleri Tablo-4'te gösterilmektedir. Konsantrasyonlara karşılık gelen absorbans değerleri ile oluşturulan kalibrasyon grafiği Grafik-2'de gösterilmektedir. Serum örneklerinin MDA konsantrasyonları standart kalibrasyon grafiğinden elde edilen denklem ile hesaplandı.

Tablo-4: MDA standartlarının konsantrasyona karşılık gelen absorbans değerleri

Konsantrasyon (µM)	Absorbans
13.2	0.106
9.9	0.081
6.6	0.054
4.95	0.045
3.3	0.028
1.65	0.016
0.825	0.01



Grafik-2: MDA kalibrasyon grafiği

3.5.2.3. Yöntemin Gün İçi ve Günler Arası Tekrarlanabilirliği

Kullanılan yöntemin uygulanabilirliğini belirlemek amacıyla gün içinde ikişer kez olmak üzere birbirini izleyen üç günde üç farklı örnekle çalışıldı. Elde edilen sonuçlar Tablo-5'te gösterilmiştir.

Tablo-5: Serum MDA düzeylerinin tekrarlanabilirliği

	Örnek I	Örnek II	Örnek III
1. Gün	2.6	2,7	3.8
	2.4	2.9	3.7
2. Gün	2.5	3.0	4,0
	2.6	3.1	3.9
3. Gün	2.4	2.9	4.1
	2.7	2.8	3,8
Ortalama	2.5	2.9	3.9
Standart Sapma	0.1	0.1	0.1
Varyasyon Katsayısı (CV)	4	3.4	2.6

3.5.2.4. Yöntemin Verimliliği

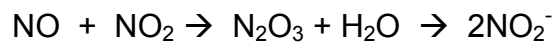
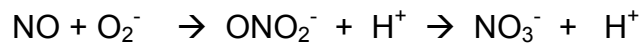
Kullanılan yöntem ile ölçülen düzeylerin doğruluğunu ve yöntemin verimini belirlemek amacıyla, üç farklı konsantrasyondaki standart çözeltinin 1:1 oranında ayrı ayrı ilave edilmesiyle elde edilen karışımlar analiz edildi. Konsantrasyonlar bulunarak verim hesabı yapıldı. Elde edilen sonuçlar Tablo-6'da gösterilmiştir.

Tablo-6: Serum MDA düzeylerinin doğruluğu ve % verim hesabı

	MDA(μ M)	% Verim
Standart I	6.6	
Standart II	13.2	
Örnek I	3.38	
Örnek I + Standart I	5.23	95.41
Örnek I + Standart II	8.38	98.93
Örnek II	3.64	
Örnek II + Standart I	5.46	93.77
Örnek II + Standart II	8.55	98.48
Örnek III	4.1	
Örnek III + Standart I	5.54	96.57
Örnek III + Standart II	8.86	97.63
		% VERİM ORTALAMA
		96.80

3.5.3. Nitrik Oksit Seviyesi Tayin Yöntemi

Nitrik oksit (NO) biyolojik sıvılarda bulunan birkaç molekül ile bir seri reaksiyona girer. Bunlar:



In vivo NO son ürünleri nitrit (NO_2^-) ve nitrat (NO_3^-) tır. NO_2^- ve NO_3^- rölâtif miktarı değişkendir ve kesin olarak tahmin edilemez. Bu yüzden total NO üretiminin en iyi göstergesi hem NO_2^- hem de NO_3^- in toplamıdır.

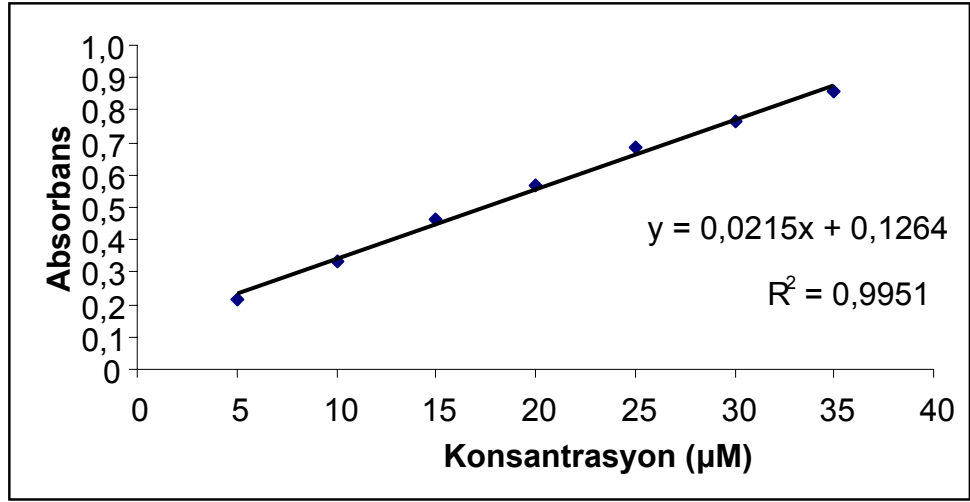
Cayman Nitrat/Nitrit Kolorimetrik Analiz Kiti (katalog no. 780001) basit iki adım prosesinde total nitrat/nitrit konsantrasyonunun ölçümü için doğru ve kullanışlı bir metot sağlar. İlk adım nitrat redüktaz kullanılarak nitratın nitrite çevrilmesidir. İkinci adım nitriti mor azo bileşiğine çeviren Griess reaktanlarının ilavesidir. Bu azo kromofordan kaynaklanan absorbansın fotometrik ölçümü doğru olarak NO_2^- konsantrasyonunu tayin eder.

Kit prosedürüne uygun olarak yapılan işlemlerden sonra 550 nm dalga boyunda Okuyucu'da absorbanslar ölçüldü. Standartlar için elde edilen absorbans değerleri Tablo-7'de gösterilmektedir. Konsantrasyonlara karşılık gelen absorbans değerleri ile oluşturulan kalibrasyon grafiği Grafik-3'te gösterilmektedir.

Serum örneklerinin nitrik oksit konsantrasyonları standart kalibrasyon grafiğinden elde edilen denklem ile hesaplandı.

Tablo-7: NO standartlarının konsantrasyona karşılık gelen absorbans değeri

Konsantrasyon (μM)	Absorbans
5	0.216
10	0.336
15	0.461
20	0.57
25	0.684
30	0.765
35	0.857



Grafik-3: NO kalibrasyon grafiği

4. BULGULAR

Çalışmamızda hasta grubu gastrointestinal kanser tanısı almış, 108 hastadan ve kontrol grubu herhangi bir sistematik hastalığı olmayan 35 sağlıklı kişiden oluşturulmuştur. Hasta ve kontrol grubunun serum MDA ve NO düzeyleri ile plazma NT düzeyleri ölçülmüştür. Ölçülen parametrelere ilaveten total kolesterol, LDL-kolesterol, HDL-kolesterol, VLDL-kolesterol, trigliserid, ürik asit, albümin, total protein düzeylerinin ölçümü Dr. Abdurrahman Yurtaslan Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi merkez laboratuvarında yapılmıştır. Her bireye uygulanan anket formu ile yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksi, sigara, alkol, egzersiz, kalıtsal kanser hikâyesi, ekonomik durum, diyet alışkanlığı, diyetel yağ kullanımı gibi faktörlerin bu parametreler üzerine etkileri incelenmiştir.

Tablo-8: Total hasta ve kontrol grubu oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması

	Total hasta (n=108) X ± SH	Kontrol (n=35) X ± SH	p değeri
MDA	6.35±0.40	3.41±0.23	0.000
NO	50.90±3.22	22.48±2.50	0.000
NT	5.63±0.55	3.92±0.39	0.012

Total hasta ve kontrol grubundaki bireylerin oksidatif stres parametreleri karşılaştırıldığında; MDA, NO ve NT düzeyleri bakımından kontrol ve total hasta grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur. MDA, NO ve NT düzeyleri hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur (sırasıyla p=0.000; p=0.000; p=0.012) (Tablo-8).

Tablo-9: Total hasta ve kontrol grubu biyokimya parametrelerinin karşılaştırılması

	Grup	n	X $\pm$ SH	p değeri
Total kolesterol	Hasta Kontrol	108 35	160.75 $\pm$ 3.90 161.37 $\pm$ 2.30	0.891
LDL-kolesterol	Hasta Kontrol	108 35	85.85 $\pm$ 2.59 90.69 $\pm$ 3.43	0.330
HDL-kolesterol	Hasta Kontrol	108 35	31.55 $\pm$ 1.08 48.31 $\pm$ 2.34	0.000
VLDL-kolesterol	Hasta Kontrol	108 35	26.29 $\pm$ 0.84 27.15 $\pm$ 3.35	0.806
Trigliserid	Hasta Kontrol	108 35	113.02 $\pm$ 4.16 124.86 $\pm$ 10.40	0.296
Ürik asit	Hasta Kontrol	108 35	4.52 $\pm$ 0.39 4.16 $\pm$ 0.18	0.607
Albümin	Hasta Kontrol	108 35	3.35 $\pm$ 0.09 4.56 $\pm$ 0.11	0.000
Total protein	Hasta Kontrol	108 35	6.09 $\pm$ 0.11 7.41 $\pm$ 0.10	0.000

Total hasta grubu ve kontrol grubundaki bireylerin biyokimya parametreleri karşılaştırıldığında; total hasta grubunun HDL-kolesterol, albümin ve total protein düzeyleri sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük bulunmuştur (sırasıyla p=0.000, p=0.000, p=0.000) (Tablo-9).

Tablo-10: Total hasta grubunun oksidatif stres parametreleri arasındaki korelasyon

Total hasta grubu	MDA	NO	NT
MDA	1.000 p=0.000	0.285* p=0.003	0.120 p=0.217
NO	0.285* p=0.003	1.000 p=0.000	-0.003 p=0.973
NT	0.120 p=0.217	-0.003 p=0.973	1.000 p=0.000

Total hasta grubunun oksidatif stres parametreleri arasındaki korelasyona bakıldığında; MDA ile NO düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon bulunmuştur ($p=0.003$) (Tablo-10).

Tablo-11: Kontrol grubunun oksidatif stres parametreleri arasındaki korelasyon

Kontrol grubu	MDA	NO	NT
MDA	1.000 $p= 0.000$	0.425* $p= 0.011$	-0.157 $p= 0.367$
NO	0.425* $p= 0.011$	1.000 $p= 0.000$	-0.261 $p= 0.129$
NT	-0.157 $p= 0.367$	-0.261 $p= 0.129$	1.000 $p= 0.000$

Kontrol grubunun oksidatif stres parametreleri arasındaki korelasyona bakıldığında; MDA ile NO düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon bulunmuştur ($p=0.011$) (Tablo-11).

Tablo-12: Total hasta grubunun biyokimya parametreleri arasındaki korelasyon

Total hasta grubu	Total kolesterol	LDL-kolesterol	HDL-kolesterol	VLDL-kolesterol	Trigliserid	Ürik asit	Albümin	Total protein
Total kolesterol	1.000 $p=0.000$	0.386** $p=0.000$	0.432** $P=0.000$	0.342** $p=0.000$	0.154 $p=0.111$	-0.020 $p=0.834$	0.182 $p=0.059$	0.069 $p=0.479$
LDL-kolesterol	0.386** $p=0.000$	1.000 $p=0.000$	0.147 $p=0.130$	0.163 $p=0.092$	0.313** $p=0.001$	-0.138 $p=0.154$	0.234* $p=0.015$	0.023 $p=0.815$
HDL-kolesterol	0.432** $p=0.000$	0.147 $p=0.130$	1.000 $p=0.000$	0.053 $p=0.587$	-0.235* $p=0.014$	0.073 $p=0.451$	0.334** $p=0.000$	0.296** $p=0.002$
VLDL-kolesterol	0.342** $p=0.000$	0.163* $p=0.092$	0.053 $p=0.587$	1.000 $p=0.000$	0.313** $p=0.001$	0.133 $p=0.170$	-0.128 $p=0.186$	-0.058 $p=0.552$
Trigliserid	0.154 $p=0.111$	0.313* $p=0.001$	-0.235* $p=0.014$	0.313** $p=0.001$	1.000 $p=0.000$	-0.032 $p=0.743$	-0.068 $p=0.481$	-0.037 $p=0.707$
Ürik asit	-0.020 $p=0.834$	-0.138 $p=0.325$	0.073 $p=0.451$	0.133 $p=0.170$	-0.032 $p=0.743$	1.000 $p=0.000$	0.024 $p=0.803$	0.069 $p=0.476$
Albümin	0.182 $p=0.059$	0.234* $p=0.015$	0.334** $p=0.000$	-0.128 $p=0.186$	-0.068 $p=0.481$	0.024 $p=0.803$	1.000 $p=0.000$	0.527** $p=0.000$
Total protein	0.069 $p=0.479$	0.023 $p=0.815$	0.296** $p=0.002$	-0.058 $p=0.552$	-0.037 $p=0.707$	0.069 $p=0.476$	0.527** $p=0.000$	1.000 $p=0.000$

Total hasta grubunun biyokimya parametreleri arasındaki korelasyona bakıldığında; total kolesterol ile LDL-kolesterol değerleri ($p=0.000$), total kolesterol ile HDL-kolesterol değerleri ($p=0.000$), total kolesterol ile VLDL-kolesterol değerleri ($p=0.000$), LDL-kolesterol ile

trigliserid değerleri ($p=0.001$), LDL-kolesterol ile albümin değerleri ($p=0.015$), trigliserid ile HDL-kolesterol değerleri ($p=0.014$), HDL-kolesterol ile albümin değerleri ($p=0.000$), HDL-kolesterol ile total protein değerleri ($p=0.002$), VLDL-kolesterol ile trigliserid değerleri ($p=0.001$), albümin ile total protein değerleri ($p=0.000$) arasında anlamlı korelasyonlar bulunmuştur (Tablo-12).

Tablo-13: Kontrol grubunun biyokimya parametreleri arasındaki korelasyon

Kontrol grubu	Total kolesterol	LDL-kolesterol	HDL-kolesterol	VLDL-kolesterol	Trigliserid	Ürik asit	Albümin	Total protein
Total kolesterol	1.000 $p=0.000$	0.197 $p=0.256$	-0.042 $p=0.809$	0.207 $p=0.232$	0.121 $p=0.490$	0.093 $p=0.594$	0.021 $p=0.903$	0.263 $p=0.128$
LDL-kolesterol	0.197 $p=0.256$	1.000 $p=0.000$	0.003 $p=0.988$	-0.406* $p=0.015$	0.058 $p=0.743$	0.051 $p=0.770$	0.283 $p=0.100$	0.287 $p=0.095$
HDL-kolesterol	-0.042 $p=0.809$	0.003 $p=0.988$	1.000 $p=0.000$	-0.411* $p=0.014$	-0.473** $p=0.004$	0.076 $p=0.665$	0.447** $p=0.007$	-0.394* $p=0.019$
VLDL-kolesterol	0.207 $p=0.232$	-0.406* $p=0.015$	-0.411* $p=0.014$	1.000 $p=0.000$	0.568** $p=0.000$	-0.057 $p=0.747$	-0.354* $p=0.037$	0.129 $p=0.459$
Trigliserid	0.121 $p=0.490$	0.058 $p=0.743$	-0.473** $p=0.004$	0.568** $p=0.000$	1.000 $p=0.000$	-0.134 $p=0.443$	-0.178 $p=0.307$	0.291 $p=0.090$
Ürik asit	0.093 $p=0.594$	0.051 $p=0.770$	0.076 $p=0.665$	-0.057 $p=0.747$	-0.134 $p=0.443$	1.000 $p=0.000$	0.013 $p=0.943$	0.099 $p=0.571$
Albümin	0.021 $p=0.903$	0.283 $p=0.100$	0.447** $p=0.007$	-0.354* $p=0.037$	-0.178 $p=0.307$	0.013 $p=0.943$	1.000 $p=0.000$	-0.259 $p=0.133$
Total protein	0.263 $p=0.128$	0.287 $p=0.095$	-0.394* $p=0.019$	0.129 $p=0.459$	0.291 $p=0.090$	0.099 $p=0.571$	-0.259 $p=0.133$	1.000 $p=0.000$

Kontrol grubunun biyokimya parametreleri arasındaki korelasyona bakıldığında; HDL-kolesterol ile VLDL-kolesterol değerleri ($p=0.014$), HDL-kolesterol ile trigliserid değerleri ($p=0.004$), HDL-kolesterol ile albümin değerleri ($p=0.007$), HDL-kolesterol ile total protein değerleri ($p=0.019$), VLDL-kolesterol ile trigliserid değerleri ($p=0.000$), VLDL-kolesterol ile albümin değerleri ($p=0.037$) arasında anlamlı korelasyonlar bulunmuştur (Tablo-13).

Tablo-14: Total hasta grubunun oksidatif stres parametreleri ve biyokimya parametreleri arasındaki korelasyon

Total hasta grubu	Total kolesterol	LDL Kolesterol	HDL Kolesterol	VLDL Kolesterol	Trigliserid	Ürik asit	Albümin	Total protein
MDA	-0.074 p=0.447	0.072 p=0.458	-0.069 p=0.481	-0.157 p=0.105	0.068 p=0.487	-0.113 p=0.243	-0.137 p=0.156	-0.165 p=0.088
NO	0.004 p=0.967	0.238* p=0.013	-0.104 p=0.284	-0.284** p=0.003	0.015 p=0.875	-0.009 p=0.929	0.015 p=0.874	-0.152 p=0.115
NT	0.174 p=0.072	0.029 p=0.762	0.078 p=0.421	0.190* p=0.048	0.133 p=0.171	-0.019 p=0.846	-0.097 p=0.320	-0.165 p=0.088

Total hasta grubunun oksidatif stres parametreleriyle biyokimya parametreleri arasındaki korelasyona bakılmıştır. LDL kolesterol ile NO değerleri (0.013), VLDL kolesterol ile NO değerleri (p=0.003) ve VLDL ile NT değerleri (p=0.048) arasında anlamlı korelasyonlar bulunmuştur (Tablo-14).

Tablo-15: Kontrol grubunun oksidatif stres parametreleri ve biyokimya parametreleri arasındaki korelasyon

Kontrol grubu	Total kolesterol	LDL Kolesterol	HDL Kolesterol	VLDL Kolesterol	Trigliserid	Ürik asit	Albümin	Total protein
MDA	0.125 p=0.476	-0.299 p=0.081	0.113 p=0.519	0.138 p=0.430	-0.020 p=0.911	0.139 p=0.427	-0.116 p=0.507	-0.145 p=0.406
NO	0.057 p=0.743	0.033 p=0.849	0.005 p=0.978	0.163 p=0.350	0.030 p=0.865	-0.032 p=0.854	-0.148 p=0.398	-0.038 p=0.827
NT	0.047 p=0.789	-0.008 p=0.963	-0.101 p=0.564	0.048 p=0.786	0.261 p=0.129	-0.007 p=0.967	0.015 p=0.933	0.063 p=0.720

Kontrol grubunun oksidatif stres parametreleriyle biyokimya parametreleri arasındaki korelasyona bakılmıştır ancak anlamlı bir korelasyon bulunmamıştır (Tablo-15).

Tablo-16: Birinci hasta grubu ve kontrol grubu oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması

	1. Grup (n=40) X $\pm$ SH	Kontrol (n=35) X $\pm$ SH	p değeri
MDA	7.44 $\pm$ 0.72	3.41 $\pm$ 0.23	0.000
NO	53.35 $\pm$ 5.49	22.48 $\pm$ 2.50	0.000
NT	5.37 $\pm$ 0.91	3.92 $\pm$ 0.39	0.169

Birinci hasta grubu ve kontrol grubundaki bireylerin oksidatif stres parametreleri karşılaştırıldığında; birinci hasta grubunun MDA ve NO düzeyleri sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (sırasıyla p=0.000, p=0.000) (Tablo-16).

Tablo-17: Birinci hasta grubunun oksidatif stres parametreleri arasındaki korelasyon

1. Grup (n=40)	MDA	NO	NT
MDA	1.000 p=0.000	0.183 p=0.257	0.215 p=0.182
NO	0.183 p=0.257	1.000 p=0.000	-0.276 p=0.084
NT	0.215 p=0.182	-0.276 P=0.084	1.000 p=0.000

Birinci hasta grubunun oksidatif stres parametreleri arasındaki korelasyona bakıldığında; istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunmamıştır (Tablo-17).

Tablo-18: Birinci hasta grubunun biyokimya parametreleri arasındaki korelasyon

1.grup	Total kolesterol	LDL-kolesterol	HDL-kolesterol	VLDL-kolesterol	Trigliserid	Ürik asit	Albümin	Total protein
Total kolesterol	1.000 p=0.000	0.512** p=0.001	0.456** p=0.003	0.474** p=0.002	0.222 p=0.169	0.058 p=0.723	0.345* p=0.029	0.063 p=0.700
LDL-kolesterol	0.512** p=0.001	1.000 p=0.000	0.110 p=0.501	0.199 p=0.218	0.448* p=0.004	-0.192 p=0.235	0.342* p=0.031	-0.075 p=0.665
HDL-kolesterol	0.456** p=0.003	0.110 p=0.501	1.000 p=0.000	0.253 p=0.115	-0.261 p=0.164	0.079 p=0.626	0.221 p=0.171	0.210 p=0.193
VLDL-kolesterol	0.474** p=0.002	0.199 p=0.218	0.253 p=0.115	1.000 p=0.000	0.292 p=0.068	0.110 p=0.498	-0.045 p=0.784	-0.219 p=0.175
Trigliserid	0.222 p=0.169	0.448* p=0.004	-0.261 p=0.164	0.292 p=0.068	1.000 p=0.000	-0.233 p=0.149	-0.095 p=0.559	-0.308 p=0.053
Ürik asit	0.058 p=0.723	-0.192 p=0.235	0.079 p=0.626	0.110 p=0.498	-0.233 p=0.149	1.000 p=0.000	0.151 p=0.351	0.105 p=0.520
Albümin	0.345* p=0.029	0.342* p=0.031	0.221 p=0.171	-0.045 p=0.784	-0.095 p=0.559	0.151 p=0.351	1.000 p=0.000	0.402* p=0.010
Total protein	0.063 p=0.700	-0.075 p=0.665	0.210 p=0.193	-0.219 p=0.175	-0.308 p=0.053	0.105 p=0.520	0.402* p=0.010	1.000 p=0.000

Birinci hasta grubunun biyokimya parametreleri arasındaki korelasyona bakılmıştır. Birinci hasta grubunun total kolesterol ile LDL-kolesterol değerleri (p=0.001), total kolesterol ile HDL-kolesterol değerleri (p=0.003), total kolesterol ile VLDL-kolesterol değerleri (p=0.002), total kolesterol ile albümin değerleri (p=0.029), LDL-kolesterol ile trigliserid değerleri (p=0.004), LDL-kolesterol ile albümin değerleri (p=0.031), albümin ile total protein değerleri (p=0.010) arasında anlamlı korelasyonlar bulunmuştur (Tablo-18).

Tablo-19: Birinci hasta grubu oksidatif stres parametreleri ve biyokimya parametreleri arasındaki korelasyon

1. Grup	Total kolesterol	LDL Kolesterol	HDL Kolesterol	VLDL Kolesterol	Trigliserid	Ürik asit	Albümin	Total protein
MDA	-0.041 p=0.802	0.253 p=0.115	-0.031 p=0.849	0.026 p=0.874	0.009 p=0.955	-0.056 p=0.730	-0.216 p=0.181	-0.238 p=0.139
NO	0.014 p=0.931	0.422** p=0.007	-0.291 p=0.068	-0.109 p=0.502	0.308 p=0.053	-0.261 p=0.104	0.253 p=0.114	0.031 p=0.852
NT	0.226 p=0.161	0.165 p=0.308	0.301 p=0.059	0.302 p=0.058	0.004 p=0.982	-0.159 p=0.326	-0.139 p=0.394	-0.267 p=0.096

Birinci hasta grubunun oksidatif stres parametreleri ve biyokimya parametreleri arasındaki korelasyona bakılmıştır. LDL kolesterol ile NO değerleri ($p=0.007$) arasında anlamlı bir korelasyon bulunmuştur (Tablo-19).

Tablo-20: İkinci hasta grubu ve kontrol grubu oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması

	2. Grup (n=40) X $\pm$ SH	Kontrol (n=35) X $\pm$ SH	p değeri
MDA	5.91 $\pm$ 0.53	3.41 $\pm$ 0.23	0.000
NO	54.78 $\pm$ 5.10	22.48 $\pm$ 2.50	0.000
NT	5.76 $\pm$ 0.91	3.92 $\pm$ 0.39	0.070

İkinci hasta grubu ve kontrol grubundaki bireylerin oksidatif stres parametreleri karşılaştırıldığında; ikinci hasta grubunun MDA ve NO düzeyleri sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (sırasıyla $p=0.000$, $p=0.000$) (Tablo-20).

Tablo-21: İkinci hasta grubunun oksidatif stres parametreleri arasındaki korelasyon

2. Grup (n=40)	MDA	NO	NT
MDA	1.000 $p=0.000$	0.250 $p=0.119$	0.278 $p=0.082$
NO	0.250 $p=0.119$	1.000 $p=0.000$	0.336* $p=0.034$
NT	0.278 $p=0.082$	0.336* $p=0.034$	1.000 $p=0.000$

İkinci hasta grubunun oksidatif stres parametreleri arasındaki korelasyona bakıldığında; NO ve NT düzeyleri ($p=0.034$) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunmuştur (Tablo-21).

Tablo-22: İkinci hasta grubunun biyokimya parametreleri arasındaki korelasyon

2. grup	Total kolesterol	LDL-kolesterol	HDL-kolesterol	VLDL-kolesterol	Trigliserid	Ürik asit	Albümin	Total protein
Total kolesterol	1.000 p=0.000	0.482** p=0.002	0.416** p=0.008	0.230 p=0.153	0.055 p=0.736	0.011 p=0.945	0.018 p=0.911	-0.133 p=0.414
LDL-kolesterol	0.482** p=0.002	1.000 p=0.000	0.141 p=0.387	0.105 p=0.521	0.254 p=0.114	-0.079 p=0.629	0.174 p=0.283	0.084 p=0.606
HDL-kolesterol	0.416** p=0.008	0.141 p=0.387	1.000 p=0.000	-0.149 p=0.360	-0.391* p=0.013	0.138 p=0.395	0.367* p=0.020	0.301 p=0.059
VLDL-kolesterol	0.230 p=0.153	0.105 p=0.521	-0.149 p=0.360	1.000 p=0.000	0.459** p=0.003	0.213 p=0.187	-0.216 p=0.180	0.036 p=0.823
Trigliserid	0.055 p=0.736	0.254 p=0.114	-0.391* p=0.013	0.459** p=0.003	1.000 p=0.000	0.205 p=0.205	-0.066 p=0.686	0.170 p=0.295
Ürik asit	0.011 p=0.945	-0.079 p=0.629	0.138 p=0.395	0.213 p=0.187	0.205 p=0.205	1.000 p=0.000	0.024 p=0.881	0.319* p=0.045
Albümin	0.018 p=0.911	0.174 p=0.283	0.367* p=0.020	-0.216 p=0.180	-0.066 p=0.686	0.024 p=0.881	1.000 p=0.000	0.497** p=0.001
Total protein	-0.133 p=0.414	0.084 p=0.606	0.301 p=0.059	0.036 p=0.823	0.170 p=0.295	0.319* p=0.045	0.497** p=0.001	1.000 p=0.000

İkinci hasta grubunun biyokimya parametreleri arasındaki korelasyona bakılmıştır. İkinci hasta grubunun total kolesterol ile LDL-kolesterol değerleri ($p=0.002$), total kolesterol ile HDL-kolesterol değerleri ($p=0.008$), HDL-kolesterol ile trigliserid değerleri ($p=0.013$), HDL-kolesterol ile albümin değerleri ($p=0.020$), VLDL-kolesterol ile trigliserid değerleri ($p=0.003$), albümin ile total protein değerleri ($p=0.001$) arasında anlamlı korelasyonlar bulunmuştur (Tablo-22).

Tablo-23: İkinci hasta grubu oksidatif stres parametreleri ve biyokimya parametreleri arasındaki korelasyon

2. Grup	Total kolesterol	LDL Kolesterol	HDL Kolesterol	VLDL Kolesterol	Trigliserid	Ürik asit	Albümin	Total protein
MDA	-0.062 p=0.706	-0.015 p=0.928	-0.046 p=0.778	-0.276 p=0.084	-0.036 p=0.826	-0.071 p=0.662	-0.068 p=0.679	-0.108 p=0.508
NO	0.262 p=0.102	0.212 p=0.190	0.110 p=0.498	-0.323* p=0.042	-0.086 p=0.596	-0.183 p=0.257	-0.199 p=0.219	-0.284 p=0.076
NT	0.220 p=0.172	-0.125 p=0.440	-0.116 p=0.478	0.031 p=0.850	0.312* p=0.050	-0.123 p=0.448	-0.144 p=0.375	-0.112 p=0.490

İkinci hasta grubunun oksidatif stres parametreleri ve biyokimya parametreleri arasındaki korelasyona bakılmıştır. VLDL kolesterol ile NO değerleri ($p=0.042$), trigliserid ile NT değerleri ($p=0.050$) arasında anlamlı korelasyonlar bulunmuştur (Tablo-23).

Tablo-24: Üçüncü hasta grubu ve kontrol grubu oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması

	3. Grup (n=28) X $\pm$ SH	Kontrol (n=35) X $\pm$ SH	p değeri
MDA	5.41 $\pm$ 0.81	3.41 $\pm$ 0.23	0.023
NO	41.85 $\pm$ 6.19	22.48 $\pm$ 2.50	0.006
NT	5.83 $\pm$ 1.08	3.92 $\pm$ 0.39	0.104

Üçüncü hasta grubu ve kontrol grubundaki bireylerin oksidatif stres parametreleri karşılaştırıldığında; üçüncü hasta grubunun MDA ve NO düzeyleri sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (sırasıyla $p=0.023$, $p=0.006$) (Tablo-24).

Tablo-25: Üçüncü hasta grubunun oksidatif stres parametreleri arasındaki korelasyon

3. Grup (n=28)	MDA	NO	NT
MDA	1.000 $p=0.000$	0.463* $p=0.013$	-0.168 $p=0.394$
NO	0.463* $p=0.013$	1.000 $p=0.000$	-0.059 $p=0.767$
NT	-0.168 $p=0.394$	-0.059 $p=0.767$	1.000 $p=0.000$

Üçüncü hasta grubunun oksidatif stres parametreleri arasındaki korelasyona bakıldığında; MDA ve NO düzeyleri ($p=0.013$) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunmuştur (Tablo-25).

Tablo-26: Üçüncü hasta grubunun biyokimya parametreleri arasındaki korelasyon

3. grup	Total kolesterol	LDL-kolesterol	HDL-kolesterol	VLDL-kolesterol	Trigliserid	Ürik asit	Albümin	Total protein
Total kolesterol	1.000 p=0.000	0.104 p=0.597	0.462** p=0.013	0.230 p=0.239	0.193 p=0.325	-0.148 p=0.452	0.333 p=0.083	0.398* p=0.036
LDL-kolesterol	0.104 p=0.597	1.000 p=0.000	0.143 p=0.468	0.335 p=0.081	0.175 p=0.372	-0.195 p=0.320	-0.063 p=0.750	-0.046 p=0.818
HDL-kolesterol	0.462** p=0.013	0.143 p=0.468	1.000 p=0.000	0.067 p=0.734	-0.009 p=0.962	0.088 p=0.657	0.417* p=0.027	0.379* p=0.047
VLDL-kolesterol	0.230 p=0.239	0.335 p=0.081	0.067 p=0.734	1.000 p=0.000	0.251 p=0.197	0.093 p=0.636	-0.023 p=0.909	0.024 p=0.905
Trigliserid	0.193 p=0.325	0.175 p=0.372	-0.009 p=0.962	0.251 p=0.197	1.000 p=0.000	-0.053 p=0.790	-0.072 p=0.717	0.000 p=0.998
Ürik asit	-0.148 p=0.452	-0.195 p=0.320	0.088 p=0.657	0.093 p=0.636	-0.053 p=0.790	1.000 p=0.000	0.043 p=0.827	-0.013 p=0.947
Albümin	0.333 p=0.083	-0.063 p=0.750	0.417* p=0.027	-0.023 p=0.909	-0.072 p=0.717	0.043 p=0.827	1.000 p=0.000	0.757** p=0.000
Total protein	0.398* p=0.036	-0.046 p=0.818	0.379* p=0.047	0.024 p=0.905	0.000 p=0.998	-0.013 p=0.947	0.757** p=0.000	1.000 p=0.000

Üçüncü hasta grubunun biyokimya parametreleri arasındaki korelasyona bakılmıştır. Üçüncü hasta grubunda total kolesterol ile HDL-kolesterol değerleri (p=0.013), total kolesterol ile total protein değerleri (p=0.036), HDL-kolesterol ile albümin değerleri (p=0.027), HDL-kolesterol ile total protein değerleri (p=0.047), albümin ile total protein değerleri (p=0.000) arasında anlamlı korelasyonlar bulunmuştur (Tablo-26).

Tablo-27: Üçüncü hasta grubu oksidatif stres parametreleri ve biyokimya parametreleri arasındaki korelasyon

3. Grup	Total kolesterol	LDL Kolesterol	HDL Kolesterol	VLDL Kolesterol	Trigliserid	Ürik asit	Albümin	Total protein
MDA	0.006 p=0.977	-0.101 p=0.608	-0.121 p=0.540	-0.233 p=0.233	0.253 p=0.194	-0.148 p=0.453	-0.117 p=0.554	-0.138 p=0.485
NO	-0.231 p=0.238	-0.155 p=0.432	-0.155 p=0.431	-0.382* p=0.045	-0.306 p=0.113	0.210 p=0.284	-0.068 p=0.731	-0.248 p=0.203
NT	0.018 p=0.927	0.020 p=0.918	0.017 p=0.931	0.238 p=0.222	0.094 p=0.633	0.059 p=0.765	0.048 p=0.810	-0.137 p=0.486

Üçüncü hasta grubunun oksidatif stres parametreleri ve biyokimya parametreleri arasındaki korelasyona bakılmıştır. VLDL kolesterol ile NO değerleri ($p=0.045$) arasında anlamlı bir korelasyon bulunmuştur (Tablo-27).

Tablo-28: Oksidatif stres parametrelerinin hasta alt grupları arasındaki korelasyonu

	Grup		Ortalama Fark	SH	p değeri
MDA	Mide kanseri	Kolorektal kanser	1.53	0.80	0.059
	Mide kanseri	Diğerleri	2.03	0.89	0.024
	Kolorektal kanser	Diğerleri	0.50	0.89	0.576
NO	Mide kanseri	Kolorektal kanser	1.43	6.68	0.830
	Mide kanseri	Diğerleri	11.49	7.36	0.121
	Kolorektal kanser	Diğerleri	12.93	7.36	0.081
NT	Mide kanseri	Kolorektal kanser	0.39	1.15	0.734
	Mide kanseri	Diğerleri	0.46	1.26	0.713
	Kolorektal kanser	Diğerleri	0.07	1.26	0.953

Oksidatif stres parametreleri ve hasta alt grupları arasındaki korelasyona bakılmıştır. Mide kanseri ile pankreas, özofagus ve karaciğer kanseri MDA düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon bulunmuştur ($p=0.024$) (Tablo-28).

Tablo-29: Yaşa göre total hasta ve kontrol grubunun oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması

	Yaş	Kontrol		Total Hasta		p değeri
		n	X $\pm$ SH	n	X $\pm$ SH	
MDA	≥ 45	7	3.95 $\pm$ 0.50	83	6.08 $\pm$ 0.44	0.005
	< 45	28	3.27 $\pm$ 0.26	25	7.26 $\pm$ 0.90	0.000
NO	≥ 45	7	19.41 $\pm$ 4.60	83	51.65 $\pm$ 3.80	0.000
	< 45	28	23.25 $\pm$ 2.92	25	48.41 $\pm$ 5.96	0.001
NT	≥ 45	7	5.26 $\pm$ 1.79	83	5.74 $\pm$ 0.68	0.842
	< 45	28	3.59 $\pm$ 0.20	25	5.31 $\pm$ 0.79	0.045

Total hasta ve kontrol grubundaki bireylerin yaşa göre MDA, NO, NT düzeyleri karşılaştırılmıştır. Yaşı 45 ve üzeri olan hasta grubunda kontrol grubuna göre MDA düzeyi istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0.005$). Yaşı 45 ve üzeri olan hasta grubunda kontrol grubuna göre NO düzeyi istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0.000$). Yaşı 45 ve üzeri olan hasta grubunda kontrol grubuna göre NT düzeyinde ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p=0.842$). Yaşı 45'in altında olan hasta grubunda kontrol grubuna göre MDA düzeyi istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0.000$). Yaşı 45'in altında olan hasta grubunda kontrol grubuna göre NO düzeyi istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0.001$). Yaşı 45'in altında olan hasta grubunda kontrol grubuna göre NT düzeyi istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0.045$) (Tablo-29).

Tablo-30: Cinsiyete göre total hasta ve kontrol grubunun oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması

	Cinsiyet	Kontrol		Total Hasta		p değeri
		n	$\bar{X} \pm SH$	n	$\bar{X} \pm SH$	
MDA	Kadın	25	3.36 ± 0.26	38	5.79 ± 0.64	0.001
	Erkek	10	3.53 ± 0.51	70	6.65 ± 0.51	0.000
NO	Kadın	25	22.12 ± 2.02	38	45.96 ± 5.27	0.000
	Erkek	10	23.37 ± 7.43	70	53.58 ± 4.05	0.008
NT	Kadın	25	3.94 ± 0.53	38	5.67 ± 1.08	0.219
	Erkek	10	3.89 ± 0.36	70	5.62 ± 0.62	0.299

Total hasta ve kontrol grubundaki bireylerin cinsiyete göre MDA, NO, NT düzeyleri karşılaştırıldığında; MDA ve NO düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunurken, NT düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Tablo-30).

Tablo-31: Total hasta grubunun cinsiyete göre oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması

Total hasta	Cinsiyet	n	X $\pm$ SH	p değeri
MDA	Erkek	70	6.65 $\pm$ 0.50	0.304
	Kadın	38	5.79 $\pm$ 0.64	
NO	Erkek	70	53.58 $\pm$ 4.05	0.260
	Kadın	38	45.95 $\pm$ 5.26	
NT	Erkek	70	5.62 $\pm$ 0.62	0.962
	Kadın	38	5.67 $\pm$ 1.08	

Tablo-32: Kontrol grubunun cinsiyete göre oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması

Kontrol grubu	Cinsiyet	n	X $\pm$ SH	p değeri
MDA	Erkek	10	3.53 $\pm$ 0.51	0.754
	Kadın	25	3.36 $\pm$ 0.26	
NO	Erkek	10	23.37 $\pm$ 7.42	0.874
	Kadın	25	22.12 $\pm$ 2.02	
NT	Erkek	10	3.89 $\pm$ 0.36	0.958
	Kadın	25	3.94 $\pm$ 0.53	

Tablo-33: Hasta alt gruplarının cinsiyete göre oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması

		Cinsiyet	n	X $\pm$ SH	p değeri
Birinci Grup	MDA	Erkek	31	7.06 $\pm$ 0.78	0.334
		Kadın	9	8.75 $\pm$ 1.78	
	NO	Erkek	31	56.58 $\pm$ 6.73	0.149
		Kadın	9	42.19 $\pm$ 6.93	
	NT	Erkek	31	4.92 $\pm$ 0.77	0.369
		Kadın	9	6.91 $\pm$ 3.17	
İkinci Grup	MDA	Erkek	27	6.41 $\pm$ 0.73	0.088
		Kadın	13	4.86 $\pm$ 0.49	
	NO	Erkek	27	56.59 $\pm$ 5.84	0.615
		Kadın	13	51.02 $\pm$ 10.26	
	NT	Erkek	27	5.15 $\pm$ 0.82	0.341
		Kadın	13	7.03 $\pm$ 2.26	
Üçüncü Grup	MDA	Erkek	12	6.12 $\pm$ 1.46	0.458
		Kadın	16	4.88 $\pm$ 0.91	
	NO	Erkek	12	39.05 $\pm$ 8.82	0.703
		Kadın	16	43.96 $\pm$ 8.80	
	NT	Erkek	12	8.46 $\pm$ 2.33	0.075
		Kadın	16	3.87 $\pm$ 0.25	

Total hasta grubunda, kontrol grubunda ve hasta alt gruplarında cinsiyete göre oksidatif stres parametreleri arasında bir farklılık olup olmadığına bakılmış fakat istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Tablo-31, Tablo-32, Tablo-33).

Tablo-34: Total hasta grubundaki kadınların menapoz durumuna göre oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması

	Menapoz	n	X ± SH	p değeri
MDA	premenapoz	9	6.43±1.18	0.582
	postmenapoz	29	5.59±0.75	
NO	premenapoz	9	37.68±7.85	0.389
	postmenapoz	29	48.52±6.44	
NT	premenapoz	9	3.81±0.29	0.343
	postmenapoz	29	6.25±1.39	

Total hasta grubundaki kadınların menapoz durumlarına göre MDA, NO ve NT düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (sırasıyla p=0.582, p=0.389, p=0.343) (Tablo-34).

Tablo-35: Vücut kitle indeksine göre total hasta ve kontrol grubunun oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması

	VKİ	Kontrol		Total Hasta		p değeri
		n	X ± SH	n	X ± SH	
MDA	≤ 25	18	3.58±0.37	59	5.91±0.52	0.000
	> 25	17	3.23±0.29	49	6.88±0.61	0.000
NO	≤ 25	18	21.02±2.60	59	45.68±3.99	0.000
	> 25	17	24.03±4.40	49	57.18±5.13	0.000
NT	≤ 25	18	3.57±0.24	59	5.38±0.65	0.011
	> 25	17	4.30±0.76	49	5.94±0.93	0.321

Total hasta ve kontrol grubundaki bireylerin vücut kitle indeksine göre MDA, NO, NT düzeyleri karşılaştırılmıştır. Vücut kitle indeksi ≤ 25 olan hasta grubunda MDA, NO, NT düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (sırasıyla p=0.000, p=0.000, p=0.011). Vücut kitle indeksi > 25 olan hasta grubunda MDA ve NO düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunurken (sırasıyla p=0.000, p=0.000), NT düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (p=0.321) (Tablo-35).

Tablo-36: Kalıtsal kanser hikâyesine göre total hasta ve kontrol grubunun oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması

	Kalıtsal kanser hikâyesi	Kontrol		Total Hasta		p değeri
		n	X ± SH	n	X ± SH	
MDA	1. dereceden	8	2.94±0.27	9	6.73±1.20	0.013
	olmayan	27	3.55±0.29	80	5.98±0.44	0.000
NO	1. dereceden	8	23.22±3.21	9	64.23±11.04	0.006
	olmayan	27	22.26±3.12	80	48.22±3.80	0.000
NT	1. dereceden	8	4.01±0.50	9	4.77±0.63	0.370
	olmayan	27	3.90±0.49	80	5.53±0.60	0.037

Total hasta ve kontrol grubundaki bireylerin kalıtsal kanser hikâyesine göre MDA, NO, NT düzeyleri karşılaştırılmıştır. MDA ve NO düzeyleri 1. dereceden kanser hikâyesine sahip hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur (sırasıyla p=0.013, p=0.006). NT düzeyleri 1. dereceden kanser hikâyesine sahip olan hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. MDA, NO ve NT düzeyleri kalıtsal kanser hikâyesi olmayan hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur (sırasıyla p=0.000, p=0.000, p=0.037) (Tablo-36).

Tablo-37: Kalıtsal kanser hikâyesine göre total hasta grubunun oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması

Total hasta grubu	Kalıtsal kanser hikâyesi	n	X ± SH	p değeri
MDA	Olan	28	7.39±0.84	0.119
	Olmayan	80	5.98±0.44	
NO	Olan	28	58.56±5.88	0.160
	Olmayan	80	48.22±3.80	
NT	Olan	28	5.94±1.25	0.744
	Olmayan	80	5.53±0.60	

Total hasta grubunun kalıtsal kanser hikâyesine göre MDA, NO, NT düzeyleri karşılaştırılmıştır. Total hasta grubunda kalıtsal kanser hikâyesine sahip olan ve olmayan bireylerde MDA, NO ve NT düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (sırasıyla $p=0.119$, $p=0.160$, $p=0.744$) (Tablo-37).

Tablo-38: Sigara içme durumuna göre total hasta ve kontrol grubunun oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması

	Sigara	Kontrol		Total Hasta		p değeri
		n	$X \pm SH$	n	$X \pm SH$	
MDA	içen	14	3.69 ± 0.32	11	6.24 ± 1.46	0.115
	içmeyen	12	3.12 ± 0.35	50	6.05 ± 0.56	0.000
	bırakmış	9	3.36 ± 0.63	47	6.70 ± 0.61	0.001
NO	içen	14	19.71 ± 2.14	11	55.68 ± 10.06	0.005
	içmeyen	12	18.67 ± 2.40	50	49.46 ± 4.94	0.000
	bırakmış	9	31.87 ± 8.12	47	51.30 ± 4.74	0.095
NT	içen	14	3.57 ± 0.26	11	7.52 ± 2.35	0.124
	içmeyen	12	3.53 ± 0.33	50	5.38 ± 0.84	0.292
	bırakmış	9	5.00 ± 1.39	47	5.47 ± 0.71	0.789

Total hasta ve kontrol grubundaki bireylerin sigara içme durumuna göre MDA, NO, NT düzeyleri karşılaştırılmıştır. MDA düzeyleri sigara içmeyen ve sigarayı bırakan hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur (sırasıyla $p=0.000$, $p=0.001$). NO düzeyleri sigara içen ve içmeyen hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur (sırasıyla $p=0.005$, $p=0.000$). NT düzeyleri sigara içen, içmeyen ve bırakan hasta grubunda kontrol grubuna göre değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmamıştır (sırasıyla $p=0.124$, $p=0.292$, $p=0.789$) (Tablo-38).

Tablo-39: Alkol kullanma durumuna göre total hasta ve kontrol grubunun oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması

	Alkol	Kontrol		Total Hasta		p değeri
		n	X ± SH	n	X ± SH	
MDA	Kullanan	3	4.37±0.98	5	5.41±1.88	0.704
	kullanmayan	32	3.32±0.24	103	6.40±0.41	0.000
NO	Kullanan	3	20.53±5.83	5	50.33±11.14	0.102
	kullanmayan	32	22.66±2.69	103	50.93±3.34	0.000
NT	Kullanan	3	3.21±0.37	5	9.32±4.43	0.341
	kullanmayan	32	3.99±0.42	103	5.46±0.54	0.034

Total hasta ve kontrol grubundaki bireylerin alkol kullanma durumuna göre MDA, NO, NT düzeyleri karşılaştırıldığında; MDA, NO ve NT düzeyleri alkol kullanmayan hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur (sırasıyla p=0.000, p=0.000, p=0.034) (Tablo-39). Total hasta grubunda ve kontrol grubunda alkol kullanma durumuna göre oksidatif stres parametreleri arasında bir farklılık olup olmadığına bakılmış fakat istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Tablo-40: Egzersiz yapma durumuna göre total hasta ve kontrol grubunun oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması

	Egzersiz	Kontrol		Total Hasta		p değeri
		n	X ± SH	n	X ± SH	
MDA	Egzersiz yapan	19	3.80±0.38	17	6.53±1.18	0.040
	Egzersiz yapmayan	16	2.94±0.19	91	6.32±0.42	0.000
NO	Egzersiz yapan	19	24.81±4.03	17	45.36±5.61	0.005
	Egzersiz yapmayan	16	19.70±2.61	91	51.93±3.67	0.000
NT	Egzersiz yapan	19	4.20±0.68	17	5.22±1.37	0.495
	Egzersiz yapmayan	16	3.60±0.27	91	5.71±0.60	0.002

Total hasta ve kontrol grubundaki bireylerin egzersiz yapma durumuna göre MDA, NO, NT düzeyleri karşılaştırılmıştır. MDA ve NO düzeyleri açısından egzersiz yapan hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur (sırasıyla p=0.040, p=0.005). MDA, NO ve NT düzeylerinde egzersiz yapmayan hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak

anlamli farkliliklar bulunmuştur (sirasıyla $p=0.000$, $p=0.000$, $p=0.002$) (Tablo-40). Total hasta grubunda ve kontrol grubunda egzersiz yapma durumuna göre oksidatif stres parametreleri arasında bir farklilik olup olmadigina bakilmış fakat istatistiksel olarak anlamli bir farklilik bulunmamıştır.

Tablo-41: Ekonomik duruma göre total hasta ve kontrol grubunun oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması

		Grup	n	X $\pm$ SH	p değeri
Ekonomik durumu orta olan	MDA	Hasta	66	6.66 $\pm$ 0.51	0.000
		Kontrol	30	3.38 $\pm$ 0.24	
	NO	Hasta	66	50.75 $\pm$ 4.00	0.000
		Kontrol	30	21.88 $\pm$ 2.58	
	NT	Hasta	66	5.05 $\pm$ 0.61	0.266
		Kontrol	30	3.97 $\pm$ 0.45	
Ekonomik durumu düşük olan	MDA	Hasta	42	5.86 $\pm$ 0.64	0.295
		Kontrol	3	3.30 $\pm$ 0.17	
	NO	Hasta	42	51.12 $\pm$ 5.45	0.159
		Kontrol	3	21.46 $\pm$ 6.22	
	NT	Hasta	42	6.55 $\pm$ 1.02	0.507
		Kontrol	3	3.97 $\pm$ 0.54	

Total hasta ve kontrol grubundaki bireylerin ekonomik duruma göre MDA, NO, NT düzeyleri karşılaştırılmıştır. Ekonomik durumu orta olan hasta grubunda kontrol grubuna göre MDA ve NO düzeyleri istatistiksel olarak anlamli derecede yüksek bulunurken, NT düzeyleri arasında anlamli bir farklilik bulunmamıştır (sirasıyla $p=0.000$, $p=0.000$, $p=0.266$). Ekonomik durumu düşük olan hasta grubunda kontrol grubuna göre MDA, NO, NT düzeyleri arasında anlamli bir farklilik bulunmamıştır (sirasıyla $p=0.295$, $p=0.159$, $p=0.507$) (Tablo-41).

Tablo-42: Öncelikli olarak tüketilen gıda türüne göre total hasta ve kontrol grubunun oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması

		Grup	n	X ± SH	p değeri
Yeşil sebze ve meyve	MDA	Hasta	51	6.59±0.65	0.000
		Kontrol	24	3.64±0.32	
	NO	Hasta	51	45.26±4.06	0.000
		Kontrol	24	22.05±2.41	
	NT	Hasta	51	5.53±0.75	0.017
		Kontrol	24	3.60±0.24	
Et ve et ürünleri	MDA	Hasta	50	6.17±0.52	0.000
		Kontrol	7	2.89±0.26	
	NO	Hasta	50	53.25±5.13	0.000
		Kontrol	7	21.43±4.72	
	NT	Hasta	50	6.03±0.91	0.738
		Kontrol	7	5.18±1.78	
Hamurlu gıdalar	MDA	Hasta	6	4.54±0.46	0.041
		Kontrol	4	2.90±0.44	
	NO	Hasta	6	73.51±15.40	0.079
		Kontrol	4	26.88±6.30	
	NT	Hasta	6	3.50±0.18	0.723
		Kontrol	4	3.62±0.33	

Total hasta ve kontrol grubundaki bireylerin öncelikli olarak tükettikleri gıda türüne göre MDA, NO, NT düzeyleri karşılaştırılmıştır. Öncelikli olarak yeşil sebze ve meyve tüketen hasta grubunda kontrol grubuna göre MDA, NO, NT düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (sırasıyla p=0.000, p=0.000, p=0.017). Öncelikli olarak et ve et ürünleri tüketen hasta grubunda kontrol grubuna göre MDA ve NO düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunurken (sırasıyla p=0.000, p=0.000), NT düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (p=0.738). Öncelikli olarak hamurlu gıda tüketen hasta grubunda kontrol grubuna göre MDA

düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunurken ($p=0.041$), NO ve NT düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p=0.079$, $p=0.723$) (Tablo-42).

Tablo-43: Öncelikli olarak tüketilen yağ türüne göre total hasta ve kontrol grubunun oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması

		Grup	n	$X \pm SH$	p değeri
Sıvı yağ tüketenler	MDA	Hasta	65	6.67 ± 0.54	0.000
		Kontrol	31	3.39 ± 0.24	
	NO	Hasta	65	47.11 ± 3.70	0.000
		Kontrol	31	22.50 ± 2.66	
	NT	Hasta	65	5.73 ± 0.75	0.007
		Kontrol	31	3.60 ± 0.19	
Margarin tüketenler	MDA	Hasta	37	5.69 ± 0.55	0.212
		Kontrol	4	3.51 ± 1.00	
	NO	Hasta	37	56.48 ± 5.85	0.067
		Kontrol	4	22.29 ± 8.21	
	NT	Hasta	37	5.75 ± 0.91	0.813
		Kontrol	4	6.45 ± 3.13	

Total hasta ve kontrol grubundaki bireylerin öncelikli olarak tükettikleri yağ türüne göre MDA, NO, NT düzeyleri karşılaştırılmıştır. Öncelikli olarak sıvı yağ tüketen hasta grubunda kontrol grubuna göre MDA, NO, NT düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılıklar bulunmuştur (sırasıyla $p=0.000$, $p=0.000$, $p=0.007$). Öncelikli olarak margarin tüketen hasta grubunda kontrol grubuna göre MDA, NO ve NT düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (sırasıyla $p=0.212$, $p=0.067$, $p=0.813$) (Tablo-43). Total hasta grubunda ve kontrol grubunda öncelikli olarak tüketilen yağ türüne göre oksidatif stres parametreleri arasında bir farklılık olup olmadığına bakılmış fakat istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Oksijen serbest radikaller ya da daha genel olarak, reaktif oksijen türleri (ROS) yanı sıra reaktif nitrojen türleri (RNS) normal hücrel metabolizmanın ürünleridirler¹². ROS ve RNS hem zararlı hem de yararlı türlerdir^{11,12}. Ortalama yetişkin bir bireyde her gün vücuttaki her hücreye yaklaşık olarak 10000-20000 serbest radikalın saldırdığı rapor edilmiştir². ROS/RNS'nin düşük konsantrasyonlarda, bulaşıcı ajanlara karşı savunma gibi hücrel cevaplarda fizyolojik rolleri, hücrel sinyal iletim yollarında fonksiyonları ve mitojenik cevabın indüklenmesini içeren yararlı etkileri bulunmaktadır¹². Bununla birlikte, yüksek konsantrasyonlarda, ROS sitotoksiktir^{17,149}. ROS, son derece reaktif olduğundan DNA, proteinler ve lipidlere zarar verebilir²¹.

Normal koşullar altında, hücre içi ROS düzeylerinde denge, temizleyici sistemlerin yardımıyla sağlanır. Ancak belli hastalıklarda, ROS ve antioksidan türler arasındaki bu denge bozulur. Oksidan-antioksidan dengedeki bu bozukluğa oksidatif stres denir^{2,8,28}. Oksidatif stresin kanser gibi pek çok dejeneratif ya da kronik hastalığın patogeneğinde önemli düzeyde rol oynadığı düşünülmektedir^{3,12}.

Kanser, hızlı hücre büyümesi ve farklılaşmasıyla ilişkilidir². ROS da hücre farklılaşması, apoptozis ve hücre çoğalmasında önemlidir^{17,141}. ROS'un pek çok genin ekspresyonunu ve sinyal iletim yollarını engellediği ve bunların karsinogenez sürecinde etkili olduğu kanıtlanmıştır^{12,21}. DNA, lipid ve protein oksidasyon ürünleri kapsamlı ve artan bir dizi potansiyel biyomarker olarak kullanılmaktadır²⁸.

Lipid hasarı lipid peroksidasyonu olarak adlandırılır⁵. Lipid peroksidasyonu çoklu doymamış yağ asitlerinde meydana gelir. Bu süreç genel olarak süperoksit anyonu, hidroksil radikali gibi çok güçlü

serbest radikallerle ve reaktif molekül hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türleri tarafından bir metilen karbonundan hidrojen atomunun çıkarılmasıyla başlamaktadır. Oluşan karbon merkezli radikaller peroksil radikali oluşturmak için O_2 ile reaksiyona girerler^{2,3,5,24,44,46}. Peroksil radikali oldukça reaktiftir²⁴ ve komşu PUFA yan zincirinden hidrojen atomunu çıkararak oksidatif hasarın yayılmasına yol açabilir^{3,5,24,42}. Bu şekilde de zincir reaksiyonları devam eder^{3,5,24}. Lipid peroksidasyonu sonucunda çeşitli kompleks ürünler oluşur^{44,45}. Bunların çoğu proteinlerle ve DNA ile reaksiyona girer ve toksik ve mutajeniktirler^{14,24,44,45}.

Kanıtlar lipid peroksidasyon ürünlerinin (serbest radikaller, lipid hidroperoksitler ve reaktif aldehit) proteinlere hem in vitro hem de in vivo zarar verdiğini ileri sürmektedir. Lipid peroksidasyonu sırasında oluşan reaktif ürünlerden biri olan MDA'nın proteinlere direkt olarak ya da serbest radikaller aracılığıyla zarar verdiği bilinmektedir⁴⁸.

Protein oksidasyonu ROS ile veya oksidatif stresin sekonder ürünleri ile reaksiyonu sonucu indirekt olarak indüklenen proteinlerin kovalent modifikasyonu olarak tanımlanmaktadır¹. Protein oksidasyonu esas olarak hidroksil radikali ile başlar. Diğer yandan oksidasyon sürecinde O_2 ile birlikte, süperoksit anyonu ve hidroperoksilin varlığı da gereklidir^{54,55}. Protein oksidasyonu metal-katalizli oksidasyon, parçalanmayı indükleyen oksidasyon, amino asit oksidasyonu ve lipid ve şekerlerin otooksidasyonu gibi pek çok farklı mekanizmayla gerçekleşebilir^{19,29,48,62}.

Proteinlerin oksidasyonu aromatik grupların ve alifatik amino asit yan zincirlerinin hidroksilasyonuna, aromatik amino asit rezidülerinin nitrasyonuna, metiyonin rezidülerinin sülfoksidasyonuna

yol açar⁵⁵. Oksidasyon polipeptit zincirin parçalanmasına ve çapraz bağlı protein agregatlarının oluşumuna da yol açmaktadır^{54,55,60}. Bununla birlikte, proteinlerin fonksiyonel grupları çoklu doymamış yağ asitleri ve karbohidrat türevlerinin oksidasyon ürünleri ile de reaksiyona girebilir^{55,60}. Proteinlerin oksidasyonu çok sayıda ve farklı türde olduğundan protein oksidasyonunun tek bir belirteci yoktur⁸². Oksidatif hasarın saptanmasında genel olarak protein karbonil, protein tiyol ve nitrotirozin gibi belirteçler kullanılmaktadır.

Çalışmamızda gastrointestinal kanser tanısı almış hastalarda nitrik oksit (NO), NO-bağımlı in vivo hasarın tespitinde kullanışlı bir belirteç olan nitrotirozin (NT) ve lipid peroksidasyon ürünü olan malondialdehit (MDA) düzeyleri ölçülerek sağlıklı bireylerle karşılaştırılması yapılmıştır.

Khanzode ve arkadaşları yaptıkları çalışmada mide kanserli hastalarda lipid peroksidasyon düzeyini araştırmışlardır. Mide kanserli hastalarda kontrol grubuna göre serum MDA düzeylerinde önemli derecede artış olduğunu bulmuşlardır¹⁷⁹.

Koda ve arkadaşları çalışmalarında kolorektal kanserli hastalarda kontrol grubuna göre lipid peroksidasyon ürünlerini ölçmüşlerdir. Çalışmalarında lipid peroksidasyon ürünü olan MDA düzeylerinde istatistiksel olarak önemli bir artış olduğu sonucuna varmışlardır²⁰⁵.

Podsiad ve arkadaşları yaptıkları çalışmada mide kanserli hastalarda sağlıklı kontrol grubuna göre dokularda ve serumda MDA düzeylerini ölçmüşlerdir. Elde ettikleri sonuç, mide kanserli hastaların mide dokularında sağlıklı kontrol grubunun mide dokularına göre MDA

konsantrasyonunun daha yüksek olduğu yönündedir. Bunun yanı sıra serumda ameliyat öncesinde ve sonrasında MDA düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulamamışlardır²⁰⁶.

Levy ve arkadaşları 39 özofagus kanserli hastada kontrol grubuna göre lipid peroksidasyon ürünü düzeylerini ölçmüşlerdir. Kanser hastalarında kontrol grubuna göre MDA düzeylerinin anlamlı derecede yüksek olduğunu tespit etmişlerdir²⁰⁷.

Dursun ve arkadaşları çalışmalarında özofagus ve mide kanserli hastalarda lipid peroksidasyon seviyesi ve antioksidan enzim aktivitesini araştırmışlardır ve lipid peroksidasyonu göstergesi olarak MDA düzeylerini ölçmüşlerdir. Hasta grubunun MDA düzeylerini sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır. Özofagus ve mide kanserli hastalarda antioksidan savunma sisteminin önemli oranda değiştiğı ve bunun da lipid peroksidasyonu ile sonuçlanan oksijen radikallerinin artışına neden olduğu sonucuna varmışlardır²⁰⁸.

Choi ve arkadaşları mide kanserli hastalarda sağlıklı kontrol grubuna göre lipid peroksidasyon düzeyini ölçmüşlerdir. Kanserli hastaların serum MDA düzeylerini kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır²⁰⁹.

Chang ve arkadaşları kolorektal kanser ile oksidatif stres arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Serumda lipid peroksidasyonunu tayin etmişlerdir. Kolorektal kanserli 36 hastanın 40 sağlıklı kontrol grubuna göre MDA düzeylerini ölçmüşler ve anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır. Kolorektal kanserli hastalarda oksidatif stres düzeyinin arttığı ve kolorektal kanserinin gelişiminde önemli bir rol oynadığı sonucuna varmışlardır²¹⁰.

Mahdavi ve arkadaşları kanserli hastalarda kontrol grubuna göre MDA düzeylerini ölçmüşlerdir. Kanserli 57 hastanın 22 sağlıklı kontrol grubuna göre serum MDA düzeylerini anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır²¹¹.

Chandramathi ve arkadaşları kolorektal ve meme kanserli hastalarda lipid peroksidasyon göstergesi olan MDA düzeylerini ölçmüşlerdir. Hasta grubunda idrar MDA düzeylerini kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır²¹².

Torun ve arkadaşları çeşitli kanser tiplerinden oluşan (gastrointestinal, akciğer, meme kanseri gibi) hasta gruplarında kontrol grubuna göre MDA düzeylerini ölçmüşlerdir. Kanserli 208 hastanın MDA düzeylerini 156 sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır²¹³.

Türkdoğan ve arkadaşları gastrointestinal kanserli hastalarda lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA düzeylerini ölçmüşlerdir. Mide kanserli 16 hasta ve özofagus kanserli 11 hastanın plazma MDA düzeylerini 14 sağlıklı kontrol grubuna göre ölçmüşlerdir. MDA düzeylerini her iki grupta da kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır²¹⁴.

Çalışmamızda total hasta grubunun MDA düzeyleri 6.35 ± 0.40 μM , birinci hasta grubunun 7.44 ± 0.72 μM , ikinci hasta grubunun 5.91 ± 0.53 μM , üçüncü hasta grubunun 5.41 ± 0.81 μM iken, kontrol grubunun 3.41 ± 0.23 μM olarak bulunmuştur. Total hasta, birinci, ikinci ve üçüncü hasta gruplarının kontrol grubuna göre MDA düzeyleri istatistiksel açıdan anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Khanzode ve

ark., Koda ve ark., Podsiad ark., Levy ve ark., Dursun ve ark., Choi ve ark., Chang ve ark., Mahdavi ve ark., Chandramathi ve ark., Torun ve ark., Türkdoğan ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmalar bizim bulgularımızla uyumludur.

Cerratani ve arkadaşları mide kanserli, aile kanser hikâyesi olan 35 hasta ile kanser hikâyesi olmayan 30 hastanın neoplastik doku örneklerinde MDA düzeylerini ölçmüşlerdir. Elde ettikleri sonuç, MDA düzeylerinde anlamlı bir farklılık olmadığı yönündedir¹²⁸.

Çalışmamızda total hasta grubunda kalıtsal kanser hikâyesi olan hastaların MDA düzeyleri 7.39 ± 0.84 μM iken, kalıtsal kanser hikâyesi olmayan hastaların MDA düzeyleri 5.98 ± 0.44 μM olarak tespit edilmiş ve istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Bakan ve arkadaşları mide kanserli 38 hastada yapmış oldukları çalışmalarında malondialdehit ve nitrik oksit seviyelerini kontrol grubuna ölçmüşlerdir. Plazma MDA ve NO düzeylerini mide kanserli hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır. Bu artışın hastalardaki oksidan-antioksidan durumuyla ilişkili olabileceğini ileri sürmüşlerdir²¹⁵.

Batcıoğlu ve arkadaşları mide kanserli hastalarda MDA ve NO düzeylerini ölçmüşlerdir. Hasta grubunun kontrol grubuna göre MDA düzeylerini önemli derecede yüksek bulmuşlardır. NO metabolit düzeylerinin ise istatistiksel olarak önemli olmadığı sonucuna varmışlardır²¹⁶.

Karakani ve arkadaşları özofagus ve mide kanserli hastalarda üriner nitrik oksit ve MDA düzeylerini ölçmüşlerdir. Özofagus ve mide kanserli 13 hastada 10 sağlıklı kontrol grubuna göre MDA ve NO düzeylerini anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır. Bu artışın hastalardaki oksidan durumuyla ilişkili olabileceği sonucuna varmışlardır²¹⁷.

Hazar ve arkadaşları 39 kolorektal kanserli ve 18 mide kanserli hastanın 22 sağlıklı kontrol grubuna göre NO düzeylerini ölçmüşlerdir. NO düzeylerini hem kolorektal hem de mide kanserli hastalarda anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır. Nitrik oksidin gastrointestinal kanserlerin patogeneğinde payı olduğu sonucuna varmışlardır²¹⁸.

Szalecky ve arkadaşları çalışmalarında kolorektal kanserli 69 hastada plazma nitrit/nitrat düzeylerini ölçmüşlerdir. Kanserli hastalarda plazma nitrit/nitrat düzeylerini anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır. Plazma nitrit/nitrat düzeylerinin endojen NO sentezindeki artıştan kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir. Nitrotirozin düzeylerini ise 32 hastada hem plazmada hem de tümör dokularında ölçmüşlerdir. Nitrotirozinin 32 hastanın 7'sinde kanser dokularında pik yaptığı saptanmış fakat plazmada saptanamamıştır²¹⁹.

Dinçer ve arkadaşları mide kanserli hastalarda nitrat ve nitrit düzeylerini ölçmüşlerdir. Elde ettikleri sonuç, mide kanserli hastalarda kontrol grubuna göre nitrit ve nitrat düzeylerinin arttığı yönündedir. Mide kanserli hastalarda artmış total nitrit ve nitrat düzeylerinin NO-aracılı oksidatif stres artışını ve yetersiz antioksidan savunmayı gösterdiği sonucuna varmışlardır²²⁰.

Zhang ve arkadaşları, özofagus kanserli hastalarda NO düzeylerini ölçmüşlerdir. Özafageal skuamöz karsinomlu hastalarda serum NO düzeylerini kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır²²¹.

Moriyama ve arkadaşları hepatoselüler karsinomlu hastalarda plazma nitrit/nitrat konsantrasyonlarını kontrol grubuna göre ölçmüşlerdir. Hasta grubunda plazma nitrit/nitrat düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur²²².

Haklar ve arkadaşları kolon ve meme kanserli hastalardan alınan kanserli dokularda ROS, NO ve peroksinitrit içeriğini ölçmüşlerdir. ROS, kanserli kolon dokularında anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Ayrıca kanserli örneklerde NO ve peroksinitrit konsantrasyonlarını istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır²²³.

Notas ve arkadaşları hepatoselüler karsinomlu hastalarda NO metabolizmasının son ürünleri olan nitrit ve nitratların düzeylerini ölçmüşlerdir. Hepatoselüler karsinomlu hastalarda nitrit ve nitrat düzeylerini kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır²²⁴.

Eroğlu ve arkadaşları mide kanserli hastalarda serum NO düzeylerini kontrol grubuna göre ölçmüşlerdir. Mide kanserli 37 hastanın NO düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur²²⁵.

Çalışmamızda total hasta grubunun NO düzeyleri 50.90 ± 3.22 μM , birinci hasta grubunun 53.35 ± 5.49 μM , ikinci hasta grubunun 54.78 ± 5.10 μM , üçüncü hasta grubunun 41.85 ± 6.19 μM iken, kontrol grubunun 22.48 ± 2.50 μM olarak tespit edilmiştir. Total hasta, birinci, ikinci ve üçüncü hasta gruplarının kontrol grubuna göre NO düzeyleri istatistiksel açıdan anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Bakan ve ark., Karakani ve ark., Hazar ve ark., Szalecky ve ark., Dinçer ve ark., Zhang ve ark., Moriyama ve ark., Haklar ve ark., Notas ve ark., Eroğlu ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmalar bizim bulgularımızla uyumludur. Batcioğlu ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışma MDA düzeyleri açısından bulgularımızla uyumludur.

Vaninetti ve arkadaşları özofagus kanserli hastalarda NO'un kararlı reaksiyon ürünü ve hücresel protein hasarı belirteci olan nitrotirozinin dokulardaki birikimini araştırmışlardır. Özofagus adenokarsinomlu hastalarda NT düzeylerinin arttığı sonucuna varmışlardır²²⁶.

Sepehr ve arkadaşları özafagus skuamöz hücre karsinomlarında TP53 mutasyonunda nitrotirozin düzeylerinin etkisi olup olmadığını araştırmışlardır. Nitrik oksidin aşırı düzeyleri ile protein hasarı belirteci olan nitrotirozin birikimini 18 hastanın 6'sının tümör hücrelerinde tespit etmişlerdir²²⁷.

Kondo ve arkadaşları insan kolorektal adenokarsinomlarında DNA ve proteinlerin oksidatif modifikasyonlarının yüksek seviyede olduğunu saptamışlardır. Kanser hücrelerinde nitrotirozinin yüksek olduğunu bulmuşlardır²²⁸.

Pignatelli ve arkadaşları akciğer kanserli hastalarda nitrotirozin düzeylerini kontrol grubuna göre ölçmüşlerdir. Total hasta grubunun plazma nitrotirozin düzeylerini kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır²²⁹.

Yılmaz ve arkadaşları mesane kanserli hastalarda nitrotirozin düzeylerini araştırmışlardır. Mesane kanserli 43 hastanın plazma nitrotirozin düzeylerini 28 sağlıklı kontrol grubuna göre ölçmüşlerdir. Nitrotirozin düzeylerini hasta grubunda 5.020 ± 0.211 nM, kontrol grubunda ise 5.049 ± 0.141 nM olarak bulmuşlardır. Elde ettikleri sonuç, hasta grubunun nitrotirozin düzeylerinde kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık olmadığı yönündedir²⁷.

Çalışmamızda NT düzeyleri total hasta grubunda 5.63 ± 0.55 nM iken, kontrol grubunda 3.92 ± 0.39 nM olarak bulunmuştur. Total hasta grubunun kontrol grubuna göre NT düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Birinci hasta grubunda NT düzeyi 5.37 ± 0.91 nM, ikinci hasta grubunda 5.76 ± 0.91 nM ve üçüncü hasta grubunda 5.83 ± 1.08 nM olarak bulunmuştur. Hasta alt gruplarının kontrol grubuna göre NT düzeyleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Kato ve arkadaşları özofagus kanserli hastalarda peroksinitrit oluşumunun belirteci olan nitrotirozin ekspresyonunu incelemişlerdir. Özofagus kanserli 55 hastanın 21'inde nitrotirozini tayin etmişlerdir. Nitrotirozin ekspresyonuyla sigara durumu ($p=0.026$), alkol kullanımı ($p=0.0414$) ve cinsiyet ($p=0.0162$) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulmuşlardır²³⁰. Bancel ve arkadaşları mide kanserli hastaların tümör hücrelerinde nitrotirozin ekspresyonunu cinsiyete göre

karşılaştırmışlardır fakat nitrotirozin ekspresyonu ve cinsiyet arasında anlamlı bir ilişki olmadığı sonucuna varmışlardır²³¹.

Çalışmamızda mide kanserli hastaların nitrotirozin düzeyleri ile cinsiyet arasında anlamlı bir farklılık olup olmadığına bakılmıştır. Nitrotirozin düzeyi erkeklerde 4.92 ± 0.77 nM iken, kadınlarda NT düzeyi 6.91 ± 3.17 nM olarak tespit edilmiş ancak istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Sonuç olarak, kanser tanısı konulmuş hastalarda lipid peroksidasyonu, NO radikal üretimi ve protein oksidasyonunda artış olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda MDA ve NO düzeyleri arasında anlamlı pozitif bir korelasyon, MDA ve NT düzeyleri arasında ise pozitif anlamlı olmayan bir korelasyon bulunmuştur. Karsinogenez sürecinde fagositler tarafından NO ve diğer reaktif türlerin aşırı miktarda üretildiği bunun da lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonuna yansıdığı düşüncesindeyiz. Ayrıca çalışmamızda NO ve NT düzeyleri arasında anlamlı olmayan negatif bir korelasyon bulunmuştur. Bu ilişkinin, nitrik oksitin süperoksit anyonuyla reaksiyona girerek peroksinitrit oluşturması ve peroksinitritin de proteinler üzerine atağının sonucunda nitrotirozin üretimini arttırmış olmasından kaynaklandığı düşüncesindeyiz.

6. ÖZET

Çalışmamızda gastrointestinal kanser tanısı almış 108 hasta (70 erkek, 38 kadın) ve sağlıklı 35 kişi (25 kadın, 10 erkek) bulunmaktadır. Hastalar üç gruba ayrılmıştır. Birinci grup mide kanseri tanısı almış (9 kadın, 31 erkek), ikinci grup kolorektal kanser tanısı almış (13 kadın, 27 erkek), üçüncü grup ise pankreas, karaciğer ve özofagus kanser tanısı almış (16 kadın, 12 erkek) hastalardan oluşmaktadır. Çalışmamızda hasta grubunun kontrol grubuna göre serum malondialdehit (MDA), nitrik oksit (NO) ve plazma nitrotirozin (NT) düzeyleri ölçülmüştür. MDA düzeyleri spektrofotometrik olarak, NO ve NT düzeyleri ise kit kullanılarak tayin edilmiştir. Ayrıca yaş, cinsiyet, kalıtsal kanser hikâyesi, sigara, alkol, egzersiz, diyet alışkanlığı, diyetel yağ kullanımı gibi faktörlerin oksidatif stres parametreleri üzerine olan etkileri istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

Total hasta grubunun MDA, NO ve NT düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (sırasıyla $p=0.000$, $p=0.000$, $p=0.012$). Total hasta grubunun oksidatif stres parametreleri arasındaki korelasyona bakılmıştır. MDA ve NO düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon ($0.285/p=0.003$), MDA ve NT düzeyleri arasında pozitif ($0.120/p=0.217$), NO ve NT düzeyleri arasında ise negatif anlamlı olmayan ($-0.003/p=0.973$) korelasyonlar bulunmuştur.

Birinci hasta grubunun oksidatif stres parametreleri arasındaki korelasyona bakıldığında; MDA, NO ve NT düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunmamıştır ancak NO ve NT arasında negatif anlamlı olmayan bir korelasyon bulunmuştur ($-0.276/p=0.084$). İkinci hasta grubunun oksidatif stres parametreleri arasındaki korelasyona bakıldığında; NO ve NT düzeyleri arasında

istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunmuştur ($0.336/p=0.034$). Üçüncü hasta grubunun oksidatif stres parametreleri arasındaki korelasyona bakıldığında; MDA ve NO düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunmuştur ($0.463/p=0.013$). MDA ve NT düzeyleri arasında ise negatif ancak istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir korelasyon bulunmuştur ($-0.168/p=0.394$).

7. SUMMARY

In our study, there were 108 patients (70 men, 38 women) who were diagnosed as having gastrointestinal cancer and 35 healthy individuals (25 women, 10 men). Patients were divided into three groups: first group who were diagnosed as having gastric cancer (9 women, 31 men), second group who were diagnosed as having colorectal cancer (13 women, 27 men), third group who were diagnosed as having pancreas, liver and esophagus cancer (16 women, 12 men). In our study patients' serum malondialdehyde (MDA), nitric oxide (NO) and plasma nitrotyrosine (NT) levels compared with healthy individuals'. MDA levels were analyzed spectrophotometrically, NO and NT levels were determined by using kit. Besides, effects of factors such as age, gender, history of family, smoking status, alcohol status, physical exercise, diet habits, dietary fat habit on oxidative stress parameters were statistically evaluated.

The levels of MDA, NO and NT were statistically found high in cancer patients compared with the healthy control group (respectively, $p=0.000$, $p=0.000$, $p=0.012$). The correlation of patients' oxidative parameters were observed. It is found that there is a significant correlation between MDA and NO levels ($0.285/p=0.003$), there is a positive nonsignificant correlation between MDA and NT levels ($0.120/p=0.217$) and also there is a negative nonsignificant correlation between NO and NT levels ($-0.003/p=0.973$).

When the correlation between oxidative stress parameters of the first group has been observed; there is no statistically significant correlation among MDA, NO and NT levels but a negative nonsignificant correlation has been observed between NO and NT levels ($-0.276/p=0.084$). When the correlation between oxidative stress

parameters of the second group has been observed; there is a statistically significant correlation between NO and NT levels ($0.336/p=0.034$). When the correlation between oxidative stress parameters of the third group has been observed; there is a statistically significant correlation between MDA and NO levels ($0.463/p=0.013$), and a negative nonsignificant correlation has been observed between MDA and NT levels ($-0.168/p=0.394$).

8. KAYNAKLAR

1. Shacter E. Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. *Drug Metabolism* 2000; 32: 307-326.
2. Gupte A, Mumper RJ. Elevated copper and oxidative stress in cancer cells as a target for cancer treatment. *Cancer Treatment Reviews* 2009; 35: 32-46.
3. Mark R, McCall, Balz F. Can antioxidant vitamins materially reduce oxidative damage in humans? *Free Radic Biol & Med* 1999; 26: 1034-1053.
4. Sies H. Oxidative Stress: Oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology* 1997; 82: 291-295.
5. Kohen R, Nyska A. Oxidation of biological systems: Oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicologic Pathology* 2002; 30(6): 620-650.
6. Andersen JK. Oxidative stress in neurodegeneration: cause or consequences? *Nat Med* 2004; 10: 18-25.
7. Pourova J, Kottova M, Voprsalova M, Pour M. Reactive oxygen and nitrogen species in normal physiological processes. *Acta Physiol* 2010; 198: 15-35.
8. Halliwell B. Reactive oxygen species and the central nervous system. *J Neurochem* 1992; 59(5): 1609-1623.
9. Hubel CA. Oxidative stress in the pathogenesis of preeclampsia. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 1999; 222: 222-235.
10. Darley-Usmar V, Halliwell B. Blood radicals Reactive nitrogen species, reactive oxygen species, transition metal ions, and the vascular system. *Pharmaceutical Research* 1996; 13(5): 649-662.
11. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions* 2006; 160: 1-40.

12. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *IJBCB* 2007; 39: 44-84.
13. Betteridge DJ. What is oxidative stress? *Metabolism* 2000;49(2):3-8.
14. Aruoma OI. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *JAOCS* 1998; 75(2): 199-212.
15. Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 2000; 408: 239-247.
16. Hao Q, Rutherford SA, Low B, Tang H. Selective regulation of hydrogen peroxide signaling by receptor tyrosine phosphatase- α . *Free Radic Biol & Med* 2006; 41: 302-310.
17. Kekec Y, Paydas S, Tuli A, Zorludemir S, et al. Antioxidant enzyme levels in cases with gastrointestinal cancer. *European Journal of Internal Medicine* 2009; 20: 403-406.
18. Kielland A, Blom T, Nandakumar KS, Holmdahl R, et al. In vivo imaging of reactive oxygen and nitrogen species in inflammation using the luminescent probe L-012. *Free Radic Biol & Med* 2009; 47: 760-766.
19. Cecarini V, Gee J, Fioretti E, Amici M, Angeletti M, Eleuteri AM, Keller JN, et al. Protein oxidation and cellular homeostasis: Emphasis on metabolism. *Biochimica et Biophysica Acta* 2007; 1773: 93-104.
20. Stadtman ER, Levine L. Protein oxidation. *Annals NY Academy of Sciences* 2000; 899: 191-208.
21. Lau ATY, Wang Y, Chiu J. Reactive oxygen species: Current knowledge and applications in cancer research and therapeutic. *Journal of Cellular Biochemistry* 2008; 104: 657-667.
22. Bassi P, MD, Sacco E, MD. Cancer and aging: The molecular pathways. *Urologic Oncology* 2009; 27: 620-627.
23. Kim KB, Lee BM. Oxidative stress to DNA, protein, and antioxidant enzymes (superoxide dismutase and catalase) in rats treated with benzo(a) pyrene. *Cancer Lett* 1997; 113: 205-212.

24. Gate L, Paul J, Tew KD, et al. Oxidative stress induced in pathologies: the role of antioxidants. *Biomed & Pharmacother* 1999; 53: 169-180.
25. Fukagawa NK. Aging: Is oxidative stress a marker or is it causal? *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 1999; 222: 293-298.
26. Seven A, Güzel S, Aslan M, Hamuryudan V. Lipid, protein, DNA oxidation and antioxidant status in rheumatoid arthritis. *Clinical Biochemistry* 2008; 41: 538-543.
27. Yılmaz İA, Akçay T, Çakatay U, Telci A, et al. Relation between bladder cancer and protein oxidation. *International Urology and Nephrology* 2003; 35: 345-350.
28. Blumberg J. Use of biomarkers of oxidative stress in research studies. *J Nutr* 2004; 134: 3188-3189.
29. Zwart L, Meerman JHN, Commandeur M, Vermeulen NPE, et al. Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. *Free Radic Biol & Med* 1999; 26: 202-226.
30. Burçak G, Andican G. Oksidatif DNA hasarı ve yaşlanma. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi* 2004; 35(4): 159-169.
31. Kamat JP, Devasagayam TPA. Oxidative damage to mitochondria in normal and cancer tissues, and its modulation. *Toxicology* 2000; 155: 73-82.
32. Kocha T, Yamaguchi M, Ohtaki, et al. Hydrogen peroxide-mediated degradation of protein: different oxidation modes of copper- and iron-dependent hydroxyl radicals on the degradation of albumin. *Biochimica et Biophysica Acta* 1997; 1337: 319-326.
33. Cross CE, Reznick AZ, Packer L, Davis PA, Suzuki YJ, Halliwell B, et al. Oxidative damage to human plasma proteins by ozone. *Free Rad Res Comms* 1991; 15(6): 347-352.
34. Correa-Salde V, Albasa I. Reactive oxidant species and oxidation of protein and heamoglobin as biomarkers of susceptibility to stress

- caused by chloramphenicol. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2009; 63: 100-104.
35. Galaris D, Skiada V, Barbouti A. Redox signaling and cancer: The role of "labile" iron. *Cancer Lett* 2008; 266: 21-29.
 36. Lenaz G. Role of mitochondria in oxidative stress and ageing. *Biochimica et Biophysica Acta* 1998; 1366: 53-67.
 37. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci* 1993; 90: 7915-7922.
 38. Stocker R, Keaney JF, Jr. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiol Rev* 2004; 84: 1381-1478.
 39. Beevi SSS, Rasheed AMH, Geetha A. Evaluation of oxidative stress and nitric oxide levels in patients with oral cavity cancer. *Jpn J Clin Oncol* 2004; 34(7): 379-385.
 40. Leski ML, Bao F, Wu L, Qian H, et al. Protein and DNA oxidation in spinal injury: neurofilaments-an oxidan target. *Free Radic Biol & Med* 2001; 30(6): 613-624.
 41. Barja G. Endogenous oxidative stress: relationship to aging, longevity and caloric restriction. *Ageing Research Reviews* 2002; 1: 397-411.
 42. Beckman KB, Ames BN. The free radical theory of aging matures. *Physiol Rev* 1998; 78: 547-581.
 43. Farber JL. Mechanisms of cell injury by activated oxygen species. *Environmental Health Perspectives* 1994; 102(10): 17-24.
 44. Marnett L. Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde. *Mutation Research* 1999; 424: 83-95.
 45. Marnett L. Oxy radicals, lipid peroxidation and DNA damage. *Toxicology* 2002; 181-182: 219-222.
 46. Sabitha KE, Shyamaladevi CS. Oxidant and antioxidant activity changes in patients with oral cancer and treated with radiotherapy. *Oral Oncology* 1999; 35: 273-277.

47. Feng Z, Hu W, Marnett LJ, Tang M. Malondialdehyde, a major endogenous lipid peroxidation product, sensitizes human cells to UV- and BPDE-induced killing and mutagenesis through inhibition of nucleotide excision repair. *Mutation Research* 2006; 601: 125-136.
48. Suji G, Sivakami S. Malondialdehyde, a lipid-derived aldehyde alters the reactivity of Cys34 and the esterase activity of serum albumin. *Toxicology in Vitro* 2008; 22: 618-624.
49. Spiteller G. Lipid peroxidation in aging and age-dependent diseases. *Experimental Gerontology* 2001; 36: 1425-1457.
50. Kavas (Özelçi) G. Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri. *Türkiye Klinikleri* 1989; 9(1): 1-8.
51. Serdar Z, Aslan K, Dirican M, Sarandöl E, Yeşilbursa D, et al. Lipid and protein oxidation and antioxidant status in patients with angiographically proven coronary artery disease. *Clinical Biochemistry* 2006; 39: 794-803.
52. Kelvin JA, Davies ve Marta E. Delsignore. Protein damage and degradation by oxygen radicals III. Modification of secondary and tertiary structure. *JBC* 1987; 20: 9908-9913.
53. Dubinina EE, Gavrovskaya SV, Kuzmich V, Leonova NV, Morozova MG, Kovrugina SV, Smirnova TA, et al. Oxidative modification of proteins: Oxidation of tryptophan and production of dityrosine in purified proteins using Fenton's system. *Biochemistry (Moscow)* 2002; 67: 413-421.
54. Berlett BS, Stadtman ER. Protein oxidation in aging, disease and oxidative stress. *JBC* 1997; 33: 20313-20316.
55. Stadtman ER, Levine RL. Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. *Amino Acids* 2003; 25: 207-218.
56. Levine RL. Carbonyl modified proteins in cellular regulation, aging, and disease. *Free Radic Biol & Med* 2002; 32(9): 790-796.

57. Levine RL, Stadtman ER. Oxidative modification of proteins during aging. *Experimental Gerontology* 2001; 36: 1495-1502.
58. Fagan JM, Slecicka BG, Sohar I. Quantitation of oxidative damage to tissue proteins. *IJBCB* 1999; 31: 751-757.
59. Tetik Ş, Fikriye U, Yardımcı T. Protein oxidation: basic view on characterization, detection and consequences. *Adv Mol Med* 2007; 3(2): 63-67.
60. Grune T, Reinheckel T, Davies KJA. Degradation of oxidized proteins in mammalian cells. *FASEB J* 1997; 11: 526-534.
61. Headlam HA, Davies MJ. Beta-Scission of side-chain alkoxyl radicals on peptides and proteins results in the loss of side-chains as aldehydes and ketones. *Free Radic Biol & Med* 2002; 32(11): 1171-1184.
62. Dean RT, Shanlin FU, Stocker R, Davies MJ. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochem J* 1997; 324: 1-18.
63. Shringarpure R, Davies KJA. Protein turnover by the proteasome in aging and disease. *Free Radic Biol & Med* 2002; 32(11): 1084-1089.
64. Stadtman ER. Protein oxidation and aging. *Free Radical Research* 2006; 40(12): 1250-1258.
65. Stadtman ER, Oliver CN. Metal-catalyzed oxidation of proteins: Physiological consequences. *JBC* 1991; 266(4): 2005-2008.
66. Stadtman ER. Protein Modification in Aging. *Journal of Gerontology: Biological Sciences* 1988; 43: 112-120.
67. Adams S, Green P, Claxton R, Simcox S, Williams MV, et al. Reactive carbonyl formation by oxidative and non-oxidative pathways. *Front Biosci* 2001; 6: 17-24.
68. Reznick AZ, Packer L. Oxidative damage to proteins: Spectrophotometric method for carbonyl assay. *Methods in enzymology* 1994; 233: 357-363.

69. Griffiths HR. The influence of diet on protein oxidation. *Nutrition Research Reviews* 2002; 15: 3-17.
70. Spiteller G. Peroxyl radicals: Inductors of neurodegenerative and other inflammatory diseases. Their origin and how they transform cholesterol, phospholipids, plasmalogens, polyunsaturated fatty acids, sugars, and proteins into deleterious products. *Free Radic Biol & Med* 2006; 41: 362-387.
71. Dalle-Donne I, Rossi R, Giustarini D, Gagliano N, Lusini L, Milzani A, Simplicio PD, Colombo R, et al. Actin carbonylation: from a simple marker of protein oxidation to relevant signs of severe functional impairment. *Free Radic Biol & Med* 2001; 31(9): 1075-1083.
72. Rees MD, Kennett EC, Whitelock JM, Davies MJ. Oxidative damage to extracellular matrix and its role in human pathologies. *Free Radic Biol & Med* 2008; 44: 1973-2001.
73. Davies MJ, Truscott RJW. Photo-oxidation of proteins and its role in cataractogenesis. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 2001; 63: 114-125.
74. Davies MJ, Fu S, Wang H, Dean RT. Stable markers of oxidant damage to proteins and their application in the study of human disease. *Free Radic Biol & Med* 1999; 27:1151-1163.
75. Franco L, Doria D, Bertazzoni E, Benini A, Bassi C. Increased expression of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in pancreatic cancer. *Prostaglandins & other Lipid Mediators* 2004; 73: 51-58.
76. Adegate E, Parvez SH. Nitric oxide and neuronal and pancreatic beta cell death. *Toxicology* 2000; 153: 143-156.
77. Chakravarti B, Chakravarti Deb N. Oxidative modification of proteins: age-related changes. *Gerontology* 2007; 53: 128-139.
78. Beal MF. Oxidatively modified proteins in aging and disease. *Free Radic Biol & Med* 2002; 32(9): 797-803.

79. Markesbery WR. Protein oxidation in the brain in Alzheimer's disease. *Neuroscience* 2001; 103(2) : 373-383.
80. Nyström T. Role of oxidative carbonylation in protein quality control and senescence. *The EMBO Journal* 2005; 24: 1311-1317.
81. Dalle-Donne I, Giustarini D, Colombo R, Rossi R, Milzani A, et al. Protein carbonylation in human diseases. *Trends in Molecular Medicine* 2003; 9(4): 169-176.
82. Dalle-Donne I, Giustarini D, Colombo R, Rossi R, Milzani A, et al. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clinica Chimica Acta* 2003; 329:23-38.
83. Çakatay U, Telci A, Kayalı R, Tekeli F, et al. Relation of oxidative protein damage and nitrotyrosine levels in the aging rat brain. *Experimental Gerontology* 2001; 36: 221-229.
84. Telci A, Çakatay U, Salman S, Satman İ, et al. Oxidative protein damage in early stage Type 1 diabetic patients. *Diabetes Research and Clinical Practice* 2000; 50: 213-223.
85. Çakatay U, Telci A, Kayalı R, Tekeli F, et al. Relation of aging with oxidative protein damage parameters in the rat skeletal muscle. *Clinical Biochemistry* 2003; 36: 51-55.
86. Dalle-Donne I, Giustarini D, Colombo R, Rossi R, Milzani A, et al. Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clinical Chemistry* 2006; 52(4): 1-23.
87. Niki E. Lipid peroxidation: Physiological levels and dual biological effects. *Free Radic Biol & Med* 2009; 47: 469-484.
88. Choi J, Sullards MC, Olzman JA, Rees HD, Weintraub ST, Bostwick DE, et al. Oxidative damage of DJ-1 is linked to sporadic Parkinson and Alzheimer diseases. *JBC* 2006; 281(16): 10816-10824.
89. Levine RL, Garland D, Oliver CN, Amici A, Climent I, et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods in Enzymology* 1990; 186: 464-478.

90. Chevion M, Berenshtein E, Stadtman ER. Human studies related to protein oxidation: protein carbonyl content as a marker of damage. *Free Radic Res* 2000; 33: 99-108.
91. Çakatay U. Protein oxidation parameters in type 2 diabetic patients with good and poor glycaemic control. *Diabetes Metab* 2005; 31: 551-557.
92. Butterfield DA, Koppal T, Howard B, Subramaniam R, Hall N, et al. Structural and functional changes in proteins induced by free radical-mediated oxidative stress and protective action of the antioxidants N-tert-Butyl- α -phenylnitron and vitamin E. *Annals NY Academy of Sciences* 1998; 854: 448-462.
93. Levine RL, Williams JA, Stadtman ER, Shacter E. Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins. *Methods in enzymology* 1994; 233: 346-357.
94. Buss H, Chan TP, Sluis KB, et al. Protein carbonyl measurement by a sensitive ELISA method. *Free Radic Biol & Med* 1997; 23(3): 361-366.
95. Eaton P. Protein thiol oxidation in health and disease: Techniques for measuring disulfides and related modifications in complex protein mixtures. *Free Radic Biol & Med* 2006; 40: 1889-1899.
96. Winterbourn CC, Hampton MB. Thiol chemistry and specificity in redox signaling. *Free Radic Biol & Med* 2008; 45: 549-561.
97. Çakatay U, Telci A, Kayali R, Sivas A, Akçay T. Effect of α -lipoic acid supplementation on oxidative protein damage in the streptozotocin-diabetic rat. *Res Exp Med* 2000; 199: 243-251.
98. Shi X, Rojanasakul Y, Gannet P, Liu K, Mao Y, Daniel LN, et al. Generation of thiyl and ascorbyl radicals in the reaction of peroxynitrite with thiols and ascorbate at physiological pH. *Journal of Inorganic Biochemistry* 1994; 56: 77-86.

99. Biswas S, Chida SA, Rahman I. Redox modifications of protein-thiols: Emerging roles in cell signalling. *Biochemical Pharmacology* 2006; 71: 551-564.
100. Himmelfarb J, Monagle E. Albumin is the major plasma protein target of oxidant stress in uremia. *Kidney International* 2001; 60: 358-363.
101. Chavko M, Auker CR, McCarron RM. Relationship between protein nitration and oxidation and development of hyperoxic seizures. *Nitric Oxide* 2003; 9: 18-23.
102. Khan J, Brennan DM, Bradley N, Gao B, Bruckdorfer R, Jacobs M, et al. 3-Nitrotyrosine in the proteins of human plasma determined by an ELISA method. *Biochem J* 1998; 330: 795-801.
103. Fakhrzadeh L, Laskin JD, Laskin DL. Deficiency in inducible nitric oxide synthase protects mice from ozone-induced lung inflammation and tissue injury. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2002; 26: 413-419.
104. Kaur H, Halliwell B. Evidence for nitric oxide-mediated oxidative damage in chronic inflammation Nitrotyrosine in serum and synovial fluid from rheumatoid patients. *FEBS Letters* 1994; 350: 9-12.
105. Halliwell B, Cross CE. Oxygen-derived species: Their relation to human disease and environmental stress. *Environmental Health Perspectives* 1994; 102(10): 5-12.
106. Gow AJ, Duran D, Malcolm S, Ischiropoulos H. Effects of peroxynitrite-induced protein modifications on tyrosine phosphorylation and degradation. *FEBS Letters* 1996; 385: 63-66.
107. Skinner KA, Crow JP, Skinner HB, Chandler RT, Thompson JA, Parks DA, et al. Free and protein-associated nitrotyrosine formation following rat liver preservation and transplantation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 1997; 342(2): 282-288.
108. Squadrito GL, Pryor WA. Oxidative chemistry of nitric oxide: The roles of superoxide, peroxynitrite and carbon dioxide. *Free Radic Biol & Med* 1998; 25: 392-403.

109. Koppenol WH. The basic chemistry of nitrogen monoxide and peroxynitrite. *Free Radic Biol & Med* 1998; 25: 385-391.
110. Petruzzelli S, Puntoni R, Mimotti P, Pulera N, Baliva F, et al. Plasma 3-nitrotyrosine in cigarette smokers. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 1902-1907.
111. Ischiropoulos H. Biological selectivity and functional aspects of protein tyrosine nitration. *BBRC* 2003; 305: 776-783.
112. Brennan ML, Hazen SL. Amino acids and protein oxidation in cardiovascular disease. *Amino Acids* 2003; 25: 365-374.
113. Leeuwenburgh C, Hansen PA, Holloszy JO, Heinecke JW, et al. Hydroxyl radical generation during exercise increases mitochondrial protein oxidation and levels of urinary dityrosine. *Free Radic Biol & Med* 1999; 27: 186-192.
114. Heinecke JW. Mass spectrometric quantification of amino acid oxidation products in proteins: insights into pathways that promote LDL oxidation in the human artery wall. *FASEB J* 1999; 13: 1113-1120.
115. Heinecke JW. Mechanisms of oxidative damage by myeloperoxidase in atherosclerosis and other inflammatory disorders. *J Lab Clin Med* 1999; 133: 321-5.
116. Heinecke JW, Li W, Daehnke HL, Goldstein JA, et al. Dityrosine, a specific marker of oxidation, is synthesized by the myeloperoxidase-hydrogen peroxide system of human neutrophils and macrophages. *JBC* 1993; 268(6): 4069-4077.
117. Lipinski B. Pathophysiology of oxidative stress in diabetes mellitus. *Journal of Diabetes and Its Complications* 2001; 15: 203-210.
118. Uchida K. Histidine and lysine as targets of oxidative modification. *Amino Acid* 2003; 25: 249-257.
119. Stadtman ER. Importance of individuality in oxidative stress and aging. *Free Radic Biol & Med* 2002; 33(5): 597-604.
120. Sohal RS. Role of oxidative stress and protein oxidation in the aging process. *Free Radic Biol & Med* 2002; 33(1): 37-44.

121. Balasubramanian D, Du X, Zigler Jr JS. The reaction of singlet oxygen with proteins, with special reference to crystallins. *Photochem Photobiol* 1990; 52(4): 761-768.
122. Mayne ST. Antioxidant nutrients and chronic disease: Use of biomarkers of exposure and oxidative stress status in epidemiologic research. *J Nutr* 2003; 133: 933-940.
123. Thompson HJ. DNA Oxidation products, antioxidant status and cancer prevention. *J Nutr* 2004; 134: 3186-3187.
124. Floyd RA. Role of oxygen free radicals in carcinogenesis and brain ischemia. *FASEB J* 1990; 4: 2587-2597.
125. Toyokuni S. Molecular mechanisms of oxidative stress-induced carcinogenesis: from epidemiology to oxygenomics. *IUBMB Life* 2008; 60(7): 441-447.
126. Guyton KZ, Kensler TW. Oxidative mechanisms in carcinogenesis. *British Medical Bulletin* 1993; 49: 523-544.
127. Trol W, Wiesner R. The role of oxygen radicals as a possible mechanism of tumor promotion. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1985; 25: 509-28.
128. Fiaschi AI, Cerratani D, Micheli L, Roviello F. Family history and gastric carcinoma: the role of glutathione peroxidase. *Curr Ther Res Clin Exp* 2000; 61: 807-816.
129. Sun Y. Free radicals, antioxidant enzymes and carcinogenesis. *Free Rad Biol & Med* 1990; 8(6): 583-599.
130. Özkan A, Fışkın K. Free oxygen radicals, carcinogenesis and antioxidant enzymes. *International Journal of Hematology and Oncology* 2004; 14(1): 52-60.
131. Lala PK, Chakraborty C. Role of nitric oxide in carcinogenesis and tumour progression. *Lancet Oncol* 2001; 3: 149–56.
132. Valko M, Izakovic M, Mazur M, Rhodes CJ, Telser J, et al. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and Cellular Biochemistry* 2004; 266: 37-56.

133. Farrow B, Evers BM. Inflammation and the development of pancreatic cancer. *Surgical Oncology* 2002; 10: 153-169.
134. Toyokuni S, MD Ph D. Oxidative stress and cancer: The role of redox regulation. *Biotherapy* 1998; 11: 147-154.
135. Toyokuni S, Okamoto K, Yodoi J, Hiai H, et al. Persistent oxidative stress in cancer. *FEBS Letters* 1995; 358: 1-3.
136. Grizzi F, Chiriva-Internati M. Cancer: looking for simplicity and finding complexity *Cancer Cell Int* 2006; 6:4.
137. Grizzi F, Russo C, Frezza EE, Cobos E, Muzzio PC, et al. Cancer initiation and progression: an unsimplifiable complexity. *Theor Biol Med Model* 2006; 3:37.
138. Wogan GN, Hecht SS, Felton JS, Conney AH, Loeb LA, et al. Environmental and chemical carcinogenesis. *Seminars in Cancer Biology* 2004; 14: 473-486.
139. Couch DB. Carcinogenesis: Basic principles. *Drug and Chemical Toxicology* 1996; 19(3): 133-148.
140. Barrett JC, Shelby MD. Mechanisms of human carcinogenesis. *Prog Clin Biol Res* 1992; 374: 415-34.
141. Olinski R, Gackowski D, Rozalski R, Foksinski M, Bialkowski K. Oxidative DNA damage in cancer patients: a cause or a consequence of the disease development? *Mutation Research* 2003; 531: 177-190.
142. Sadikovic B, Al-Romaid K, Squire JA, Zielenska M. Cause and consequences of genetic and epigenetic alterations in human cancer. *Current Genomics* 2008; 9(6): 394-408.
143. Lynch J, Rustgi AK. Mechanisms of gastrointestinal malignancies. *Physiology of the Gastrointestinal Tract* 2006; 477-498.
144. Vincent TL, Gatenby RA. An evolutionary model for initiation, promotion, and progression in carcinogenesis. *International Journal of Oncology* 2008; 32: 729-737.
145. Barrett C. Mechanisms of multistep carcinogenesis and carcinogen risk assessment. *Environmental Health Perspectives* 1993; 100: 9-20.

146. Klaunig JE, Xu Y, Isenberg JS, Bachowski S, Kolaja KL, Jiang J, et al. The role of oxidative stress in chemical carcinogenesis. *Environmental Health Perspectives* 1998; 106:289-295.
147. Pitot HC, Dragan YP. Facts and theories concerning the mechanisms of carcinogenesis. *FASEB J* 1991; 5: 2280-2286.
148. Miller EC, Miller JA. Mechanisms of chemical carcinogenesis. *Cancer* 1981; 47: 1055-1064.
149. Oberley TD. Oxidative damage and cancer. *American Journal of Pathology* 2002; 160(2): 403-408.
150. Weitzman SA, Gordon LI. Inflammation and cancer: Role of phagocyte-generated oxidants in carcinogenesis. *Blood* 1990; 76(4): 655-663.
151. Hennings H, Glick AB, Greenhalgh DA, Morgan DL, Strickland JE, et al. Critical aspects of initiation, promotion, and progression in multistage epidermal carcinogenesis. *Proc Soc Exp Biol Med* 1993; 202(1): 1-8.
152. Weinstein IB. The origins of human cancer: Molecular mechanisms of carcinogenesis and their implications for cancer prevention and treatment. *Cancer Research* 1988; 48: 4135-4143.
153. Pitot HC, Hikita H, Dragan Y, Sargent L, Haas M, et al. The stages of gastrointestinal carcinogenesis-applications of rodent models to human disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 14: 153-160.
154. Gronbek K, Hother C, Jones PA. Epigenetic changes in cancer. *APMIS* 2007; 115: 1039-1059.
155. Kreeger PK, Lauffenburger DA. Cancer systems biology: A network modeling perspective 2009; 31: 1-26.
156. Selaru FM, MD SD, Meltzer SJ, Hamilton JP. Epigenetic events in gastrointestinal cancer. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 1910-1912.
157. Kristensen LS, Nielsen HM, Hansen LL. Epigenetics and cancer treatment. *European Journal of Pharmacology* 2009; 625: 131-142.

158. Kovvali G, Shiff S, Telang N, Das K, Kohgo Y, Narayan S, Honghua Li, et al. Carcinogenesis: The more we seek to know the more we need to know- Challenges in the post Genomic Era. *Journal of Carcinogenesis* 2003; 2: 1-5.
159. Thomas RM, MD, Sobin LH, MD, et al. Gastrointestinal cancer. *Cancer* 1995; 75: 154-70.
160. Heavey PM, Rowland IR. Gastrointestinal cancer. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 2004; 18(2): 323-336.
161. American Cancer Society. Colorectal Cancer Facts & Figures Special Edition 2005. Atlanta: American Cancer Society; 2005.
162. Ribeiro ML, Priolli DG, Miranda DDC, Arçari DP, et al. Analysis of oxidative DNA damage in patients with colorectal cancer. *Clin Colorectal Cancer* 2008; 7(4): 267-272.
163. Winawer SJ. Colorectal cancer screening. *Practice & Research Clinical Gastroenterology* 2007; 21(6): 1031-1048.
164. Toribara NW, MD, D Ph, Sleisenger MH, MD, et al. Screening for colorectal cancer. *The England Journal of Medicine* 1995; 332(13): 861-867.
165. Gryfe R, Swallow C, Bapat B, Redston M, Gallinger S, Couture J, et al. Molecular biology of colorectal cancer. *Curr Probl Cancer* 1997; 21: 233-300.
166. Bond JH, MD. Polyp guideline: Diagnosis, treatment and surveillance for patients with colorectal polyps. *AJG* 2000; 95(11): 3053-3063.
167. Garcea G, Sharma RA, Dennison A, Steward WP, et al. Molecular biomarkers of colorectal carcinogenesis and their role in surveillance and early intervention. *European Journal of Cancer* 2003; 39: 1041-1052.
168. Cutsem EV, Velde C, Roth A, Lordick F, Cascinu S, Aapro M, et al. Expert opinion on management of gastric and gastro-oesophageal junction adenocarcinoma on behalf of the European Organisation for

Research and Treatment of Cancer (EORTC) – gastrointestinal cancer group. EJC 2008; 44:182-194.

169. Verdecchia A, Mariotto A, Gatta G, Bustamante-Teixeira MT, Ajiki W, et al. Comparison of stomach cancer incidence and survival in four continents. EJC 2003; 39: 1603-1609.

170. Hartgrink HH, Jansen EPM, et al. Gastric cancer. The Lancet 2009; 374: 477-490.

171. Liu W, Liu B, Xin L, Zhang Y, Chen X, et al. Down-regulated expression of complement factor I: A potential suppressive protein for gastric cancer identified by serum proteome analysis. Clinica Chimica Acta 2007; 377: 119-126.

172. Thelen A, Jonas S, Benckert C, Lopez-Hänninen E, Neumann U, Rudolph B, Schumacher G, Neuhaus P, et al. Liver resection for metastatic gastric cancer. EJSO 2008; 34: 1328-1334.

173. Hohenberger P, Gretscher S. Gastric cancer. Lancet 2003; 362: 305-15.

174. Roder DM. The epidemiology of gastric cancer. Gastric Cancer 2002; 5(1): 5-11.

175. Kelley JR, Duggan JM. Gastric cancer epidemiology and risk factors. Journal of Clinical Epidemiology 2003; 56: 1-9.

176. Bowles MJ, Benjamin IS. Cancer of the stomach and pancreas. BMJ 2001; 323: 1413-1416.

177. Kikuchi S. Epidemiology of Helicobacter pylori and gastric cancer. Gastric Cancer 2002; 5: 6-15.

178. Catalano V, Labianca R, Beretta GD, Gatta G, Cutsem EV, et al. Gastric cancer. Critical Reviews in Oncology/Hematology 2009; 71: 127-164.

179. Khanzode SS, Khanzode SD, Dakhale GN. Serum and plasma concentration of oxidant and antioxidants in patients of Helicobacter pylori gastritis and its correlation with gastric cancer. Cancer Lett 2003; 195: 27-31.

180. Siewert JR, Fink U, Sendler A, Becker K, Feldmann HJ, Höfler H, Mueller J, Molls M, Nekarda H, Roder JD, et al. Gastric cancer. *Curr Probl Surg* 1997; 34: 837-928.
181. Hayat MA. Liver carcinoma. *Handbook of immunohistochemistry and in situ Hybridization of Human Carcinomas*. 2005; 3: 131-151
182. Moozar K. Liver cancer. *xPharm: The Comprehensive Pharmacology* 2008; 1-4.
183. McGlynn KA. Epidemiology and natural history of hepatocellular carcinoma. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 2005; 19(1): 3-23.
184. Mendy M, Walton R. Molecular pathogenesis and early detection of hepatocellular carcinoma-Perspectives from West Africa. *Cancer Lett* 2009; 286(1): 44-51.
185. Chuang S, Vecchia C, Boffetta P. Liver cancer: Descriptive epidemiology and risk factors other than HBV and HCV infection. *Cancer Lett*. 2009; 286(1): 9-14.
186. Hayat MA. Pancreatic carcinoma: An introduction. *Handbook of immunohistochemistry and in situ Hybridization of Human Carcinomas*. 2005; 3: 279-304.
187. Brand R, MD. Pancreatic cancer. *Disease-a-Month* 2004; 10: 545-555.
188. Theresa Pluth Yeo, Ralph H. Hruban, Steven D. Leach, Robb E. Wilentz, Taylor A. Sohn, Scott E. Kern, Christine A, et al. Pancreatic Cancer. *Curr Probl Cancer* 2002; 26: 176-275.
189. Ghadirian P, PhD, Lynch HT, Krewski D, PhD. Epidemiology of pancreatic cancer: an overview. *Cancer Detection and Prevention* 2003; 27: 87-93.
190. Sarkar FH, Banerjee S, Li Y. Pancreatic cancer: Pathogenesis, prevention and treatment. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2007; 224: 326-336.

191. Şahin F, Taşpınar M, Sunguroğlu A. Molecular pathogenesis of pancreatic cancer. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2007; 27: 560-566.
192. Gold EB, Goldin SB. Epidemiology of and risk factors for pancreatic cancer. *Surg Oncol Clin N Am* 1998; 7(1): 67-91.
193. Basso D, Greco E, Fogar P, Pucci P, Flagiello A, Baldo G, et al. Pancreatic cancer-derived S-100A8 N-terminal peptide: A diabetes cause? *Clinica Chimica Acta* 2006; 372: 120-128.
194. Han S, Dural K, Sakıncı Ü, Yıldırım E, Ulaşan N, Saygın H, et al. The analysis of the 55 cases operated on for esophagus. *Turkish J Thorac and Cardiovasc Surg* 2000; 8: 709-711.
195. Lightdale CJ, MD. Esophageal cancer. *AJG* 1999; 94(1): 20-29.
196. Sweed MR, Edmonson D, Cohen S. Tumors of the esophagus, gastroesophageal junction and stomach. *Seminars in Oncology Nursing* 2009; 25(1): 61-75.
197. Özçelik MF. Özofagus kanseri: Tanı ve cerrahi tedavi. *Gastrointestinal Sistem Hastalıkları Sempozyumu İstanbul*: 2001. p.241-251.
198. Holmes MD RS, Vaughan MD TL, MPH. Epidemiology and pathogenesis of esophageal cancer. *Seminars in Radiation Oncology* 2007; 17(1): 2-9.
199. Kubo A, Corley DA. Body mass index and adenocarcinomas of the esophagus or gastric cardia: A systematic review and meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006; 15(5): 872-878.
200. Vaughan TL, Davis S, Kristal A, Thomas DB, et al. Obesity, alcohol and tobacco as risk factors for cancers of the esophagus and gastric cardia: Adenocarcinoma versus squamous cell carcinoma. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 1995; 4: 85-92.
201. Pera M, Manterola C, Vidal O, Grande L, et al. Epidemiology of esophageal adenocarcinoma. *Journal of Surgical Oncology* 2005; 92: 151-159.

202. Lagergren J. Etiology and risk factors for oesophageal adenocarcinoma: possibilities for chemoprophylaxis? *Best Practice & Res Clin Gastroenterol* 2006; 20(5): 803-812.
203. Endo T, Sugawara N, Shinomura Y. Carcinogenesis of Barrett's esophagus. *Nippon Rinsho* 2005; 63(8): 1357-1361.
204. Slater TF, Sawyer BC. The stimulatory effects of carbon tetrachloride and other halogenoalkanes on peroxidative reactions in rat liver fractions in vitro. General features of the systems used. *Biochem J* 1971; 123(5): 805-814.
205. Skrzydlewska E, Sulkowski S, Koda M, Zalewski B, et al. Lipid peroxidation and antioxidant status in colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2005; 11(3): 403-406.
206. Cieczot H, Scibior D, Skrzycki M, Podsiad M. Antioxidant barrier in patients with gastric cancer. *Pol Merkur Lekarski* 2005; 19(112): 521-525.
207. Levy RD, Oosthuizen MM, Degiannis E, Lambrechts H. Elevated reversible and irreversible lipid peroxidation in human oesophageal cancer. *Anticancer Res* 1998; 18(2B): 1325-1328.
208. Dursun H, Bilici M, Uyanik A, et al. Antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels in erythrocytes of patients with oesophageal and gastric cancer. *The Journal of Int Med Res* 2006; 34: 193-199.
209. Choi MA, Kim BS, Yu R. Serum antioxidative vitamin levels and lipid peroxidation in gastric carcinoma patients. *Cancer Lett* 1999; 136(1): 89-93.
210. Chang D, Wang F, Zhao Y, Pan H. Evaluation of oxidative stress in colorectal cancer patients. *Biomedical and Environmental Sciences* 2008; 21: 286-289.
211. Mahdavi R, Faramarzi E, Seyedrezazadeh E, et al. Evaluation of oxidative stress, antioxidant status and serum vitamin C levels. *Biol Trace Elem Res* 2009; 130(1): 1-6.

212. Chandramathi S, Suresh K, Anita ZB, Kuppusamy UR. Comparative assessment of urinary oxidative indices in breast and colorectal cancer patients. *J Cancer Res Clin Oncol* 2009;135: 319-323.
213. Torun M, Yardım S, Gönenç A, Sargın H, Menevşe A, Şimşek B. Serum beta-carotene, vitamin E, vitamin C and malondialdehyde levels in several types of cancer. *J Clin Pharm Ther* 1995; 20(5): 259-263.
214. Türkdoğan MK, Şekeroğlu R, Hekim H, Avcı E. Lipid peroxidation and upper gastrointestinal cancers. *Eastern Journal of Medicine* 1998; 3(2): 39-42.
215. Bakan E, Taysi S, Polat MF, Dalga S, Umudum Z, et al. Nitric oxide levels and lipid peroxidation in plasma of patients with gastric cancer. *Jpn J Clin Oncol* 2002; 32(5): 162-166.
216. Batcıoğlu K, Öztürk Ç, Yılmaz M, Erguvan R, Uyumlu B, et al. Lipid peroxidation and antioxidant status in stomach cancer. *Cancer Investigations* 2006; 24: 18-21.
217. Karakani MA, Khansari MG, Sotoudeh M, Malekzadeh R. Determination of urinary lipid peroxidation and nitric oxide levels in patients with upper gastrointestinal cancers in Iran. *Toxicology Letters* 2008; 180: 32-246.
218. Hazar B, Polat G, Bagdatoglu O, Seyrek E, et al. The role fibronectin and nitric oxide (NO) in gastrointestinal cancers. *Hepatogastroenterology* 2005; 52(61): 119-122.
219. Szaleczky E, Nakazawa H, Tulassay Z, et al. Evidence of in vivo peroxynitrite formation in patients with colorectal carcinoma, higher plasma nitrate/nitrite levels, and lower protection against oxygen free radicals. *Journal of Clinical Gastroenterology* 2000; 30(1): 47-51.
220. Dinçer Y, Akçay T, Tortum OB, Dogusoy G. Nitric oxide and antioxidant defense in patients with gastric cancer. *Dig Dis Sci* 2006; 51: 1367-1370.

221. Zhang T, Zhang F, Jiang T, Li XF, et al. Serum levels of VEGF and nitric oxide in esophageal squamous carcinoma patients and the clinical significance. *Ai Zheng* 2002; 21(11): 1248-1250.
222. Moriyama A, Tabaru A, Unoki H, et al. Plasma nitrite/nitrate concentrations as a tumor marker for hepatocellular carcinoma. *Clinica Chimica Acta* 2000; 296: 181-191.
223. Haklar G, Sayin-Özveri E, Yüksel M, et al. Different kinds of reactive oxygen and nitrogen species were detected in colon and breast tumors. *Cancer Lett* 2001; 165: 219-224.
224. Notas G, Xidakis C, Valatas V, et al. Levels of circulating endothelin-1 and nitrates/nitrites in patients with virus-related hepatocellular carcinoma. *J Viral Hepat* 2001; 8(1): 63-69.
225. Eroğlu A, Demirci S, Ayyıldız A, Kocaoğlu H, et al. Serum concentrations of vascular endothelial growth factor and nitrite as an estimate of in vivo nitric oxide in patients with gastric cancer. *British Journal of Cancer* 1999; 80(10): 1630-1634.
226. Vaninetti NM, Geldenhuys L, Porter GA, Risch H, et al. Inducible nitric oxide synthase, nitrotyrosine and p53 mutations in the molecular pathogenesis of Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma. *Mol Carcinog* 2008; 47(4): 275-85.
227. Sepehr A, Martel-Planche G, Zia'ee AA, Kamangar F, Saidi F, et al. Distinct pattern of TP53 mutations in squamous cell carcinoma of the esophagus in Iran. *Oncogene* 2001; 20(50): 7368-74.
228. Kondo S, Toyokuni S, Iwasa Y, Tanaka T, et al. Persistent oxidative stress in human colorectal carcinoma, but not in adenoma. *Free Radic Biol & Med* 1999; 27: 401-410.
229. Pignatelli B, Li CQ, Boffetta P, Chen Q, Ahrens W, et al. Nitrated and oxidized plasma proteins in smokers and lung cancer patients. *Cancer Res* 2001; 61(2): 778-784.

230. Kato H, Miyazaki T, Yoshikawa M, Nakajima M, et al. Nitrotyrosine in esophageal squamous cell carcinoma and relevance to p53 expression. *Cancer Lett* 2000; 153: 121-127.
231. Bancel B, Toyokuni S, Ohshima H, Pignatelli B, et al. Differences in oxidative stress dependence between gastric adenocarcinoma subtypes. *World J Gastroenterol* 2006; 12(7): 1005-1012.

Çalışmalarımın her aşamasında bilgisinden ve deneyimlerinden yararlandığım değerli tez hocam, Yrd. Doç. Dr. Aysun Hacışevki'ye gösterdiği özveri ve anlayışından dolayı ve eğitimim boyunca her konuda yardım ve desteklerini gördüğüm tüm Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyelerine teşekkür ederim.

Bu yolda beni destekleyen, yüreklendiren, sevgi ve ilgilerini esirgemeyen değerli aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

BAŞHEKİMLİĞİ SAĞLIK BAKANLIĞI
Dr.ABDURRAHMAN YURTASLAN ANKARA ONKOLOJİ EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
İLAÇ ARAŞTIRMALARI YEREL ETİK KURULU
ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	
	PROTOKOL ADI	"Gastrointestinal Kanserli Hastalarda Antioksidan Düzeylerin İncelenmesi"
	SORUMLU ARAŞTIRICI ÜNVANI/ADI	Op. Dr. Sabahattin ASLAN
	ARAŞTIRMA MERKEZİ	Dr. Abdurrahman Yurtaslan AOEAH 1. Genel Cerrahi Kliniği
	DESTEKLEYİCİ FİRMA	
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER VE FAZ	x Tek Ulusal Çok Merkez Faz Ulusal Uluslar arası

DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	BELGE ADI	TARİH	DEĞİŞİKLİK NO.SU	DİLİ
	Bilgilendirilmiş Olur Formu			☒ Türkçe ☐ İngilizce
				☐ Türkçe ☐ İngilizce
				☐ Türkçe ☐ İngilizce

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 162	Tarih: 25.06.2009
	Hastanemiz 1. Genel Cerrahi Kliniğinde Op. Dr. Sabahattin ASLAN sorumluluğunda yürütülmesi planlanan ve yukarıda bilgileri verilen çalışmaya ait Yerel Etik Kurulumuzun 30.04.2009 tarih 130 nolu kararı gereği yeniden düzenlenen bilgilendirilmiş olur formu incelenmiş ve etik yönden uygun bulunmuştur.	

ETİK KURUL BİLGİLERİ	
ÇALIŞMA ESASLARI	İlaç araştırmaları hakkında yönetmelik, Helsinki bildirgesi, iyi klinik uygulamalar kılavuzu, KOU insan araştırmaları etik kurul yönergesi

ÜYELER					
Ünvanı/Adı/Soyadı Ek Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	Katılım	İmza
Doç. Dr. Nurullah ZENGİN BAŞKAN	Başhekim (Tıbbi Onk.)	Ankara Onkoloji Hastanesi		☒ Evet ☐ Hayır	
Prof. Dr. B.Şafak GÜNGÖR Üye	Ortop.ve Trav.	Ankara Onkoloji Hastanesi		☒ Evet ☐ Hayır	
Uz. Dr. Aygül ULUOCAK Üye	Biyokimya	Ankara Onkoloji Hastanesi	K	☒ Evet ☐ Hayır	
Doç. Dr. Fevzi ALTUNTAŞ Üye	Hematoloji	Ankara Onkoloji Hastanesi		☐ Evet ☐ Hayır	
Uz. Dr. Süleyman DEMİR Üye	Patoloji	Ankara Onkoloji Hastanesi		☒ Evet ☐ Hayır	
Doç. Dr. M. Can ATALAY Üye	Genel Cerrahi	Ankara Onkoloji Hastanesi	E	☒ Evet ☐ Hayır	
Uz. Dr. Ekmel OLCAY Üye	Farmakoloji	Refik Saydam Hıfzısıhha Merk.		☒ Evet ☐ Hayır	
Fatma MERİÇ Üye	Eczacı	Ankara Onkoloji Hastanesi	K	☒ Evet ☐ Hayır	

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı: Burcu

Soyadı: Baba

Doğum Yeri ve Tarihi: HATAY-1983

Eğitimi

2007- Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yüksek Lisans

2001-2006 Ege Üniversitesi Biyokimya Bölümü

1994-2001 İbni Sina Anadolu Lisesi

1990-1994 Namık Kemal İlkokulu

Yabancı Dili: İngilizce