

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

KEMOTERAPİYE İKİNCİL NÖTROPENİK HASTALARDA
OKSİDATİF STRES VE ANTİOKSİDAN PARAMETRELERİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Ali GÜREL

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Emin Tamer ELKIRAN

ELAZIĞ

2010

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. İrfan ORHAN

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Emir DÖNDER

İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Emin Tamer Elkıran

Danışman

Uzmanlık Sınavı Jüri Üyeleri

.....

.....

.....

.....

.....

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim sürecinde, eğitimime katkıları olan başta Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Emir Dönder olmak üzere tüm değerli İç Hastalıkları öğretim üyelerine ve bu tezin oluşmasında önemli katkısı olan tez danışmanım Doç. Dr. Emin Tamer Elkıran'a ve Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Bilal Üstündađ' a teşekkür ederim.

Yine, uzmanlık eğitimi aldığım İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda çalışan araştırma görevlisi, hemşire, personel arkadaşlarıma ve uzmanlık eğitimimin başından bitimine kadar sabırla desteklerini esirgemeyen çok kıymetli aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez, Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (FÜBAP) Yönetim Birimi Başkanlığı tarafından 1925 numaralı proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
DEKANLIK ONAYI	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
TABLO LİSTESİ	viii
ŞEKİL LİSTESİ	ix
KISALTMALAR LİSTESİ	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Nötropeni ve Kemoterapiye İkincil Nötropeni	2
1.2. Koloni Stimüle Edici Faktörler	4
1.3. Serbest Oksijen Radikalleri	6
1.3.1. Oksidatif Stres	8
1.3.2. Serbest Oksijen Radikallerinin Etki Mekanizmaları	8
1.3.2.1. Lipit Peroksidasyonu	9
1.3.3. Nötropenik Hastalarda Oksidatif Stres	9
1.3.4. Serbest Oksijen Radikalleri ve Koloni Uyarıcı Faktör İlişkisi	11
1.3.5. Malondialdehid.....	11
1.4. Antioksidan Savunma Sistemleri	12
1.5. Paraoksonaz/Aril Esteraz.....	14
1.5.1. Genetik ve polimorfizm	15
1.5.2. Yapı ve İşlev	15
1.5.3. Çeşitli Hastalıklarda Paraoksonaz Aktivitesi	16
1.6. Alkalen Fosfataz	16
1.7. Laktat Dehidrogenaz	17
2. GEREÇ VE YÖNTEM	19
2.1. Çalışma Grupları	19
2.2. Serum PON1 Aktivitesi Tayini.....	20
2.2.1. Deneyin Yapılışı.....	20
2.3. Serum ARE Aktivitesi Tayini.....	20

2.3.1. Deneyin Yapılışı.....	21
2.4. Serum MDA düzeyi tayini.....	21
2.5. Serum LDH düzeyi tayini.....	22
2.6. Serum ALP düzeyi tayini	22
2.7. Serum HDL düzeyi tayini.....	22
2.8. İstatistiksel Analiz	22
3. BULGULAR.....	23
4. KORELASYON BULGULARI.....	25
6. KAYNAKLAR	30
7. ÖZGEÇMİŞ	47

ÖZET

Bu çalışmada kemoterapiye ikincil nötropenik hastalarda nötropenik dönem ve filgrastim uygulaması ile nötropenin düzeldiği dönemde oksidatif stres (malondialdehid (MDA)) ve antioksidan (paraoksonaz (PON1) , aril esteraz (ARE)) parametrelerin değerlendirilmesi amaçlandı.

Fırat Üniversitesi Hastanesi Tıbbi Onkoloji Kliniği'nde takip edilen kemoterapi sonrası nötropeni gelişen 18 yaş ve üzeri olgular çalışmaya alındı. Çalışmaya alınan olgulardan nötropenik dönem ve nötropenin düzeldiği dönemlerde alınan kanlarda hastalığın tanı, takip ve tedavisinde gerekli olabilecek hematolojik ve biyokimyasal parametreler yanında MDA, PON1, ARE, yüksek dansiteli lipoprotein (HDL), laktat dehidrogenaz (LDH) ve alkalen fosfataz (ALP) çalışıldı. Verilerin istatistiksel değerlendirmelerinde *SPSS 12.00* bilgisayar paket istatistik programı (SPSS Inc, Software Chicago, IL, USA) kullanıldı.

Çalışmamızda nötropeni dönemi PON1, ARE, LDH ve HDL düzeyleri, nötropenin düzeldiği dönemdeki düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek ($p<0.05$) bulunurken, nötropeni dönemi MDA ve ALP düzeyleri ise nötropenin düzeldiği dönemdeki düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük ($p<0.05$) bulundu.

Bu çalışmada nötropeni tablosunun düzelmesiyle birlikte SOR'nin arttığı ve antioksidan parametrelerin ise azaldığı saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: Kemoterapiye ikincil nötropeni, oksidatif stress, antioksidan, malondialdehid, paraoksonaz.

ABSTRACT

EVALUATION OF OXIDATIVE STRESS AND ANTIOXIDANT PARAMETERS IN PATIENTS WITH CHEMOTHERAPY INDUCED NEUTROPENIA

We aimed to determine the oxidative stress (malondialdehyde (MDA)) and antioxidant (paraoxonase (PON1), aryl esterase (ARE)) parameters of neutropenic patients due to cancer chemotherapy on the periods of neutropenia and healing from neutropenia by means of filgrastim application .

Patients older than 18 years old with neutropenia secondary to chemotherapy in Firat University Medical Oncology Clinic were included in this study. From the blood samples of patients which were obtained on the determined periods mentioned above, besides the necessary diagnostic tests MDA, PON1, ARE, high density lipoprotein (HDL), lactate dehydrogenase (LDH) and alkaline phosphatase (ALP) were evaluated. For statistical evaluation *SPSS 12.00* computer programme (SPSS Inc., Software Chicago, IL, USA) was used.

In this study we determined that serum levels of PON1, ARE, LDH and HDL in the neutropenic period were statistically significantly higher than healing period ($p < 0.05$) and levels of MDA and ALP in the neutropenic period were statistically significantly lower than healing period ($p < 0.05$).

In conclusion we determined that free oxygen radicals increase and antioxidant parameters decrease on the healing course of neutropenia.

Keywords: Neutropenia secondary to chemotherapy, oxidative stress, antioxidants, malondialdehyde, paraoxonase.

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Nötropenin derecelendirilmesi	3
Tablo 2. Antioksidanların Sınıflandırılması	14
Tablo 3. Serum PON1 aktivitesi ölçümü	20
Tablo 4. Serum ARE aktivitesi ölçümü	21
Tablo 5. MDA, PON1, ARE, HDL, LDH, ALP düzeyleri	23

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Serbest oksijen radikallerinin üretimi.	7
Şekil 2. Dönemler arasında MDA düzeylerindeki değişim	23
Şekil 3. Dönemler arasında PON1 düzeylerindeki değişim	24
Şekil 4. Nötropeni dönemi serum PON1 düzeyi ve nütropenin düzeldiği dönem serum MDA düzeyi arasındaki negatif korelasyon	25

KISALTMALAR LİSTESİ

ALL	: Akut lenfoblastik lösemi
ALP	: Alkalen fosfataz
ANC	: Mutlak nötrofil sayısı
Apo-A1	: Apolipoprotein A1
ARE	: Aril esteraz
ASCO	: Amerikan medikal onkoloji cemiyeti
BAP	: Biyolojik antioksidan potansiyel
CaCl₂	: Kalsiyum klorür
CSF	: Koloni uyarıcı faktör
Cu	: Bakır
dk	: Dakika
dl	: Desilitre
DNA	: Deoksiribonükleik asit
d-ROMs	: Hidroperoksit ölçümüyle reaktif oksijen radikal türevleri
e⁻	: Elektron
EDTA	: Etilen dsentn tetra asetik asit
FN	: Febril nötropeni
G-CSF	: Granülosit koloni uyarıcı faktör
GM-CSF	: Granülosit monosit koloni uyarıcı faktör
H⁺	: Hidrojen
H₂O	: Su
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
HCl	: Hidroklorik asit
HDL	: Yüksek dansiteli lipoprotein
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografi
IL-1	: İnterlökin 1
kDa	: Kilo dalton
Kg	: Kilogram
KLL	: Kronik lenfositik lösemi
l	: Litre
LDH	: Laktat dehidrogenaz

LDL	: Düşük dansiteli lipoprotein
M	: Molar
mcg	: Mikrogram
MDA	: Malondialdehid
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mM	: Milimol(ar)
mm³	: Milimetreküp
Mn	: Manganez
NaCl	: Sodyum klorür
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NK	: Doğal öldürücü
nm	: Nanometre
O₂	: Oksijen
°C	: Santigrad derece
OH⁻	: Hidroksil
PAP	: Plasentaya benzeyen alkalen fosfataz
pH	: Asidite ölçüsü
PLAP	: Plasental alkalen fosfataz
PON1	: Paraoksonaz
rpm	: Dakikadaki dönüş sayısı
SIRS	: Sistemik inflamatuvar cevap sendromu
SOD	: Süperoksid dismutaz
SOR	: Serbest oksijen radikalleri
TNF	: Tümör nekrotizan faktör
U	: Ünite
UV	: Ultra viyole
VLDL	: Çok düşük dansiteli lipoprotein
Zn	: Çinko
µL	: Mikrolitre

1. GİRİŞ

Kanser, organizmanın herhangi bir yerindeki bir hücre grubunun kontrolsüz olarak normal hücrelerden daha hızlı çoğalması, farklılaşmalarının bozulması, çevre dokulara infiltrasyonu ve dolaşıma geçerek vücudun farklı bölgelerine metastazı ile karakterize bir hastalık grubudur (1).

Kanser hücreleri Deoksiribo Nükleik Asit (DNA) hasarlanması sonucu gelişir. DNA hasarlanmaya başlayınca vücut onarmaya çalışır. Ancak kanser hücrelerindeki DNA hasarları onarılamaz (2).

Kanserin olası nedenleri olarak hastalığın hem başlangıcında hem de gelişiminde suçlanan risk faktörleri yanında DNA ve öteki hücrel moleküllerin serbest oksijen radikalleri (SOR) tarafından hasarlanması suçlanmaktadır. Sağlıklı bir organizmada normal metabolizma sırasında da SOR oluşmaktayken; inflamasyon, sigara içimi, bazı ilaçların kullanımı (bleomisin, asetaminofen gibi), nitrojen oksit içeren ekzojen kaynaklara ve radyasyona maruz kalma durumlarında SOR üretimi artmaktadır. Sonuçta SOR lipid ve proteinlerde oksitlenmelere, kanser riskinde artmaya neden olan sinyal transdüksiyon yolunda değişikliklere ve kanserle sonuçlanan mutasyonlara neden olurlar (2, 3). Oksidatif stresin kanserin klinik progresyonunu artırdığı gösterilmiştir (4). Endojen ve ekzojen antioksidanlar, kansere neden olan SOR'ni nötralize ederek veya etkisini engelleyerek kanser gelişimini önleyebilmektedirler (5).

Antioksidanlar normal hücreleri uzun ve kısa dönemde SOR'a bağlı hasarlanmadan korumaktadır (5). Tümör gelişimine yol açan doku hasarında SOR'nin artması yanında antioksidan aktivitenin azalması da önemli rol oynamaktadır. Paraoksonaz (PON1), yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) kolesterole bağlı bulunan, 43 kDa ağırlığında karaciğerde ve serumda bulunan lipofilik bir antioksidandır (6). PON1'in antioksidan rolü düşük dansiteli lipoprotein (LDL) kolesterolü oksidasyondan koruyucu etkisine bağlıdır (7). PON1'in yaygın iki fonksiyonel polimorfizmi tespit edilmiştir ve bu polimorfizm serum paraoksonaz aktivitesini etkilemektedir (8, 9).

Kemoterapi ile çeşitli kanser tiplerinde iyileşme, birçoğunda da anlamlı remisyonlar sağlanmıştır (10). Çoğu kanser kemoterapisi rejimi hastaların

hematopoetik sistemleri üzerinde olumsuz etkilere sahiptir. Bu kemik iliği baskılanması anemi ve nötropeni gelişmesine böylelikle hastaların yaşam kalitelerinde düşmeye ve tedavi etkinliğinde azalmaya neden olabilir. Söz konusu anemi ve nötropeni tablolarının hastane bakımı ve tedavi maliyetleri de ciddi boyutlardadır. Nötropeni kemoterapi dozunu azaltmayı yada tedaviyi ertelemeyi gerektiren başlıca neden olup bu durum tedavinin olumlu sonuçlarında azalmaya neden olur. Nötropenik hastalarda febril nötropeni gelişme olasılığı olup bu durum hayatı tehdit eden, genellikle hastaneye başvurmayı ve antibiyotik kullanımını gerektiren, hastanın yaşam kalitesini düşüren onkolojik acil bir durumdur (11).

Bu nedenle kanser tedavilerinin kemik iliğini baskılayıcı etkilerinin önlenmesi yada azaltılması kanser tedavisinin etkinliğini ve hastaların yaşam kalitesini artırmak açısından önemlidir (12).

Filgrastim (rekombinant insan granülosit koloni stimüle edici faktör) kanserli hastalarda kemik iliği baskılayıcı kemoterapilerle ilişkili nötropeni azaltma amaçlı kullanılmaktadır(10) .

Bu çalışmada kemoterapiye ikincil nötropenik hastalarda nötropenik dönem ($ANC < 1000/mm^3$) ve filgrastim uygulaması ile nötropeni tablosunun tamamen ortadan kalktığı dönem ($lökosit sayısı > 10.000/mm^3$)'lerde oksidan (malondialdehid) ve antioksidan (paraoksonaz, aril esteraz) parametrelerin değerlendirilmesi ile oksidan ve antioksidan sistem arasındaki dengenin saptaması amaçlandı.

1.1. Nötropeni ve Kemoterapiye İkincil Nötropeni

Nötropeni sağlıklı bir bireyle karşılaştırıldığında düşük olan mutlak nötrofil sayısıdır. Hematopoez sırasında bir myeloblast promyelosit, myelosit, metamyelosit ve nükleusu olgun nötrofilin lobüle nükleusundan farklı olarak lobsuz olan band hücresine doğru olgunlaşma gösterir. Normalde yalnızca olgun nötrofiller ve band hücreleri periferik kanda görülüp band hücre oranı oldukça azdır. Nötrofiller fagositik hücrelerdir. Bu hücreler konağın inflamasyon ve enfeksiyona yanıtında gerekli olup endotele yapışma, endotelial hücrelerin arasında birleşim noktaları boyunca hareket(diapedez) ve enfeksiyon yada doku hasarı olan bölgeye göçü sağlayan kemotaktik sinyaller sayesinde mikroorganizmaları fagosite edip sindirme özelliğine sahiptirler. Bu durum konağa spesifik olmayan bir koruma sağlamakla

birlikte, nötrofiller monosit ve lenfositlerle beraber spesifik immün yanıt da oluştururlar. Koruyucu nitelikleri yanında nötrofiller aynı zamanda doku onarımı ve yara iyileşmesi için de önemlidirler. Monositler de fagositik hücreler olup esasen dokularda ve özellikle de barsak, karaciğer, akciğer ve dalakta bulunurlar. Monositler nötrofillerle karşılaştırıldığında hem enfeksiyon veya inflamasyon bölgesine daha yavaş göç etmeleri ve hem de düşük bakteri yoketme özellikleri nedeniyle nötropenik hastalarda yalnızca kısmi koruma sağlarlar (13).

Nötrofillerin yarı ömürleri kısa olup dolaşımında 6-10 saat kalırlar. Enfektif yada inflamatuvar uyarılara yanıt olarak yalnızca birkaç saat içinde dolaşımdan enfeksiyon yada doku hasarı bölgesine doğru yer değiştirirler. Nötrofiller ve öncülleri kemik iliği ve dolaşımında farklı gelişim aşamaları ve farklı işlevsel kompartmanlarda bulunurlar. Kemik iliğindeki mitotik kompartmanda myeloid proliferasyon ve olgunlaşma, kemik iliğindeki postmitotik kompartmanda ileri olgunlaşma, depo havuzu ve vasküler kompartmanda ise damar duvarı boyunca birikmiş ve dolaşan nötrofiller yer alır. Kemik iliği havuzundan hareket endojen ve eksojen kortikosteroidlere yanıt olarak, damar duvarındaki havuzdan hareket ise epinefrine yanıt olarak hızla gerçekleşir. Havuzların varlığına karşın kemik iliği üretimi artırmazsa nötrofillerin hızlı tüketimi nötropenin sürmesine neden olur. Lökosit sayısı otomatik analizatörlerle yapılmaktadır. Periferik yayma incelemesi, beklenmedik ciddi nötropeni şeklindeki kan sayımı durumlarında lökosit agregasyon yada aglutinasyonuna bağlı yanıltıcı sonuçları netleştirmek açısından yapılmalıdır (13).

Bakteriyel enfeksiyon gelişimini öngörmeye yardım etmesi nedeniyle nötropenin şiddeti mutlak nötrofil sayısı göz önüne alınarak sınıflandırılır (Tablo 1).

Tablo 1. Nötropenin derecelendirilmesi

Hafif.....	normal limitin altında fakat $>1.0 \times 10^9 / l$
Orta	$0.5-1 \times 10^9 / l$
Ciddi.....	$0.2-0.5 \times 10^9 / l$
Çok ciddi.....	$<0.2 \times 10^9 / l$

Mutlak nötrofil sayısı (ANC)'nın $500/\text{mm}^3$ 'ün altına düştüğü (nötropeni), özellikle de $100/\text{mm}^3$ (ciddi nötropeni) ve altında olup devamlılık gösterdiği durumlarda enfeksiyon eğilimi ciddi şekilde artmaktadır. Nötropeni günümüzde kanser tedavisinde kullanılan myelotoksik kemoterapötiklerin etkisiyle sık rastlan bir durumdur (14).

Nötropenik hastada tek ölçümle $>38.5\text{ }^\circ\text{C}$ veya 24 saat içinde 4 saat aralıklı iki ölçümde $>38\text{ }^\circ\text{C}$ olan ve herhangi bir kan ürünü uygulamasına bağlı olmaksızın ateş yüksekliği febril nötropeni olarak tanımlanır (15).

1.2. Koloni Stimüle Edici Faktörler

İnsan organizmasında olgun kan hücrelerinin üretimi koloni uyarıcı faktör (CSF) olarak bilinen bir molekül ailesi tarafından uyarılır. CSF'ler pluripotent kök hücreden granülositik-makrofaj, eritrositik ve trombopoetik bölünme ve proliferasyon yollarındaki farklı olgunlaşma basamaklarından sorumludur. Rekombinant DNA teknolojilerinin yaygın kullanımı CSF'leri kodlayan genlerin izolasyonuna ve bu proteinlerin büyük miktarlarda üretimine olanak sağlamıştır (16). Klinik kullanıma uygun başlıca CSF'ler granülosit makrofaj koloni stimüle edici faktör (GM-CSF), granülosit koloni stimüle edici faktör (G-CSF), makrofaj koloni stimüle edici faktör ve interlökin-3'tür.

Hem invitro hem de in vivo olarak G-CSF ve GM-CSF myeloid progenitör hücreler üzerine güçlü stimüle edici etkiye sahiptir. G-CSF'ün granülositik yolk progenitör hücrelerine olan etkisi sınırlıyken GM-CSF ise mononükleer progenitörlere de etkilidir. Sağlıklı gönüllüye G-CSF veya GM-CSF'ün subkutan enjeksiyonundan 8 saat sonra ANC'nda anlamlı yükselme gözlenmiştir. Enjeksiyonlar 72 saat sonra tekrarlanınca hem lökosit sayısı hem de ANC'nda çok yüksek değerler elde edilebilir (17). Rekombinant insan G-CSF'lerinden filgrastim ve lenograstim, rekombinant insan GM-CSF'lerden ise molgramostim lisans almış ve kullanılmaktadır.

Hematopoetik büyüme faktörleri ve sitokinler kemoterapi ile ilişkili kemik iliği baskılanmasının azaltılarak tedavi etkiniliğinin devamı açısından kullanılmaktadır. Sitokinlerin doğru kullanımı tedavilerin kemik iliği baskılayıcı etkilerini en aza indirerek kemoterapilerin optimal dozda ve zamanında verilmesini

olanaklı hale getirebilir (16).

Filgrastim kanserli hastalarda kemik iliği baskılayıcı kemoterapilerle ilişkili nötropeni azaltma amaçlı kullanılmaktadır (18). Filgrastim ciddi (grade 4) nötropenin süresini, febril nötropeni insidansını ve hastane bakımı gereksinimini azaltır. Filgrastimin molekül büyüklüğü böbrek filtrasyonu için gereken eşikten daha küçüktür ve esasen böbrekler tarafından organizmadan uzaklaştırılır. Sonuç olarak filgrastim kısa serum yarılanma ömrüne sahip olup etkin serum sitokin düzeylerini sağlamak için her gün uygulanmalıdır.

Febril nötropeni (FN) kemoterapötiklerin ciddi ve potansiyel olarak ölümcül toksik bir komplikasyonudur. Febril nötropeni bir saatten daha uzun süren $>38^{\circ}\text{C}$ ateş ve ANC'nın $<0.5 \times 10^9 / \text{l}$ olması şeklinde de tanımlanabilir (16, 19, 20). Febril nötropeni insidansı hastaya uygulanan sitotoksik ajanın dozu ile ilişkili iken enfeksiyon gelişme riski ise nötropenin süre ve derecesiyle ilişkilidir. Önceden radyoterapi ve sitotoksik tedavi alım öyküsü de febril nötropeni açısından iyi bilinen risk faktörleridir (21).

Geçtiğimiz 10 yıl boyunca yapılan farklı çalışmalar sitotoksik kemoterapiye CSF eklenmesinin kemoterapiye sekonder FN'yi önleyebileceğini göstermiştir (22).

Filgrastim ve lenograstimin toksisite profilleri benzerdir. Rutin 5 mcg/kg/gün'lük G-CSF dozu ile gelişen en önemli yan etki subkutan enjeksiyon sonrası veya lökosit sayısında yükselme başlayınca ortaya çıkan kemik ağrısıdır. Bu ağrı genellikle kalça, alt lomber vertebra ve sternum gibi aktif hematopoez olan bölgelerde olup parasetamol gibi opioid olmayan analjeziklere iyi yanıt verir. G-CSF'e bağlı ağrı insidansı farklı çalışmalarda %13-39 arasında bulunmuştur. Atopik cilt reaksiyonları, ekzema, psoriasis, splenomegali, yüz kızarıklığı, dispne, bulantı, hipotansiyonla seyreden ataklar ve alopesi diğer yan etkilerdir (22-24).

Koloni stimüle edici faktörlerin kullanımı plazmada lökosit alkalen fosfataz ve laktat dehidrogenaz düzeylerinde artışlara neden olabilir (22, 23).

Granülosit-monosit stimüle edici faktör ile G-CSF'nin farmakokinetik özellikleri benzerdir. Serum konsantrasyonları ve eğri altı alanları doza bağımlıdır. CSF'lerin intravenöz uygulamada yarı ömürleri 1-2 saat gibi kısarken subkutan

uygulamayla yarılanma ömrü 2-3 saat gibi daha uzun olmaktadır. Bu durum olasılıkla subkutan uygulamada emilim sürecinin daha uzun olmasına bağlıdır. Bu nedenlerle CSF'ler için en elverişli uygulama yolu subkutan enjeksiyondur (25).

Beş randomize kontrollü çalışmayla G-CSF'ün miyelotoksik kemoterapi rejimlerindeki yararı değerlendirilmiştir. Bu çalışmalarda G-CSF kemoterapi kürünün bitiminde 2-3 gün sonra başlanarak bir sonraki kür başlangıcına dek uygulanmıştır (26-31). Filgrastim hem ilk kür sonrası ve hem de kümülatif olarak FN gelişim insidansında, hastaneye yatış gereksiniminde ve parenteral antibiyotik kullanım gereksiniminde anlamlı azalma sağlamıştır (27, 28).

Mutlak nötrofil sayısı normal düzeye ulaşmaya dek CSF ve plasebo alan grupların gözlemlendiği farklı çalışmalarda iki grup arasında yüksek ateş ve antibiyoterapi süresi açısından anlamlı fark saptanmamış olup yalnızca nötropeni süresinin CSF alan grupta belirgin şekilde daha kısa olduğu görülmüştür (32-34).

Yüksek maliyetler CSF kullanımını için kılavuzlar geliştirilmesini gerektirmiştir. Amerikan Medikal Onkoloji Cemiyeti (ASCO)'nun CSF kullanım önerileriyle ilgili konsensus kararları mevcuttur (35). G-CSF ve GM-CSF'ler kemoterapiye ikincil nötropeni ve buna bağlı komplikasyonların yönetimi için kullanılmaktadır.

Proflaktik CSF kullanımını kemoterapi sonrası FN gelişimi ve hastanede yatma gereksinimini azaltabilmektedir. Bu yarar özellikle %30'un üzerinde FN geliştirme olasılığı olan kemoterapi rejimleri için tanımlanmıştır. ASCO uzmanları %40'dan fazla FN geliştirme olasılığı olan kemoterapilerde CSF'lerin kullanımını önermektedirler. CSF'ler septik şok ve ciddi pnömoni gibi nötropeniye bağlı yaşamı tehdit eden durumlarda terapötik amaçlı kullanılabilirler. Bu durumlarda CSF kullanımını ampirik olup standart değildir (27).

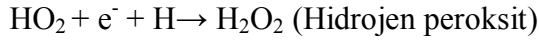
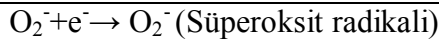
1.3. Serbest Oksijen Radikalleri

Serbest radikaller bir veya birden çok çiftleşmemiş elektron taşıyan kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük olan çok etkin atom veya moleküllerdir (36). Serbest radikaller serbest oksijen radikalleri veya reaktif oksijen türleri olarak da bilinmektedir (37). Çiftleşmemiş elektronların varlığından ötürü SOR kararsızdır

ve oldukça reaktif moleküllerdir (38).

Serbest oksijen radikalleri hücrelerde endojen ve ekzojen kaynaklı etmenlere bağlı olarak tüm hücreler tarafından normal veya patolojik olarak aerobik metabolizma ile sürekli üretilmektedirler. Aerobik metabolizması olan memelilerde SOR genellikle oksijenden üretilmekle birlikte organizmada oksijen türevi SOR dışında karbon ve kükürt merkezli radikaller de oluşmaktadır (39, 40). Kimyasal maddelere maruz kalma, karbon tetraklorür, parasetamol gibi ilaç toksisiteleri, iyonize ve ultraviyole radyasyon, hava kirliliği yapan fitokimyasal maddeler, sigara dumanı gibi çevresel faktörler, nitrofurantoin, bleomisin, doksorubisin ve adriamisin gibi antineoplastik ajanlar SOR oluşumuna neden olan ekzojen kaynaklı etmenlerdir (40).

Oksidatif metabolizma sürecinde oksijenin çoğu hidrojene bağlanarak su oluşturmaktadır. Ancak oksijenin yaklaşık % 4-5'lik kısmı ise su oluşumuna katılmayıp SOR oluştururlar. Moleküler oksijenin indirgenme yolu Şekil 1'de gösterilmektedir (38).



Şekil 1. Serbest oksijen radikallerinin üretimi.

Başlangıçta moleküler oksijenin bir elektron ile indirgenmesi süperoksit anyonunu oluşturmaktadır. Bu da hidrojen peroksite dönüşüme doğru gider. Bu reaksiyon spontan olabildiği gibi süperoksit dismutaz (SOD) ile de katalizlenebilir. Hidrojen peroksit indirgenmiş metal iyonları ile reaksiyona girerek hidroksil radikallerini oluşturur. Çok güçlü oksidan olan bu radikaller hücrelerde hasara neden olmaktadır (41).

Yetersiz beslenme, düşük antioksidan ve fazla yağ alımı, psikolojik stres gibi çevresel faktörler de SOR üretimini artırmaktadır. Psikolojik stres, SOR üretiminde artışa ve doğal öldürücü (NK) hücre sitotoksitesinde azalmaya neden olarak immünyetede belirgin değişiklikler meydana getirir. Oksidatif stres, mutasyona uğramış hücre kolonilerinin yayılmasını uyarıp transkripsiyon faktörlerinin

fosforilasyonunu aktive edebilir (42).

Serbest oksijen radikalleri mutasyon ve onkojenik transformasyon hızını artırıp DNA hasarlanması yaparak tümör gelişimine de neden olabilmektedir (43). Bu durumlarda SOR düzensiz bir şekilde üretilir. SOR proliferasyon, hücrel remodeling, apoptozis ve yaşlanma gibi hücrel fonksiyonlara da etki etmekte ve böylelikle de kanser ve metastaz gelişimine neden olmaktadır (44).

1.3.1. Oksidatif Stres

Oksidatif stres, SOR'nin üretimi ile antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin SOR üretimi lehine bozulmasıdır (36, 45).

Serbest oksijen radikalleri normal hücre metabolizması süresince devamlı olarak üretilmekte ve antioksidan savunma sistemi tarafından nötralize edilmektedir. Ancak SOR aşırı miktarda üretildiğinde veya antioksidan savunmada belirgin bir azalma olduğunda antioksidan savunma sistemi baskılanır ve oksidatif stres ortaya çıkar. Oksidatif stres karsinogenезin başlamasında kritik rol oynayan DNA hasarına, kromozomal sapmalara, tümör süpresör genlerde mutasyonlara, kontrol edilmeyen hücre bölünmelerine, genomik kararsızlıklara neden olarak tümör gelişimine yol açmaktadır (46).

Oksidatif stres aynı zamanda hücre büyümesi ve çoğalması ile ilişkili olan genlerin transkripsiyonunu düzenleyen döngüde rol alan sitoplazmik kalsiyumun artışına neden olmaktadır (47).

Organizmadaki bu oksidan-antioksidan denge birçok faktöre bağlıdır. Bunlar endojen ve eksojen faktörler olup genellikle birlikte etkilidir (48).

1.3.2. Serbest Oksijen Radikallerinin Etki Mekanizmaları

Serbest oksijen radikallerinin mitokondrial oksidasyon, hemoglobin tarafından oksijen transportu ve sitokrom P450 aktivitesi gibi birçok fizyolojik reaksiyonlarda rolleri olduğu gibi organizmaya zararlı etkileri de olmaktadır (36, 48-50). SOR'nin etkileri, karmaşık olup lokal konsantrasyonlarına, mikroçevreye ve bireyin genetik yapısına göre değişik etkiler gösterebilir (51).

Serbest oksijen radikalleri hem endojen hem de eksojen olarak üretilebilirler (52). Potansiyel endojen kaynaklar mitokondriler, sitokrom P450 metabolizması,

peroksizomlar, inflamatuvar hücre aktivasyonu, nötrofiller, eozinofiller ve makrofajlardır (53, 54).

Eksojen olarak ise genotoksik olmayan karsinojenler gibi çevresel faktörler hücrelerde SOR üretimine neden olabilir (55).

Ratlarda spesifik bir patojene karşı olmayan nötrofillerin sayı ve fonksiyonları G-CSF uygulamasıyla iyileşmiş fakat süperoksit anyonu üretiminde iyileşme gözlenmemiştir (56).

1.3.2.1. Lipit Peroksidasyonu

Serbest oksijen radikallerinin en hasarlandırıcı etkisi, poliansatüre yağ asitleri ve fosfolipidden oluşan hücre membranları üzerine olur. Lipit peroksidasyonu membranda bulunan poliansatüre yağ asitlerinin, SOR'leri tarafından peroksitler, alkoller, aldehitler, hidroksi yağ asitleri, etan, pentan gibi çeşitli ürünlere yıkılması ile sonuçlanır (57).

Lipit peroksidasyonu; hücre membranlarının bütünlüğünü bozarak hücre membranının akışkanlığını artırır, membrana bağlı reseptör ve enzimleri inaktive eder (42). SOR lipid peroksidasyonunu indükleyerek fonksiyonel ve yapısal hücre hasarına neden olur (58).

Lipit peroksidasyonu, SOR ve lipit peroksitleri birçok hastalığın etyopatogenezinden sorumlu tutulmaktadır (48).

1.3.3. Nötropenik Hastalarda Oksidatif Stres

SOR'un antimikrobiyal fonksiyonlarına ilgili giderek artmaktadır. Enfeksiyon durumunda SOR oluşumu iki antimikrobiyal yolağa katkıda bulunur: Canlı nötrofillerdeki fagozom içi öldürme ve postmortem nötrofil ekstraselüler tuzak aracılı öldürme (59, 60). SOR nötrofillerin antimikrobiyal etkinliklerinde önemli rol oynamaktadır.

Kemoterapi alan hemato-onkolojik maligniteli hastaların önde gelen ölüm nedenlerinden biri de nötropenik dönem sırasındaki sistemik enfeksiyonlara bağlı multiorgan yetmezliğidir. Enfeksiyonu olan nötropenik hastaların büyük bölümünde ilk semptom olarak ateş ortaya çıkar. Fakat FN'li hastaların klinik seyirleri büyük farklılıklar gösterir. Bazı ciddi FN vakaları negatif kan kültürlerine rağmen sepsise

benzerlik gösterirler. Öte yandan bazı vakalar da hafif seyirli olup hastaların genel durumu oldukça iyidir.

Nishikawa ve ark.(61)'nın yaptığı yaş ortalaması 10 olan toplam 27 olgunun dahil edildiği çalışmada SOR, hidroperoksitlerin ölçümüyle reaktif oksijen radikal türevleri (d-ROMs) olarak ve serum antioksidan kapasite ise +3 değerlikli demir iyonlarını +2 değerlikli hale dönüştüren antioksidan maddelerin ölçülmesi sonucu biyolojik antioksidan potansiyel (BAP) olarak değerlendirilmiştir (62-65). Malondialdehid, okside olmuş LDL ve 8-isoprostan SOR'nin kabul edilen biyomarkerleridir. Malignensilerin büyük bölümü artmış oksidatif stres üretimiyle ilişkilidir (66). Bu çalışmadaki ALL vakalarının tümünde hastalığın başlangıç döneminde yüksek serum SOR düzeyleri saptanmış ve indüksiyon kemoterapisi ile normal aralığa gerilemiştir. Tedaviyle parçalanmış lösemik blastların serbest radikalleri artırarak yüksek SOR düzeylerine neden olma olasılığına rağmen bu çalışma tümör tarafından üretilen SOR'nin ALL tedavisine bağlı olandan fazla olduğunu göstermektedir. Bu durum malign hücre parçalanması sonucu oluşan ürünlerin yeterli hidrasyonla böbrekler tarafından temizlenmesiyle açıklanabilir. Bu çalışmada çevresel kandan blast hücreleri kaybolduktan sonra SOR düzeyleri ölçüldüğü için tümör hücresi kaynaklı SOR artışı dışlanabilir(61).

SOR, NADPH oksidaz tarafından başlıca nötrofillerde üretilir ve nötrofillerin antimikrobiyal fonksiyonlarında önemli rol oynarlar (59, 60).

Çeşitli çalışmalarda SOR'nin hem insan ve hem de hayvan modellerindeki ciddi sepsis durumunda kritik olmayan sepsis ve kontrol grubuna oranla arttığı gösterilmiştir (67-69). Fakat özellikle FN'li hastalar olmak üzere nötroopenik hastalarda SOR ve antioksidanların kinetiği net değildir. Nötroopenik olmayan dönemdeki sepsis durumlarında yüksek SOR ve düşük antioksidan düzeyleri kötü prognozla ilişkilidir (67-69). Fakat Nishikawa ve arkadaşlarının çalışmasında ciddi nötropenide SOR düzeylerinin düşük olduğu görülmüştür. Bu çelişki nötrofil sayılarındaki farklılığa bağlanabilir. Nötrofiller NADPH oksidaz yoluyla SOR ürettiği için nötroopenik dönemde SOR azalmaktadır. Hastalarda FN geliştiğinde artan SOR üretimi mikroorganizmalara karşı korunmada yardımcı olmakta ve bu durum sistemik inflamatuvar cevap sendromu (SIRS)'nun gelişmediği FN vakalarında iyi

prognozla ilişkili olabilmektedir. Öte yandan SIRS'lu FN vakalarında düşük SOR düzeyleri ise kötü prognosa neden olabilmektedir (61).

1.3.4. Serbest Oksijen Radikalleri ve Koloni Uyarıcı Faktör İlişkisi

Nötrofiller çeşitli bakteriyel enfeksiyonlara karşı konağın savunma mekanizmasında kritik role sahip olup, kemotaksis, fagositoz ve bakterisidal fonksiyonlar gibi nötrofil fonksiyonlarındaki bozukluklar enfeksiyona eğilim oluşturur (70).

Nötrofillerin bakterisidal mekanizmaları oksijene bağımlı ve oksijenden bağımsız süreçlerden oluşmaktadır. Oksijene bağımlı bakterisidal süreçlerde süperoksit anyonu, hidrojen peroksit ve hipoklorit gibi oksijen türevi serbest radikallerin önemi bilinmektedir (71). Diabetik hale getirilmiş ratlarda bu oksijene dayalı bakterisidal fonksiyonların bozulduğu bilinmektedir (72-78).

Granülosit koloni stimüle edici faktörlerin yalnızca kemik iliği öncül hücrelerinden granülosit kolonilerinin oluşumunu artırmakla kalmayıp süperoksit anyonu üretimi gibi nötrofil fonksiyonlarını da artırdıkları düşünülmektedir (79-81).

İnsüline bağımlı olmayan diabetes mellitus'lu hastalar ve sağlıklı kontrol grubundan oluşan bir çalışmada da G-CSF'lerin nötrofillerde artmış myeloperoksidaz aktivitesine neden olduğu ve kötü kontrollü diabet hastalarında nötrofillerin bozulmuş oksijene dayalı serbest radikal üretimini düzelttiği saptanmıştır. Nötrofiller üzerindeki olumlu etkileri nedeniyle Kazanılmış immün yetmezlik sendromu, Miyelodisplastik sendrom ve Konjenital agranülositoz'da enfeksiyonların önlenmesi amacıyla kullanılan G-CSF'lerin bu çalışma sonrasında kötü kontrollü diabetik hastalarda bozulmuş nötrofil serbest oksijen radikali üretimini iyileştirerek bakteriyel enfeksiyonlara bağlı mortalite ve morbiditeyi azaltmaya yardımcı olabileceği sonucuna varılmıştır (82, 83).

1.3.5. Malondialdehid

Lipid peroksidasyonu, lipid moleküllerindeki iki ansatüre bağ arasında yerleşmiş metilen grubundan bir hidrojen atomunun çıkması ile başlayan karmaşık bir olaydır. Sonuçta yeni bir karbon merkezli lipid serbest radikali oluşur. Oksijen varlığında bu yeni lipid serbest radikalden lipit peroksitleri veya hidroperoksitleri oluşmaktadır. Bu son ürünler nispeten daha kararlı bir son ürün olan ve lipid

peroksidasyonunun belirteci olarak kullanılabilen MDA'ye dönüşür (84). Membran komponentlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmalarına neden olan MDA; deformabilite, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzeyindeki determinantların agregasyonu gibi, iç membranın bazı özelliklerini değiştirmektedir. Ayrıca, diffüze olabildiğinden, DNA'nın azot bazlarıyla reaksiyona girmektedir. MDA, bu özelliklerinden dolayı mutajenik, genotoksik ve karsinojenik bir bileşiktir (85-87).

MDA poliansatüre yağ asidi peroksidasyon ürünlerinin başlıcası ve üzerinde en çok çalışılanıdır. 1960'lardan bu yana bu molekülü saptamak ve in vivo ve in vitro oksidatif stresi değerlendirmek için çeşitli metodlar kullanılmıştır.

Biyolojik örneklerdeki başlıca MDA kaynağı, poliansatüre yağ asitlerinin peroksidasyonudur. Geçtiğimiz 20 yıl içinde MDA lipid peroksidasyonunun bir belirteci olarak kabul edilmiş olup çeşitli hastalıklarda düzeyleri ölçülüp değerlendirilmiştir. Kanser etyolojisinde lipid peroksidasyonu net bir örnek olarak değerlendirilebilir. Bu durumda MDA lipid peroksidasyonunu gösteren bir biyomarker olup aynı zamanda kanser başlamasının da potansiyel nedenidir (88) .

1.4. Antioksidan Savunma Sistemleri

Organizmada SOR oluşurken aynı anda bu serbest radikallerin zararlı etkilerini nötralize etmek için antioksidan savunma mekanizması işlemektedir. SOR, aşırı miktarda veya antioksidan savunmanın tam olarak fonksiyon görmediği durumlarda meydana gelirse oksidatif stresin olumsuz etkileri açığa çıkabilir (89). Hücreler, artan oksidan maddeleri etkisiz hale getirmek için antioksidan savunma mekanizmaları ile donatılmıştır. Antioksidanlar, okside olabilen substratın oksidasyonunu önleyen veya oksidasyon derecesini azaltan moleküllerdir. Antioksidanlar, antikarsinojen olarak etki göstererek hücreleri oksidatif hasardan korurlar ve karsinogenezi baskılayıcı etki yaparak fonksiyonlarını gösterirler (41, 89).

Antioksidan sistem; hücresel, membranöz ve ekstrasellüler mekanizmalar şeklinde işler.

Hücresel antioksidan savunma sistemi, glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz ve katalitik enzimler gibi antioksidanların endojen üretimine bağlıdır. SOD, sitoplazma ve mitokondride süperoksit anyonlarının hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüştüğü tepkimeyi katalizler. Sitoplazmada bakır ve çinko içeren CuSOD,

ZnSOD, mitokondride ise Mn içeren MnSOD bulunmaktadır. Böylece hücre içindeki süperoksit radikali miktarı azalır ve hücreler süperoksit radikallerinin zararlı etkilerinden korunmuş olur (41, 90).

Karsinogenez sırasında tümörlerde bazı antioksidan enzimler değişikliğe uğrayabilir. Tümör hücreleri normal hücrelerle karşılaştırıldığında, tümör hücrelerinde MnSOD, CuSOD, ZnSOD ve katalaz aktiviteleri daha düşük bulunmuştur (91). MnSOD, en kuvvetli antioksidan enzimlerden biridir. Farklı tümör hücre dizileri içeren birçok çalışmada büyümeyi önleyici etki yapan MnSOD overekspresyonu gösterilmiş olup öte yandan MnSOD aktivitesi çoğu kanserde ise düşük bulunmuştur. Bazı araştırmacılar yüksek MnSOD ekspresyonunun kötü prognoz, progresyonun ileri evreleri, invaziv ve metastatik fenomen ile ilişkili olduğunu düşünmektedirler (44).

Membranöz antioksidan savunma sisteminde betakaroten, vitamin E ve koenzim Q gibi antioksidanlar yer alır. Lipofilik olan vitamin E (alfa tokoferol) ara peroksil radikallerini temizleyip, lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonunun blokajında etkili olmaktadır. Bunlara ek olarak membran yapısında bulunan uygun orandaki kolesterol ve fosfolipitler oksidatif hasara karşı artan dirençte önemli rol oynamaktadır (38).

Ekstrasellüler savunma sistemi ise metal bağlayıcı proteinlerin karışımını kapsar. Metal bağlayıcı proteinler transferrin, laktoferrin, albümin, haptoglobülinler, ürik asit, vitamin C ve bilirübindir. Demir, bakır gibi metal iyonlarının varlığı lipid peroksidasyonu ve SOR oluşumunu hızlandırabileceğinden metal bağlayıcı proteinler bu metallerin nonreaktif durumda kalmalarını sağlar (41, 90, 92).

Antioksidan maddeler endojen, ekzojen ve gıda kaynaklı antioksidanlar olarak 3 grupta toplanırlar (Tablo III) (93).

Diyetteki antioksidanlar programlanmış hücre ölümünü (apoptozis) indüklemeye kabiliyetinden dolayı kanser tedavisinde potansiyel adjuvandır (94). Ayrıca ekzojen antioksidanlar kanser tedavisi ile ilgili ağrı gibi yan etkileri azaltmaktadır (95).

Tablo 2. Antioksidanların Sınıflandırılması

I-Endojen Antioksidanlar

A-Enzim Olanlar

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

B-Enzim Olmayanlar

- 1.Lipid Fazda Bulunanlar
Tokoferol (E vitamini)
Karoten
- 2.Sıvı Fazda (Sitozol veya kan plazmasında) Bulunanlar
Askorbik asit, Ürat, Melatonin, Sistein, Seruloplazmin, Transferrin, Laktoferrin, Metionin, Myoglobin, Hemoglobin, Ferritin, Albumin, Bilirubin, Glutatyon.

II-Gıda antioksidanları

- Butile Hidroksitoluen
- Butile Hidroksianizon
- Sodyum Benzoat
- Fe-Süperoksid Dismutaz

III-Ekzojen Antioksidanlar

Ksantinoksidaz İnhibitörleri: Tungsten, Allopurinol, Oksipurinol, Folik Asit

NADPH Oksidaz İnhibitörleri: Adenozin, Lokal Anestetikler

Rekombinant Süperoksid Dismutaz

Endojen Antioksidan Aktiviteyi Arttıranlar: Ebselen, Asetilsistein

Diğer Nonenzimatik Serbest Radikal Toplayıcıları: Mannitol, Albumin

Demir Redoks Döngüsünün İnhibitörleri: Desferroksamin, Seruloplazmin, Demir şelatörleri

Sitokinler: Tümör Nekroz Faktör (TNF) ve İnterlökin-1(IL-1)

1.5. Paraoksonaz/Aril Esteraz

Paraoksonaz (PON1), ilk kez 1953'de Aldridge (96) tarafından p-nitrofenil asetat, propiyonat ve bütiratı hidrolize eden A-esteraz olarak tanımlanmıştır. 1973 'te Alman araştırmacılar, insan serum paraoksonazını genetik olarak saptamıştır (97). Paraokson, metil paraokson ve klormetil paraoksona yüksek derecede seçicilik gösterdiği için, paraoksonaz olarak adlandırılmıştır.

1.5.1. Genetik ve polimorfizm

Paraoksonaz ve arilesteraz her ne kadar iki ayrı enzim olarak algılansa da, yapılan çalışmalar göstermiştir ki; insan serumunda tek gen ürünü enzim hem arilesteraz hem de paraoksonaz aktivitesine sahiptir (98). Paraoksonaz için ilgili insan geni ayrıca HUMPONA olarak da adlandırılmaktadır. İnsan genomunda 7. kromozomun uzun kolunda q-21.3 ve q-22.1 arasında tanımlanabilen paraoksonaz gen ailesinin PON1, PON2 ve PON3 olarak 3 üyesi bulunmaktadır. PON1'de 2 aminoasit polimorfizmi vardır. Bunlardan biri 55. pozisyonda metionin ile lösin aminoasitlerinin yer değişmesiyle, diğeri 192. pozisyondaki arginin ve glutamin aminoasitlerinin yer değiştirmesiyle meydana gelir. PON1 promotor bölgesinde bu polimorfizmlerden başka bilinen beş tane daha polimorfizm bulunur. Populasyonlardaki polimorfik dağılım bireyler arasında farklılığa sebep olur. Polimorfizm arilesteraz aktivitesini etkilemez, arilesteraz aktivitesi PON1 aktivitesindeki değişikliklerden bağımsız, esas olarak protein konsantrasyonunun göstergesi olarak kabul edilebilmektedir. Bir başka deyişle Paraoksonaz; aktivite polimorfizmi göstermeyen arilesteraz aktivitesine de sahiptir (99). Paraoksonaz allozimlerin kantitatif ve kalitatif olarak farklı olduklarının saptanmasının ardından fenotipleme metodları geliştirilmiştir (100-102).

Serum PON1 aktivitesi, beslenme, akut faz proteinleri, gebelik, hormonlar, sigara kullanımı, simvastatin tedavisi ve apolipoprotein A1 (apo A1) metabolizmasını etkileyen durumlardan etkilenmektedir (103-106).

1.5.2. Yapı ve İşlev

Paraoksonaz enzimi 43-45 kDa ağırlığında, 354 amino asit içeren ve glikoprotein yapısında olan, kalsiyum bağımlı bir esterazdır. İnsan serum paraoksonazı; HDL'nin içerdiği apo A-1 ile yakın ilişkileri olan, lipid peroksidasyon ürünlerinin birikmesini azaltan, LDL'deki okside olmuş lipidleri hidroliz eden, antioksidan etki gösterdiği çeşitli kaynaklarda belirtilen, enzim aktivitesi kalsiyuma bağımlı karaciğer tarafından sentezlenen bir esterazdır. Organofosfatların hidrolizini katalizler. Karaciğer, böbrek, barsak ve serumda HDL' ye bağılı şekilde önemli miktarlarda bulunur (107, 108). İnsan serum paraoksonazı yaşa bağılı olarak azalır (109). Erkek ve kadınlar arasında serum HDL konsantrasyonlarında farklılık

olmasına karşın insan serum PON1 aktivitesi cinsiyete bağlı değişkenlik göstermemektedir (9, 110). Serum düzeyleri birçok nedene bağlı olarak değişebilir ve enzimatik aktivite bireyler arasında 10-40 kat kadar değişkenlik gösterir (111). Serum PON1/ARE aktivitesi yenidoğan ve prematürlerde erişkinlerdeki düzeylerinden daha düşüktür. Erişkin düzeylerine doğumdan bir yıl sonra ulaşılır. Fetüs'ün de karaciğer ve dalak dokusunda enzim aktivitesi gösterilmiştir (112, 113). Serum PON1 düzeyleri diyet, akut faz proteinleri, gebelik ve apo A-1 metabolizmasını etkileyen bozukluklardan etkilenir (114). Dolaşımdaki PON1 ve HDL arasındaki ilişki, PON1 ekspresyonu ve biyolojik rolü, HDL ile ilişkili diğer proteinler tarafından etkilenebileceğini göstermiştir. Örneğin, PON1 ancak HDL tarafından sunulduktan sonra, endojen substratı ile etkileşebilir ve biyolojik etkilerini oluşturabilir. Bu nedenle, PON1 ve HDL arasındaki ilişkinin anlaşılması, katalitik komponentlerinin saptanması açısından büyük önem taşımaktadır. Öteki apoproteinler PON1 ve HDL ilişkisine katılabilir. PON1 enzimini Apo A-1' den ayırmak için noniyonik deterjanlar kullanmak gerekmektedir (107).

1.5.3. Çeşitli Hastalıklarda Paraoksonaz Aktivitesi

Fosfolipitlere bağlı olarak HDL yapısında bulunan PON1 enziminin LDL'i oksidasyondan koruyarak ateroskleroza önlediği kesinleşmiştir. Güncel araştırmalara göre farklı PON1 genotiplerinin ateroskleroza önlemedeki rolleri hala tartışmalı olmakla birlikte QQ-düşük aktivite genotipine sahip bireylerin ateroskleroz riskinin daha yüksek olduğu düşünülmektedir (115).

İnsan organizmasındaki önemli endojen antioksidanlardan birisi de PON1'dir. İnsan vücudunda paraoksonazlar dahil birçok endojen SOR temizleyen sistem vardır. Serum PON1, HDL'ye bağlanarak paraokson gibi organofosfat bileşiklerinin ve lipid peroksidasyonun karsinojenik lipid soluble radikallerinin detoksifikasyonuna katkıda bulunur. Kalsiyum esteraz bağımlı PON1'in, LDL oksidasyonu üzerinden HDL ile birlikte antioksidan özelliğe sahip olduğu bilinmektedir. Yapılan birçok çalışmada çeşitli kanser tiplerinde PON1 düzeylerinin kontrol gruplarına oranla düşük olduğu saptanmıştır (9, 116-119).

1.6. Alkalin Fosfataz

Son yıllarda kanser tanısında çeşitli tümör belirleyiciler araştırma konusu olmuştur. Bunlar arasında çeşitli hormonlar ve hormon reseptörleri,

immünoglobulinler, onkofötal antijenler ve enzimler sayılabilir. Enzimler grubunda, alkalin fosfataz (ALP) en önemli olanlardandır. Tümör hücrelerinin Golgi kompleksi, endoplazmik retikulum ve özellikle hücre membranında ALP depolanması artmaktadır. Zamanla gelişen tümör dokusu etrafındaki normal dokuyu da hasara uğratmakta ve bu enzim tümörün civarında ekstrasellüler ortamda artmaktadır (120, 121).

Tümör dokularında plasental ALP (PLAP), plasentaya benzeyen ALP (PAP) ve intestinal ALP'lar saptanmıştır. Bu durum olasılıkla ilgili dokudaki artan gen ekspresyonuna bağlıdır.

Gebe olmayan sağlıklı bir bireyde PLAP'ın bulunması bir malignansiye ifade edebilir. PAP ve PLAP özellikle akciğer kanserinin teşhisinde kullanılmaktadır. Fakat sigara içme gibi faktörlerle PLAP'da hafif artış görülebilir (122).

Bazı durumlarda malign süreçler bir hücrede, normalde ifade edilmeyen bir ALP genini harekete geçirip ALP sentezini arttırabilir veya çok az sentez edilen ALP 'ın aktivitesini yükseltebilir. Alkalin fosfataz zaman zaman kanserli dokularda ortaya çıkmakta ve kanserlerde serumdaki ALP aktivitesinde artışlar görülebilmektedir. Bu tip ALP'ların mevcut ALP'ların modifiye formları olabileceği düşünülmektedir. Bu modifikasyonların en önemlisi ALP'lara fazladan sialik asit eklenmesiyle olur. Bu durum olasılıkla kanserli hücrelerde sialil transferaz enziminin artışıyla olur(123).

ALP, alkali ortamlarda fosfo monoesterleri hidroliz edip fosfor açığa çıkararak, bu maddelerin alkol, fenol veya şekerlere çevrimini katalizleyen bir grup enzimdir (124-128).

Memelilerin lökositlerinde ALP enziminin varlığı, ilk olarak Roche tarafından ortaya konmuş ve lökosit ALP düzeyinin %85'inin sitoplazmik garnüllerde bulunduğu gösterilmiştir (126).

1.7. Laktat Dehidrogenaz

Hidrojen aktarıcı bir enzim olan laktat dehidrogenaz (LDH)'ın molekül ağırlığı 134000 olup, bu enzim L-laktatın piruvata oksidasyonunu katalizler. Alkali ortamda anota doğru azalan göçlerine göre beş izoenzimi (LDH 1-5) mevcuttur.

Postpubertal dönemde insan testislerinde saptanan izoform LDH-X, ağır hastalıkların seyri sırasında serumda saptanan izoform ise LDH-6 olarak tanımlanır (129).

LDH organizmadaki tüm hücrelerin sitoplazmalarında da bulunur. Doku LDH düzeyleri normal seruma göre çok daha yüksek olduğu için, doku hasarı durumlarında enzim dolaşıma sızarak serum LDH düzeylerinin artmasına neden olur (130).

Kalp kası, renal doku ve eritrositlerde elektroforezde hızlı göç eden LDH-1 ve LDH-2 izoenzimleri, çizgili kas ve hepatik dokuda ise katota yakın göç eden LDH-4 ve LDH-5 izoenzimleri ağırlıklı olarak bulunur (130).

LDH dokuya özgül bir enzim değildir ve birçok hastalıkta serum total LDH düzeyi yükselir. Aşırı hemoliz durumlarında yüksek total serum LDH düzeyleri saptanırken, folik asit ve B12 vitamini eksikliğine bağlı ortaya çıkan megaloblastik anemide etkin olmayan eritropoez sonucu eritrosit öncüllerinin yıkımı artarak serum total LDH, LDH-1 ve LDH-2 izoenzimlerinin artmasına neden olur (129, 131-140).

Karaciğer hastalıklarında da aminotransferazlar kadar yükselmemeyle birlikte LDH aktivitesinde artış görülür. İkterli toksik hepatitte yüksek, viral hepatitler ve infeksiyöz mononükleozda ise orta derecede LDH-3, karaciğer anoksisinde ise LDH-5 izoenzim ağırlıklı LDH artışı görülür (129).

Malign hastalıklarda da serum LDH aktivitesi artar. Hepatik metastazlı olguların %70, hepatik metastaz olmayan olguların ise %20-60 kadarında serum total LDH aktivitesi yüksek bulunur. Tanıda maligniteye komşu bölgelerdeki eksüdatif effüzyonlardaki artmış LDH aktivitesinin ölçümü yararlıyken, kemoterapi sonrası ise serum LDH düzeylerinin takibi tümör yükü ile ilgili fikir verici olabilmektedir (129).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Çalışma Grupları

Çalışmaya Elazığ Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı alındıktan sonra başlandı. Çalışmaya Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı'na başvuran kemoterapiye sekonder nötropeni gelişen bireyler alındı. Çalışmaya alınan olgulara bilgilendirilmiş onam formu imzalatıldı.

Çalışmaya alınma kriterleri:

1- Tanı anında hastanın 18 yaşından büyük olması,

2- Kemoterapi sonrası nötropeni gelişmiş olması,

3-Serum analizlerini etkileyebilecek diyet uygulaması, sigara kullanımı ve ilaç kullanımının olmaması.

Çalışmaya alınan olguların adı-soyadı, yaşı, cinsiyeti, yüksek ateş varlığı, patoloji veya sitolojik tanısı çalışma formuna kaydedildi. Olgulardan nötropenik dönem ve filgrastim uygulaması ile nötropeni tablosunun tamamen düzeldiği dönemlerde en az 8-12 saatlik açlık sonrası sabah 8⁰⁰ - 10⁰⁰ arasında antekübital venden venöz kan örnekleri alındı. Kan örnekleri için düz biyokimya tüpü ve EDTA'lı tüpler kullanıldı. Alınan kanlar yarım saat bekletilip 4000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek serum ve plazmaları ayrıldı. Alınan örnekler analizler yapıncaya kadar MDA, PON1, ARE, HDL, LDH ve ALP çalışılmak üzere -20°C'de derin dondurucuda saklandı.

Biyokimyasal incelemede MDA tayini Satoh ve Yagi'den modifiye edilen bir yöntemle spektrofotometrik olarak yapıldı. PON1 aktivitesi substrat olarak kullanılan paraoksonun (O, O-diethyl-O-p-nitrophenyl phosphate; Sigma Co, London, UK.) enzimatik olarak hidrolizi sonucu oluşan 4-nitrofenolün, ARE aktivitesi ise substrat olarak kullanılan Fenil Asetat (Sigma)'ın enzimatik olarak hidrolizi sonucu oluşan fenolün verdiği renkli ürünün spektrofotometrik ölçümü ile belirlendi. PON1 aktivitesi ünite (1nmol 4-nitrofenol/l serum/dk), ARE aktivitesi ünite(1mikromol fenol/ml serum/dk), HDL düzeyi miligram/desilitre, LDH ve ALP düzeyleri ünite/litre, MDA düzeyi ise mikromol/litre olarak tanımlanmıştır.

2.2. Serum PON1 Aktivitesi Tayini

Paraokson stok çözeltisi:

0.1 M Paraokson stok çözeltisi, metanolde hazırlanır. Hazırlanan bu stok çözeltisi derin dondurucuda saklanır.

Reaksiyonda kullanılacak 2 mM paraokson çözeltisi:

Reaksiyonda kullanılacak 2 mM paraokson çözeltisi, 0.1 M stok çözeltisinden yararlanılarak 0.1 M Tris-HCL (pH: 8.00), çözeltisinde taze olarak hazırlanır .

2 mM Kalsiyum Klorür Çözeltisi

pH'sı 8.00 olan 0.1 M Tris-HCL çözeltisinden yararlanılarak 2 mM kalsiyum klorür çözeltisi hazırlanır.

1 M Sodyum Klorür Çözeltisi

pH'sı 8.00 olan 0.1 M Tris- HCL çözeltisinden yararlanılarak 1 M NaCl çözeltisi hazırlanır.

2.2.1. Deneyin Yapılışı

Tablo 3. Serum PON1 aktivitesi ölçümü

	Kör	Örnek	Standart
Reaksiyon çözeltisi	1400 µL	1400 µL	1400 µL
Serum	_____	40 µL	_____
Standart çözeltisi	_____	_____	40 µL
Distile su	40 µL	_____	_____

Kör, örnek ve standart tüpleri iyice karıştırılır, 25°C sıcaklıktaki su banyosunda 10 dakika enzimatik reaksiyona sokulur. Daha sonra spektrofotometrede 412 nm'de ölçümleri yapılır.

2.3. Serum ARE Aktivitesi Tayini

Fenil Asetat Stok Çözeltisi

0.5 M Fenil asetat stok çözeltisi (MA: 136.14, d: 1.08 g/l) etanolde hazırlanır.

Çözelti derin dondurucuda saklanır.

2 mM Fenil Asetat Çözeltisi

Stok 0.5 M fenil asetattan yararlanılarak ölçüm yapılmadan hemen önce 0.1 mM Tris-HCl (pH: 8) tampon çözeltisi ile hazırlanır.

2 mM Kalsiyum Klorür Çözeltisi

0.1 mM Tris-HCl tamponundan yararlanılarak 2 mM CaCl₂ çözeltisi hazırlanır.

2.3.1. Deneyin Yapılışı

Serumlar 1/40 oranında distile su ile dilüe edilir.

Tablo 4. Serum ARE aktivitesi ölçümü

	Kör	Örnek	Standart
Reaksiyon çözeltisi	1500 µL	1500 µL	1500 µL
Serum	-----	10 µL	-----
Standart çözeltisi	-----	-----	10 µL
Distile su	10 µL	-----	-----

Kör, örnek ve standart tüpleri iyice karıştırılır, 25°C sıcaklıktaki su banyosunda 10 dakika enzimatik reaksiyona sokulur. Daha sonra spektrofotometrede 270 nm’de ölçümleri yapılır.

2.4. Serum MDA düzeyi tayini

Plazma MDA düzeyleri Satoh ve Yagi'den modifiye edilen bir yöntemle çalışıldı. Bu metotta, asidik ortamdaki tiobarbitürik asit 95°C’ de MDA ile kompleks yaparak pembe renkli kromojen oluşturur. Bu kromojenin n-butanol ekstraktı floresans spektrofotometrede ekstinksiyon; 525 nm, emisyon; 547 nm dalga boyunda ölçülür ve önceden hazırlanan malondialdehid standart eğri grafiği kullanılarak, örneklerin MDA düzeyleri saptanır (141).

2.5. Serum LDH düzeyi tayini

Laktat dehidrogenaz değeri, Olympus 2700 otoanalizöründe ticari kitler kullanılarak enzimatik spektrofotometrik (UV) metodla ölçüldü.

2.6. Serum ALP düzeyi tayini

Alkalen fosfataz düzeyleri, Olympus 2700 otoanalizöründe ticari kitler kullanılarak enzimatik spektrofotometrik (UV) metodla ölçüldü.

2.7. Serum HDL düzeyi tayini

Serum HDL düzeyi ticari kitler kullanılarak otoanalizator aracılığıyla ölçüldü.

2.8. İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen veriler ortalama±standart hata olarak gösterildi. İstatistiklerin hazırlanmasında *SPSS 12.00* bilgisayar paket istatistik programı (SPSS Inc., Software Chicago, IL, USA) kullanıldı. Ortalamalar arası fark paired-*Student t* testi ile değerlendirildi. Parametreler arasındaki ilişki Pearson korelasyon analiz yöntemi kullanılarak değerlendirildi. $P < 0,05$ değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR

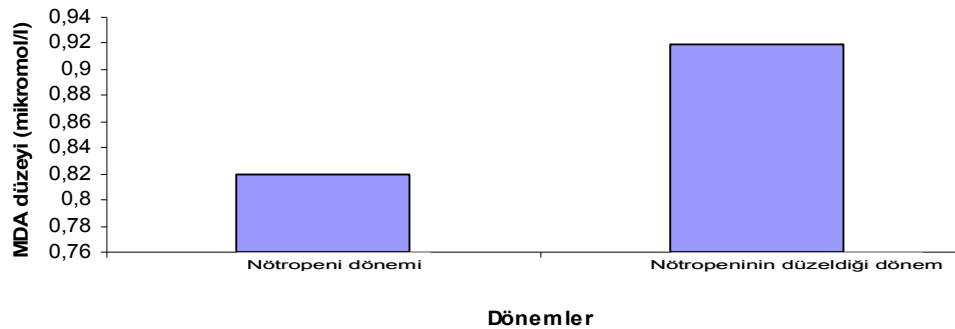
Çalışmaya alınan bireylerin yaş, cinsiyet, yüksek ateş varlığına ek olarak belirtilen dönemlerde alınan örneklerdeki MDA, PON1, ARE, HDL, LDH, ALP düzeyleri ortalama ve standart sapmaları hesaplanarak karşılaştırıldı. Çalışmaya alınan toplam 48 olgunun 25'i (%52) erkek, 23'ü (%48) kadındı. Yaş ortalamaları 56.12 ± 11.77 idi. Olguların 29'unda (%60.4) metastaz varken, 19'unda (%39.6) metastaz yoktu. Yüksek ateş olguların 20'sinde (%41.7) varken, 28'inde (%58.3) yoktu.

Tablo 5. MDA, PON1, ARE, HDL, LDH, ALP düzeyleri

	1. Dönem örnekleri	2. Dönem örnekleri	P Değeri
MDA	0.82±0.03	0.92±0.03	0.008 (n=48)
PON1	256.11±44.43	158.88±35.44	0.017(n=48)
ARE	140.31±33.44	53.20±10.51	0.003 (n=43)
HDL	30.15±1.90	20.50±1.64	0 (n=48)
LDH	280.12±25.90	229.04±14.58	0.029 (n=48)
ALP	81.88±8.59	107.81±7.47	0.020 (n=48)

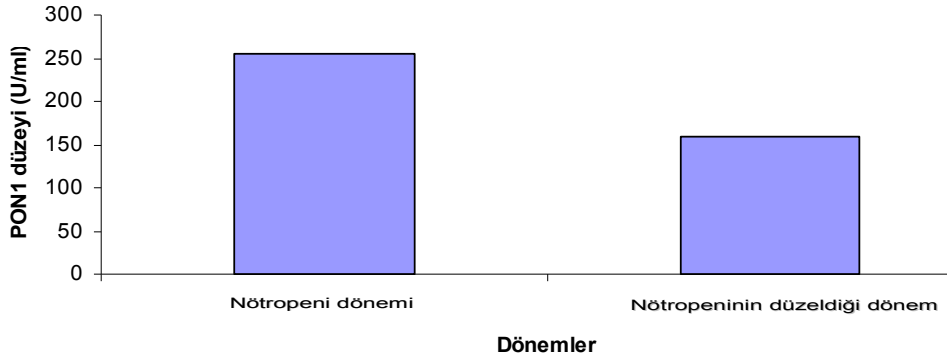
1.Dönem: Nötropeni dönemi; ,2.Dönem: Nötropenin düzeldiği dönem, MDA:Malondialdehid, PON1:Paraoksonaz, ARE:Aril esteraz, HDL:Yüksek dansiteli lipoprotein, LDH:Laktat dehidrogenaz, ALP:Alkalin fosfat, n:örnek sayısı

Serum MDA düzeyi nötropeni döneminde 0.82 ± 0.03 mikromol/l, nötropenin düzeldiği dönemde 0.92 ± 0.03 mikromol/l olup, nötropeni dönemi MDA düzeyleri, nötropenin düzeldiği dönem MDA düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşükdü ($p=0.008$).



Şekil 2. Dönemler arasında MDA düzeylerindeki değişim

Serum PON1 düzeyi nötropenik dönemde 256.11 ± 44.43 U/mL, nötropenin düzeldiği dönemde ise 158.88 ± 35.44 U/mL olup, nötropeni dönemi PON1 düzeyleri nötropenin düzeldiği dönem PON1 düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksekti ($p=0.017$).



Şekil 3. Dönemler arasında PON1 düzeylerindeki değişim

Serum ARE düzeyi nötropeni döneminde 140.31 ± 33.44 U/mL, nötropenin düzeldiği dönemde 53.20 ± 10.51 U/mL olup, nötropeni dönemi ARE düzeyleri, nötropenin düzeldiği dönem ARE düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksekti ($p=0.003$).

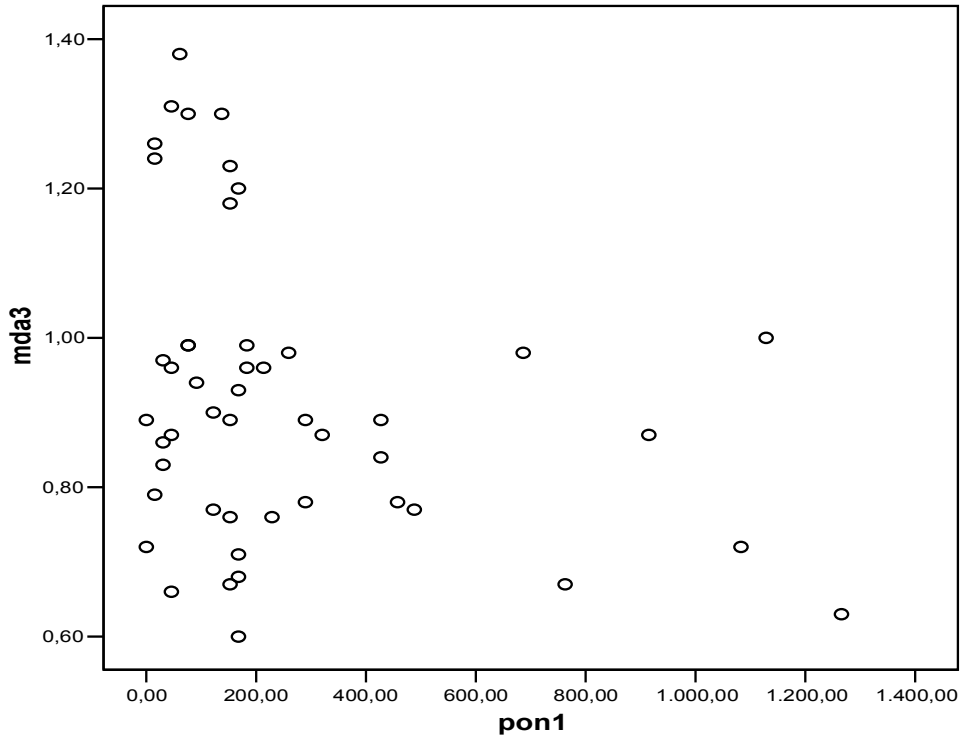
Serum HDL düzeyi nötropeni döneminde 30.15 ± 1.90 mg/dl, nötropenin düzeldiği dönemde 20.50 ± 1.64 mg/dl olup, nötropeni dönemi HDL düzeyleri, nötropenin düzeldiği dönem HDL düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksekti ($p=0$).

Serum LDH düzeyi nötropeni döneminde 280.12 ± 25.90 U/l, nötropenin düzeldiği dönemde 229.04 ± 14.58 U/l olup, nötropeni dönemi LDH düzeyleri, nötropenin düzeldiği dönem LDH düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksekti ($p=0.029$).

Serum ALP düzeyi nötropeni döneminde 81.88 ± 8.59 U/l, nötropenin düzeldiği dönemde 107.81 ± 7.47 U/l olup, nötropeni dönemi ALP düzeyleri, nötropenin düzeldiği dönem ALP düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşükdü ($p=0.020$).

4. KORELASYON BULGULARI

Çalışmamızda nötropeninin düzeldiği dönem MDA düzeyleriyle nötropeni dönemi PON1 düzeyleri arasında ($r=-0.30$, $p=0.039$) negatif; nötropeni dönemi PON1 düzeyleriyle nötropeninin düzeldiği dönem PON1 ($r=0.54$, $p=0$), nötropeni dönemi HDL ($r=0.29$, $p=0.05$), nötropeni dönemi ARE ($r=0.67$, $p=0$) ve nötropeninin düzeldiği dönem ARE düzeyleri arasında ($r=0.32$, $p=0.04$) pozitif; nötropeninin düzeldiği dönem PON1 düzeyleriyle nötropeninin düzeldiği dönem HDL ($r=0.47$, $p=0.001$) ve nötropeni dönemi ARE düzeyleri arasında ($r=0.37$, $p=0.02$) pozitif; nötropeni dönemi LDH düzeyleriyle nötropeninin düzeldiği dönem LDH düzeyleri arasında pozitif ($r=0.49$, $p=0$); nötropeni dönemi HDL düzeyleriyle nötropeninin düzeldiği dönem HDL düzeyleri arasında pozitif ($r=0.64$, $p=0$); nötropeni dönemi ARE düzeyleriyle de nötropeninin düzeldiği dönem ARE düzeyleri arasında ($r=0.67$, $p=0$) pozitif korelasyon saptandı.



Şekil 4. Nötropeni dönemi serum PON1 düzeyi ve nötropeninin düzeldiği dönem serum MDA düzeyi arasındaki negatif korelasyon

5. TARTIŞMA

Sistemik kemoterapi, bölgesel sağaltım metodları ile iyileştirilemeyen kanser hastalarının tedavisinde önemli rol oynar. Kombinasyon kemoterapileri ile kanserlerin büyük bölümünde iyileşme, birçoğunda da anlamlı remisyonlar sağlanmıştır (142). Çoğu kanser kemoterapisi rejimi hastaların hematopoetik sistemleri üzerinde olumsuz etkilere sahiptir. Bu kemik iliğı baskılanması anemi ve nötropeni gelişmesine böylelikle hastaların yaşam kalitelerinde düşmeye ve tedavi etkinliğinde azalmaya neden olabilir. Söz konusu anemi ve nötropeni tablolarının hastane bakımı ve tedavi maliyetleri de ciddi boyutlardadır. Nötropeni kemoterapi dozunu azaltmayı yada tedaviyi ertelemeyi gerektirebilir. Nötropenik hastalarda febril nötropeni gelişme olasılığı olup bu durum hayatı tehdit eden genellikle hastaneye başvurmayı ve intravenöz antibiyotik kullanımı gerektiren yaşam kalitesini düşüren bir durumdur (11). Bu nedenle kanser tedavilerinin kemik iliğini baskılayıcı etkilerinin önlenmesi ya da azaltılması kanser tedavisinin etkinliğini ve hastaların yaşam kalitesini artırmak açısından önemlidir. Bu durum varolan tedavi rejimlerinin toksik etkilerinin azaltılması veya yeni, daha az yan etkili hedefe yönelik tedavilerin geliştirilmesiyle mümkün olabilir. Doz azaltmayı ve ertelemeyi gerektiren toksik veya kemik iliğı baskılayıcı yan etkilerin azaltılması optimal dozu verebilmek açısından anahtar role sahiptir (12).

Filgrastim (rekombinant insan granülosit koloni stimüle edici faktör) uzun süredir kanserli hastalarda kemik iliğı baskılayıcı kemoterapilerle ilişkili nötropeniye azaltma amaçlı kullanılmaktadır (142). Güncel bilgiler G-CSF'lerin yalnızca kemik iliğı öncül hücrelerinden granülosit kolonilerinin oluşumunu artırmakla kalmayıp süperoksit anyonu üretimi gibi nötrofil fonksiyonlarını da artırdıklarını göstermektedir (79-81).

Noriyuki ve ark. (83)'nın İnsüline bağımlı olmayan diabetes mellitus hastaları ve aynı sayıda sağlıklı kontrol olgusunun dahil edildiğı çalışmalarında da G-CSF'lerin nötrofillerde artmış myeloperoksidaz aktivitesine neden olduğu ve kötü kontrollü diabet hastalarında nötrofillerin bozulmuş oksijene dayalı serbest radikal üretimini düzelttiğı saptanmıştır. Nötrofiller üzerindeki olumlu etkileri nedeniyle Kazanılmış immün yetmezlik sendromu, Miyelodisplastik sendrom ve Konjenital agranülositoz'da enfeksiyonların önlenmesi amacıyla kullanılan G-CSF'lerin bu

çalışma sonrasında kötü kontrollü diabetik hastalarda bozulmuş nötrofil serbest oksijen radikali üretimini iyileştirerek bakteriyel enfeksiyonlara bağlı mortalite ve morbiditeyi azaltmaya yardımcı olabileceği sonucuna varılmıştır (82).

Serbest radikaller bir veya birden çok çiftleşmemiş elektron taşıyan kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin atom veya moleküllerdir (36). Serbest oksijen radikalleri normal hücre metabolizması süresince devamlı olarak üretilmekte ve antioksidan savunma sistemi tarafından nötralize edilmektedir. Ancak SOR aşırı miktarda üretildiğinde veya antioksidan savunmada belirgin bir azalma olduğunda antioksidan savunma sistemi baskılanır ve oksidatif stres ortaya çıkar. Oksidatif stres karsinogenezin başlamasında kritik rol oynayan DNA hasarına, kromozomal sapmalara, tümör süpresör genlerde mutasyonlara, kontrol edilmeyen hücre bölünmelerine, genomik kararsızlıklara neden olarak tümör gelişimine yol açmaktadır (46).

Geçtiğimiz 20 yıl içinde MDA lipid peroksidasyonunun bir belirteci olarak kabul edilmiş olup çeşitli hastalıklarda düzeyleri ölçülüp değerlendirilmiştir. Kanser etyolojisinde lipid peroksidasyonu net bir örnek olarak değerlendirilebilir. Biyolojik örneklerdeki başlıca MDA kaynağı, poliansatüre yağ asitlerinin peroksidasyonudur. MDA stress durumlarında prostoglandin benzeri endoperoksitlerden köken alır (88). Bu durumda MDA lipid peroksidasyonunu gösteren bir biyomarker olup aynı zamanda kanser başlamasının da potansiyel nedenidir. Meme ve akciğer kanserli olgularda yüksek plazma MDA düzeyleri saptanmış ve MDA bu çalışmada HPLC ile tiyobarbitürik asit-MDA ayrıştırıldıktan sonra florometrik olarak ölçülmüştür (143). MDA'nın meme kanserinde oluşumu bir başka çalışmada da ortaya konmuş olup, MDA'nın ortalama değerlerinin arttığı ve gün içi değişkenliklerinin de daha güçlü olduğu saptanmıştır (144-146). Serviks kanseri olan olgularda sağlıklı bireylere göre daha yüksek MDA düzeyleri saptanmıştır (147-149). Mide kanserli hastaların plazmalarında hastalık evresiyle paralel şekilde MDA düzeylerinde artış saptanmıştır (150). Çeşitli çalışmalarda KLL hastalarında da yüksek plazma MDA düzeyleri görülmüştür (151). Malign melanom ve melanom dışı cilt kanserlerinde MDA-protein etkileşimi saptanmıştır (152).

İnsanlarda sentez ve sekresyonunun karaciğerde olduğu düşünülen PON1 inektisit olan parationun aktif metaboliti paraoksonu hidroliz etme yeteneğine sahip

olan bir serum esterazıdır. İnsan serum PON1'ı fiziksel olarak HDL ile bağlantılıdır(153, 154). Saflaştırılmış PON1, yaklaşık 43 kDa molekül ağırlığı olan glikolize bir proteindir (107, 155). PON1'in fizyolojik rolü tam olarak bilinmemekle birlikte lipid peroksidlerini hidrolize ederek LDL'yi toksik organofosfatlar gibi toksik ajanların oluşturabileceği oksidatif hücresel hasara karşı koruduğu düşünülmektedir (154, 156). PON1 karaciğer mikrozomlarındaki antioksidan sistemde de önemli role sahip bir enzimdir (157).

Paraoksonaz, polimorfizm göstermeyen ARE aktivitesine sahiptir. ARE aktivitesi PON1 aktivitesindeki değişikliklerden bağımsız olup asıl protein konsantrasyonunun göstergesidir (158). Sodyum klorürün artan konsantrasyonlarında PON1 aktivitesi artarken, ARE aktivitesi azalmaktadır (159). Birçok hastalıkta serum PON1 düzeyleri değişmekte ve oksidatif stres artmaktadır (9, 116, 160-162). Akcay ve arkadaşlarının pankreas ve mide kanserli hastaları içeren iki farklı çalışmada PON1 ile plazma lipoproteinleri arasındaki ilişki incelenmiş olup ilk çalışmada 20 pankreas kanseri tanısını alan hasta ile aynı yaş ve cinsiyette 20 sağlıklı kontrol grubunda VLDL, LDL, HDL, PON1 düzeyleri ölçülmüştür. Pankreas kanserli hastalarda HDL ve PON1 düzeylerinin kontrol grubundan düşük olduğu, LDL ve VLDL düzeylerinin ise kontrol grubundan farklı olmadığı saptanmıştır. İkinci çalışmada ise mide kanseri tanısı alan hastalar ile kontrol grubu karşılaştırıldığında benzer sonuçlar elde edilmiştir ve sonuç olarak pankreas ve mide kanserli hastalar ile sağlıklı kontrol grubu karşılaştırıldığında kanserli hastalarda HDL ve PON1 düzeylerinin düşük olduğu görülmüştür (118, 119). Elkıran ve arkadaşları da akciğer kanseri tanılı hastalarda serum PON1 düzeyi ve PON1/HDL oranının azaldığını saptamışlardır (36).

Nishikawa ve ark.(61)'nin yaptığı yaş ortalaması 10 olan toplam 27 olgunun dahil edildiği çalışmadaki ALL vakalarının tümünde hastalığın başlangıç döneminde yüksek serum SOR düzeyleri saptanmış ve indüksiyon kemoterapisi ile normal düzeye gerilemiştir. Tedaviyle parçalanmış lösemik blastların serbest radikalleri artırarak yüksek SOR düzeylerine neden olma olasılığına rağmen bu çalışmada tümör tarafından üretilen SOR'nin ALL tedavisine bağlı olandan fazla olduğu belirtilmektedir. Bu durum malign hücre parçalanması sonucu oluşan ürünlerin yeterli hidrasyonla böbrekler tarafından temizlenmesiyle de açıklanabilir(61-66).

Yaptığımız çalışmada yaş ortalamaları 56.12 ± 11.77 olan toplam 48 olgunun 25'i (%52) erkek, 23'ü (%48) kadındı. Olguların 29'unda (%60.4) metastaz varken 19'unda (%39.6) metastaz yoktu. Yüksek ateş olguların 20'sinde (%41.7) varken, 28'inde (%58.3) saptanmadı. Nötropeni dönemi MDA düzeyleri, nötropenin düzeldiği dönemdeki düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşükdü ($p=0.008$). Nötropeni dönemi PON1 ve ARE düzeyleri, nötropenin düzeldiği dönemdeki düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksekti (sırasıyla $p=0.017$ ve $p=0.003$). Nötropeni dönemi HDL düzeyleri, nötropenin düzeldiği dönemdeki düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksekti ($p=0$). Nötropeni dönemi ALP düzeyleri, nötropenin düzeldiği dönemdeki düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşükdü ($p=0.020$). Nötropeni dönemi LDH düzeyleri, nötropenin düzeldiği dönemdeki düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksekti ($p=0.029$).

Sonuç olarak birçok malign hastalığın patogeneğinde SOR'nin oluşturduğu oksidatif hasarın büyük rolü vardır. SOR kanser oluşumunu uyaran karsinojenlerin en önemlilerindedir. Artan bu oksidatif hasarlanmaya karşın organizma antioksidanlarla kendini korumaya çalışır. Bu çalışmada kemoterapi sonrası nötropeni gelişen olgularda nötropenik dönem ve filgrastim uygulaması ile nötropeni tablosunun tamamen ortadan kalktığı dönemler karşılaştırıldığında, nötropenin düzeldiği dönemde nötropeni dönemine göre oksidatif stres göstergesi olan MDA düzeylerinde artış saptanırken, antioksidan bir enzim olan PON1 ve ARE düzeylerinde ve ayrıca serum HDL düzeylerinde ise azalma olduğu görülmüştür. Endojen SOR kaynaklarının mitokondriler, sitokrom P450 metabolizması, peroksizomlar, inflamatuvar hücre aktivasyonu, nötrofiller, eozinofiller ve makrofajlar (53, 54), eksojen kaynakların ise genotoksik olmayan karsinojenler gibi çevresel faktörler olduğu göz önüne alındığında (55), yaptığımız bu çalışmayla nötropeni tablosunun düzelmesiyle birlikte artış gösteren SOR'nin tümör yükünden çok artan nötrofiller tarafından üretilen serbest oksijen radikallerine bağlı olduğu sonucuna varılmıştır.

Bulgularımızı tam olarak desteklemek için konuyla ilgili farklı çalışmaların yapılması yararlı olabilir.

6. KAYNAKLAR

1. Connolly JL, Schnitt SJ, Wang HH. Principles of cancer pathology. Kufe DW, Pollock RE, Weichselbaum RR. (editors). Cancer Medicine. London: Hamilton-BC Decker 2003: 487-502.
2. Gutteridge JM. Free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence. Free Radic Res Commun 1993; 19: 141-58.
3. Borek C. Free-radical processes in multistage carcinogenesis. Free Radic Res Commun 1991; 12: 745-50.
4. Khanzode SS, Muddeshwar MG, Khanzode SD, Dakhale GN. Antioxidant enzymes and lipid peroxidation in different stages of breast cancer. Free Radic Res 2004; 38: 81-85.
5. Borek C, Ong A, Mason H, Donahue L, Biaglow JE. Selenium and vitamin E inhibit radiogenic and chemically induced transformation in vitro via different mechanisms. Proc Natl Acad Sci 1986; 83: 1490-1494.
6. Blatter MC, James RW, Messmer S, Barja F, Pometta D. Identification of a distinct human high-density lipoprotein subspecies defined by a lipoprotein-associated protein, K-45. Identity of K-45 with paraoxonase. Eur J Biochem 1993; 211: 871-879.
7. Mackness MI, Arrol S, Durrington PN. Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low-density lipoprotein. FEBS Lett 1991; 286: 152-4.
8. Humbert R, Adler DA, Disteché CM, Hassett C, Omiecinski CJ, Furlong CE. The molecular basis of the human serum paraoxonase activity polymorphism. Nat Genet 1993; 3: 73-76.
9. Mackness B, Durrington PN, Mackness MI. Human serum paraoxonase. Gen Pharmacol 1998; 31: 329-336.
10. Choong NW, Mauer AM, Haraf DC, Ferguson MK, Sandler AB, Kesler KA, et al. Long-term outcome of a phase II study of docetaxel-based multimodality

chemoradiotherapy for locally advanced carcinoma of the esophagus or gastroesophageal junction. *Med Oncol*.

11. Siena S, Secondino S, Giannetta L, Carminati O, Pedrazzoli P. Optimising management of neutropenia and anaemia in cancer chemotherapy-advances in cytokine therapy. *Crit Rev Oncol Hematol* 2003; 48: 39-47.
12. Bal DG, Nixon DW, Foerster SB, Brownson RC. American Cancer Society Textbook of Clinical Oncology. 2nd ed. 1995: 40-63.
13. Thomas AE. Investigating Neutropenia. *Pediatrics and Child Health Symposium Haematology* 2007: 328-332.
14. Bodey GP, Buckley M, Sathe YS, Freireich EJ. Quantitative relationships between circulating leukocytes and infection in patients with acute leukemia. *Ann Intern Med* 1966; 64: 328-340.
15. Gillespie T, Masterton RG. Investigation of infection in the neutropenic patient with fever. *J Hosp Infect* 1998; 38: 77-91.
16. Freyer G, Ligneau B, Trillet-Lenoir V. Colony-stimulating factors in the prevention of solid tumors induced by chemotherapy in patients with febrile neutropenia. *Int J Antimicrob Agents* 1998; 10: 3-9.
17. Molineux G, Kinstler O, Briddell B. A new form of filgrastim with sustained duration in vivo and enhanced ability to mobilise PBPC in both mice and human. *Exp Hematol* 1999; 27: 1724-1734.
18. Welte K, Reiter A, Mempel K, Pfetsch M, Schwab G, Schrappe M, et al. A randomized phase-III study of the efficacy of granulocyte colony-stimulating factor in children with high-risk acute lymphoblastic leukemia. Berlin-Frankfurt-Munster Study Group. *Blood* 1996; 87: 3143-3150.
19. Chabner B. Anticancer drugs. De Vita VT, Hellman S, Rosenberg SA (editors). *Cancer: Principles and Practice in Oncology*. Philadelphia: Lippincott, 1993: 325-417.

20. Pizzo PA, Meyers J, Freifeld AG, Walsh T. Infection in the cancer patient. De Vita VT, Hellman S, Rosenberg SA (editors). *Cancer: Principles and Practice in Oncology*. Philadelphia: Lippincott, 1993: 2292–337.
21. Donnelly JP. Selective decontamination of the digestive tract and its role in antimicrobial prophylaxis. *J Antimicrob Chemother* 1993; 31: 813-29.
22. Gebbia V, Testa A, Valenza R, Borsellino N, Cipolla C, Cannata G, et al. A prospective evaluation of the activity of human granulocyte-colony stimulating factor on the prevention of chemotherapy-related neutropenia in patients with advanced carcinoma. *J Chemother* 1993; 5: 186-190.
23. Holland YF, Frei E, Bast RC. *Principles of Medical Oncology in Cancer Medicine*, Philadelphia 1993: 589–97.
24. Gulati SC, Bennett CL. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) as adjunct therapy in relapsed Hodgkin disease. *Ann Intern Med* 1992; 116: 177-182.
25. Lieschke GJ, Morstyn G. Role of G-CSF and GM-CSF in the prevention of chemotherapy-induced neutropenia. Merteismann R, Herrmann F (editors). *Haemopoietic Growth Factors in Clinical Applications*. New York: Marcel Dekker, 1992: 191–223.
26. Crawford J, Ozer H, Stoller R, Johnson D, Lyman G, Tabbara I, et al. Reduction by granulocyte colony-stimulating factor of fever and neutropenia induced by chemotherapy in patients with small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 1991; 325: 164-170.
27. Trillet-Lenoir V, Green J, Manegold C, Von Pawel J, Gatzemeier U, Lebeau B, et al. Recombinant granulocyte colony stimulating factor reduces the infectious complications of cytotoxic chemotherapy. *Eur J Cancer* 1993; 29: 319-324.
28. Trillet-Lenoir V, Green JA, Manegold C, Von Pawel J, Gatzemeier U, Lebeau B, et al. Recombinant granulocyte colony stimulating factor in the treatment of

small cell lung cancer: a long-term follow-up. *Eur J Cancer* 1995; 31: 2115-2116.

29. Roche H, Chevallier B, Chollet P. Lenograstim prevents morbidity from FEC-HD chemotherapy of inflammatory breast cancer. *Ann Oncol* 1994; 5: 91.
30. Pettengell R, Gurney H, Radford JA, Deakin DP, James R, Wilkinson PM, et al. Granulocyte colony-stimulating factor to prevent dose-limiting neutropenia in non-Hodgkin's lymphoma: a randomized controlled trial. *Blood* 1992; 80: 1430-6.
31. Zinzani PL, Martelli M, Tura S, Mandelli F. Granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) as adjunct therapy in relapsed-resistant high-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Haematologica* 1993; 78: 40-43.
32. Maher DW, Lieschke GJ, Green M, Bishop J, Stuart-Harris R, Wolf M, et al. Filgrastim in patients with chemotherapy-induced febrile neutropenia. A double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med* 1994; 121: 492-501.
33. Mayodormo JI, Rivera F, Diaz Puente MT. Decreasing morbidity and cost of treating febrile neutropenia by adding G-CSF and GM-CSF to standard antibiotic therapy: results of a randomized trial. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1993; 12: 437.
34. Anaissie EJ, Vartivarian S, Bodey GP, Legrand C, Kantarjian H, Abi-Said D, et al. Randomized comparison between antibiotics alone and antibiotics plus granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (Escherichia coli-derived in cancer patients with fever and neutropenia. *Am J Med* 1996; 100: 17-23.
35. American Society of Clinical Oncology. Recommendations for the use of hematopoietic CSF: evidence-based, clinical practice guidelines. *J Clin Oncol* 1994; 12: 2471-508.
36. Elkiran ET, Mar N, Aygen B, Gursu F, Karaoglu A, Koca S. Serum paraoxonase and arylesterase activities in patients with lung cancer in a Turkish population. *BMC Cancer* 2007; 7: 48.

37. McCord JM. Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem* 1993; 26: 351-357.
38. Clarkson PM, Thompson HS. Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 637-46S.
39. Halliwell B. Oxidative stress, nutrition and health. Experimental strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in humans. *Free Radic Res* 1996; 25: 57-74.
40. Nakazawa H, Genka C, Fujishima M. Pathological aspects of active oxygens/free radicals. *Jpn J Physiol* 1996; 46: 15-32.
41. Betteridge DJ. What is oxidative stress? *Metabolism* 2000; 49: 3-8.
42. Kang DH. Oxidative stress, DNA damage, and breast cancer. *AACN Clin Issues* 2002; 13: 540-549.
43. Jackson AL, Loeb LA. The contribution of endogenous sources of DNA damage to the multiple mutations in cancer. *Mutat Res* 2001; 477: 7-21.
44. Behrend L, Henderson G, Zwacka RM. Reactive oxygen species in oncogenic transformation. *Biochem Soc Trans* 2003; 31: 1441-1444.
45. Brenneisen P, Steinbrenner H, Sies H. Selenium, oxidative stress, and health aspects. *Mol Aspects Med* 2005; 26: 256-267.
46. Schuyer M, Berns EM. Is TP53 dysfunction required for BRCA1-associated carcinogenesis? *Mol Cell Endocrinol* 1999; 155: 143-152.
47. Maki A, Berezesky IK, Fargnoli J, Holbrook NJ, Trump BF. Role of [Ca²⁺]_i in induction of c-fos, c-jun, and c-myc mRNA in rat PTE after oxidative stress. *Faseb J* 1992; 6: 919-924.
48. Uysal M. Serbest radikaller, lipid peroksitleri ve organizmada prooksidan-antioksidan dengesini etkileyen koşullar. *Klinik Gelişim* 1998; 2: 336-341.

49. Kavas G. Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri. Türkiye Klinikleri Fizyoloji 1989; 9: 1-8.
50. Sander CS, Chang H, Hamm F, Elsner P, Thiele JJ. Role of oxidative stress and the antioxidant network in cutaneous carcinogenesis. *Int J Dermatol* 2004; 43: 326-335.
51. Hussain SP, Hofseth LJ, Harris CC. Radical causes of cancer. *Nat Rev Cancer* 2003; 3: 276-285.
52. Valko M, Morris H, Cronin MT. Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr Med Chem* 2005; 12: 1161-1208.
53. Inoue M, Sato EF, Nishikawa M, Park AM, Kira Y, Imada I, et al. Mitochondrial generation of reactive oxygen species and its role in aerobic life. *Curr Med Chem* 2003; 10: 2495-2505.
54. Conner EM, Grisham MB. Inflammation, free radicals, and antioxidants. *Nutrition* 1996; 12: 274-277.
55. Bachowski S, Kolaja KL, Xu Y, Ketcham CA, Stevenson DE, Walborg EF, et al. Role of oxidative stress in the mechanism of dieldrin's hepatotoxicity. *Ann Clin Lab Sci* 1997; 27: 196-209.
56. Ohkubo T, Tsuda M, Suzuki S, El Borai N, Yamamura M. Peripheral blood neutrophils of germ-free rats modified by in vivo granulocyte-colony-stimulating factor and exposure to natural environment. *Scand J Immunol* 1999; 49: 73-77.
57. Gutteridge JM, Halliwell B. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. *Trends Biochem Sci* 1990; 15: 129-35.
58. Slater TF. Free-radical mechanisms in tissue injury. *Biochem J* 1984; 222: 1-15.

59. Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, Fauler B, Uhlemann Y, Weiss DS, et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science* 2004; 303: 1532-1535.
60. Fuchs TA, Abed U, Goosmann C, Hurwitz R, Schulze I, Wahn V, et al. Novel cell death program leads to neutrophil extracellular traps. *J Cell Biol* 2007; 176: 231-241.
61. Nishikawa T, Okamoto Y, Kodama Y, Tanabe T, Shinkoda Y, Kawano Y. Serum derivative of reactive oxygen metabolites (d-ROMs) in pediatric hemato-oncological patients with neutropenic fever. *Pediatr Blood Cancer*; 55(1): 91-4.
62. Yamanaka G, Ishii C, Kawashima H, Oana S, Miyajima T, Hoshika A. Cerebrospinal fluid Diacron-Reactive Oxygen Metabolite levels in pediatric patients with central nervous system diseases. *Pediatr Neurol* 2008; 39: 80-84.
63. Katsabeki-Katsafli A, Kerenidi T, Kostikas K, Dalaveris E, Kiropoulos TS, Gogou E, et al. Serum vascular endothelial growth factor is related to systemic oxidative stress in patients with lung cancer. *Lung Cancer* 2008; 60: 271-276.
64. Nakayama K, Terawaki H, Nakayama M, Iwabuchi M, Sato T, Ito S. Reduction of serum antioxidative capacity during hemodialysis. *Clin Exp Nephrol* 2007; 11: 218-224.
65. Hirose H, Kawabe H, Komiya N, Saito I. Relations between serum reactive oxygen metabolites (ROMs) and various inflammatory and metabolic parameters in a Japanese population. *J Atheroscler Thromb* 2009; 16: 77-82.
66. La Torre F, Orlando A, Silipigni A, Giacobello T, Pergolizzi S, Aragona M. Increase of oxygen free radicals and their derivatives in chemo- and radiation treated neoplasm patients. *Minerva Med* 1997; 88: 121-126.
67. Gutteridge JM, Mitchell J. Redox imbalance in the critically ill. *Br Med Bull* 1999; 55: 49-75.

68. Gitto E, Karbownik M, Reiter RJ, Tan DX, Cuzzocrea S, Chiurazzi P, et al. Effects of melatonin treatment in septic newborns. *Pediatr Res* 2001; 50: 756-760.
69. Pascual C, Karzai W, Meier-Hellmann A, Oberhoffer M, Horn A, Bredle D, et al. Total plasma antioxidant capacity is not always decreased in sepsis. *Crit Care Med* 1998; 26: 705-709.
70. Reeves WG, Wilson RM. Infection, immunity, and diabetes. Alberti KGMM, DeFronzo RA, Kenn H, Zimmet P(editors). *International Textbook of Diabetes Mellitus*. New York: Wiley; 1992: 1165-1171.
71. Babior BM. Oxygen-dependent microbial killing by phagocytes (first of two parts). *N Engl J Med* 1978; 298: 659-668.
72. Sato N, Shimizu H, Shimomura Y, Uehara Y, Takahashi M, Kobayashi I. Reduced ability of neutrophils to produce active oxygen species in streptozotocin-induced diabetic rats. *Exp Clin Endocrinol* 1992; 99: 31-33.
73. Sato N, Shimizu H, Suwa K, Shimomura Y, Kobayashi I, Mori M. MPO activity and generation of active O₂ species in leukocytes from poorly controlled diabetic patients. *Diabetes Care* 1992; 15: 1050-1052.
74. Sato N, Shimizu H, Shimomura Y, Suwa K, Mori M, Kobayashi I. Mechanism of inhibitory action of ketone bodies on the production of reactive oxygen intermediates (ROIS) by polymorphonuclear leukocytes. *Life Sci* 1992; 51: 113-118.
75. Sato N, Kashima K, Shimizu H, Uehara Y, Shimomura Y, Mori M. Hypertonic glucose inhibits the production of oxygen-derived free radicals by rat neutrophils. *Life Sci* 1993; 52: 1481-1486.
76. Shah SV, Wallin JD, Eilen SD. Chemiluminescence and superoxide anion production by leukocytes from diabetic patients. *J Clin Endocrinol Metab* 1983; 57: 402-409.

77. Altomonte L, Ghirlanda G, Rebuzzi AG, Manna R, Negrini A, Greco AV. [Serum biliary acids in hepatic cirrhosis]. *Minerva Med* 1980; 71: 2483-2487.
78. Market M, Cech P, Frei J. Oxygen metabolism of phagocytosing human polymorphonuclear leukocytes in diabetes mellitus. *Blut* 1984; 49: 447-455.
79. Weisbart RH, Golde DW, Clark SC, Wong GG, Gasson JC. Human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor is a neutrophil activators. *Nature* 1985; 314: 361-363.
80. Sato N, Shimizu H. Granulocyte-colony stimulating factor improves an impaired bactericidal function in neutrophils from STZ-induced diabetic rats. *Diabetes* 1993; 42: 470-473.
81. McColl SR, Beauseigle D, Gilbert C, Naccache PH. Priming of the human neutrophil respiratory burst by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and tumor necrosis factor-alpha involves regulation at a post-cell surface receptor level. Enhancement of the effect of agents which directly activate G proteins. *J Immunol* 1990; 145: 3047-3053.
82. Sato N, Kashima K, Tanaka Y, Shimizu H, Mori M. Effect of granulocyte-colony stimulating factor on generation of oxygen-derived free radicals and myeloperoxidase activity in neutrophils from poorly controlled NIDDM patients. *Diabetes* 1997; 46: 133-137.
83. Noriyuki S, Koji K, Yoshito T, Hiroyuki S, Masatomo M. Effect of Granulocyte-Colony Stimulating Factor on Generation of Oxygen-Derived Free Radicals and Myeloperoxidase Activity in Neutrophils From Poorly Controlled NIDDM Patients.
84. McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med* 1985; 312: 159-163.
85. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 1982; 47: 412-426.

86. Frank L, Massaro D. Oxygen toxicity. *Am J Med* 1980; 69: 117-126.
87. Niki E, Yoshida Y, Saito Y, Noguchi N. Lipid peroxidation: mechanisms, inhibition, and biological effects. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 338: 668-676.
88. Pryor WA, Stanley JP. Letter: A suggested mechanism for the production of malonaldehyde during the autoxidation of polyunsaturated fatty acids. Nonenzymatic production of prostaglandin endoperoxides during autoxidation. *J Org Chem* 1975; 40: 3615-3617.
89. Allen RG, Tresini M. Oxidative stress and gene regulation. *Free Radic Biol Med* 2000; 28: 463-499.
90. Abuja PM, Albertini R. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clin Chim Acta* 2001; 306: 1-17.
91. Sun Y. Free radicals, antioxidant enzymes, and carcinogenesis. *Free Radic Biol Med* 1990; 8: 583-599.
92. Morel Y, Barouki R. Repression of gene expression by oxidative stress. *Biochem J* 1999; 342: 481-496.
93. Akkuş İ. Serbest oksijen radikalleri ve fizyopatolojik etkileri. Konya: Mimoza Basım Yayın ve Dağıtım, 1995: 1-20.
94. Zimmermann KC, Bonzon C, Green DR. The machinery of programmed cell death. *Pharmacol Ther* 2001; 92: 57-70.
95. Kennedy M, Bruninga K, Mutlu EA, Losurdo J, Choudhary S, Keshavarzian A. Successful and sustained treatment of chronic radiation proctitis with antioxidant vitamins E and C. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 1080-1084.

96. Aldridge WN. Serum esterases. II. An enzyme hydrolysing diethyl p-nitrophenyl phosphate (E600) and its identity with the A-esterase of mammalian sera. *Biochem J* 1953; 53: 117-124.
97. Geldmacher-von Mallinckrodt M, Petenyi M, Flugel M, Burgis H, Dietzel B, Metzner H, et al. [On the specificity of human serum paraoxonase (author's transl)]. *Hoppe Seylers Z Physiol Chem* 1973; 354: 337-340.
98. Suchocka Z, Swatowska J, Pachecka J, Suchocki P. RP-HPLC determination of paraoxonase 3 activity in human blood serum. *J Pharm Biomed Anal* 2006; 42: 113-9.
99. Gülcü F, Gürsu F. The standardization of paraoxonase and arylesterase activity measurements. *Turkish J Biochem* 2003; 28: 45-49.
100. La Du BN, Eckerson HW. The polymorphic paraoxonase/arylesterase isozymes of human serum. *Fed Proc* 1984; 43: 2338-2341.
101. Karakaya A, Suzen S, Sardas S, Karakaya AE, Vural N. Analysis of the serum paraoxonase/arylesterase polymorphism in a Turkish population. *Pharmacogenetics* 1991; 1: 58-61.
102. Mallinckrodt M, Geldmacher V, Hommel G, Dumbach J. On the genetics of the human serum paraoxonase. *Hum Genet* 1979; 50: 313-326.
103. Sutherland WH, Walker RJ, de Jong SA, van Rij AM, Phillips V, Walker HL. Reduced postprandial serum paraoxonase activity after a meal rich in used cooking fat. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 1340-1347.
104. Biasioli S, Schiavon R, Petrosino L, De Fanti E, Cavalcanti G, Battaglia P, et al. Paraoxonase activity and paraoxonase 1 gene polymorphism in patients with uremia. *Asaio J* 2003; 49: 295-299.
105. van der Gaag MS, van Tol A, Scheek LM, James RW, Urgert R, Schaafsma G, et al. Daily moderate alcohol consumption increases serum paraoxonase

- activity; a diet-controlled, randomised intervention study in middle-aged men. *Atherosclerosis* 1999; 147: 405-410.
106. Kleemola P, Freese R, Jauhiainen M, Pahlman R, Alfthan G, Mutanen M. Dietary determinants of serum paraoxonase activity in healthy humans. *Atherosclerosis* 2002; 160: 425-432.
 107. Gan KN, Smolen A, Eckerson HW, La Du BN. Purification of human serum paraoxonase/arylesterase. Evidence for one esterase catalyzing both activities. *Drug Metab Dispos* 1991; 19: 100-106.
 108. Watson AD, Berliner JA, Hama SY, La Du BN, Faull KF, Fogelman AM, et al. Protective effect of high density lipoprotein associated paraoxonase. Inhibition of the biological activity of minimally oxidized low density lipoprotein. *J Clin Invest* 1995; 96: 2882-2891.
 109. Seres I, Paragy G, Deschene E, Fulop Jr T, Khalil A. Study of factors influencing the decreased HDL associated PON1 activity with aging. *Experimental gerontology* 2004; 39: 59-66.
 110. Geldmacher-von Mallinckrodt M, Diepgen TL, Duhme C, Hommel G. A study of the polymorphism and ethnic distribution differences of human serum paraoxonase. *Am J Phys Anthropol* 1983; 62: 235-241.
 111. Fere N, Camps J, Fernandez-Balart J, Arija V, Murphy M.M, Ceruello S, et al. Regulation of serum paraoxonase activity by genetic nutritional and lifestyle factors in the general population. *Clin Chemistry* 2003; 49: 1491-1497.
 112. Ozols J. Isolation and complete covalent structure of liver microsomal paraoxonase. *Biochem J* 1999; 338: 265-272.
 113. Vlachos GD, Bartzeliotou A, Schulpis KH, Partsinevelos GA, Lazaropoulou C, Papadima C, et al. Maternal-neonatal serum paraoxonase 1 activity in relation to the mode of delivery. *Clin Biochem* 2006; 39: 923-928.

114. Costa L, Vitalone A, Cole T B, Furlong C E. Modulation paraoxonase (PON1) activity. *Biochemical Pharmacology* 2004.
115. Azarsız E, Sönmez EY. Paraoksonaz ve klinik önemi. *Türk Biyokimya Dergisi* 2000; 25: 109-119.
116. Kondo I, Yamamoto M. Genetic polymorphism of paraoxonase 1 (PON1) and susceptibility to Parkinson's disease. *Brain Res* 1998; 806: 271-273.
117. Weber WW. Influence of heredity on human sensitivity to environmental chemicals. *Environ Mol Mutagen* 1995; 25: 102-114.
118. Akcay MN, Yilmaz I, Polat MF, Akcay G. Serum paraoxonase levels in gastric cancer. *Hepatogastroenterology* 2003; 50: 273-275.
119. Akcay MN, Polat MF, Yilmaz I, Akcay G. Serum paraoxonase levels in pancreatic cancer. *Hepatogastroenterology* 2003; 50 275-277.
120. Seber O. Brons kanserlerinde Brons-Lavaj Alkalen fosfataz düzeylerinin tanı değeri. *GATA Bülteni* 1984; 26: 579-586.
121. Timperley WR. Alkaline-phosphatase-secreting tumour of lung. *Lancet* 1968; 2: 356.
122. Tartter PI, Slater G, Gelernt I, Aufses AH, Jr. Screening for liver metastases from colorectal cancer with carcinoembryonic antigen and alkaline phosphatase. *Ann Surg* 1981; 193: 357-360.
123. Aydınol B. Alkalen Fosfatazların çoklu yapıları; genetik ifade edilmeleri ve doku özel modifikasyonu. *Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 1987; 14/1: 327-381.
124. Akız H, Çolakoglu S, Karayaylalı I, Tetiker T, Akın O, Ergün Y. Karaciğer hastalıklarında Gamma glutamil transpeptidaz ile Alkalen Fosfataz korelasyonu. *Ç.Ü. Tıp Fakültesi Dergisi* 1990; 4: 434-438.

125. Bentouati L, Baboli MS, Hachem H, Hamza M, Canal P, Soula G. Hyperphosphatasemia related to three intestinal alkaline phosphatase isoforms: biochemical study. Clin Chim Acta 1990; 193: 93-102.
126. Gözen B. Aktinomisin D'nin civciv embriyosu üzerine olan etkilerin incelenmesi. Doktora Tezi, Adana: Çukurova Üniversitesi, 1982.
127. Hamilton B.A, Hawrylak K, Stinson R.A. Alkaline phosphatase releasing activity in human tissues. Clin Chim Acta 1989; 186: 249-254.
128. Kim E.E, Wyckoff H.W. Structure of Alkaline phosphatases. Clin Chim Acta 1989; 186: 175-188.
129. Burtis CA, Ashwood ER. Klinik Kimyada Temel İlkeler. Ankara: Palme Yayıncılık, 2005: 332-337.
130. Franco R.S. Proteins, Ferritin. Kaplan L.A, Pasce A.J.(editors).Clin Chem : Theory, Analysis and Correlation.Toronto: The C.Mosby Company, 1984: 1268-1326.
131. Beers MH, Berkow R (editors).The Merck Manual of Diagnosis and Therapy.17th ed: Merck&Co, 2002: 1002-1015, 2547.
132. Yamaç K. Hodgkin Dışı Lenfoma. İliçin G, Biberoğlu K, Süleymanlar G, Ünal S(editörler).İç Hastalıkları. Ankara: Güneş Kitabevi, 2003: 1913-1928.
133. Foon KA, Fisher RI. Lymphomas. Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TJ (editors).Williams Hematology.6th ed.New York: Mc Graw-Hill Companies, 2001: 1237-1262.
134. Baumann H, Gauldie J. The acute phase response. Immunol Today 1994; 15: 74-80.
135. Kushner I.The phenomenon of the acute phase response.Ann NY Acad Sci 1982; 389: 339.

136. Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med* 1999; 340: 448-454.
137. Hack CE, Wolbink GJ, Schalkwijk C, Speijer H, Hermens WT, van den Bosch H. A role for secretory phospholipase A2 and C-reactive protein in the removal of injured cells. *Immunol Today* 1997; 18: 111-115.
138. Rifai N, Tracy RP, Ridker PM. Clinical efficacy of an automated high-sensitivity C-reactive protein assay. *Clin Chem* 1999; 45: 2136-2141.
139. Rifai N, Ridker PM. High-sensitivity C-reactive protein: a novel and promising marker of coronary heart disease. *Clin Chem* 2001; 47: 403-411.
140. Roberts WL, Sedrick R, Moulton L, Spencer A, Rifai N. Evaluation of four automated high-sensitivity C-reactive protein methods: implications for clinical and epidemiological applications. *Clin Chem* 2000; 46: 461-468.
141. Wasowicz W, Neve J, Peretz A. Optimized steps in fluorometric determination of thiobarbituric acid-reactive substances in serum: importance of extraction pH and influence of sample preservation and storage. *Clin Chem* 1993; 39: 2522-2526.
142. Gonenc A, Ozkan Y, Torun M, Simsek B. Plasma malondialdehyde (MDA) levels in breast and lung cancer patients. *J Clin Pharm Ther* 2001; 26: 141-144.
143. Yagi K. A simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochem Med* 1976; 15: 212-216.
144. Akbulut H, Akbulut KG, Icli F, Buyukcelik A. Daily variations of plasma malondialdehyde levels in patients with early breast cancer. *Cancer Detect Prev* 2003; 27: 122-126.
145. Gonca Akbulut K, Gonu I B, Akbulut H. Differential effects of pharmacological doses of melatonin on malondialdehyde and glutathione levels in young and old rats. *Gerontology* 1999; 45: 67-71.

146. Kolanjiappan K, Manoharan S, Kayalvizhi M. Measurement of erythrocyte lipids, lipid peroxidation, antioxidants and osmotic fragility in cervical cancer patients. *Clin Chim Acta* 2002; 326: 143-149.
147. Cynamon HA, Isenberg JN, Nguyen CH. Erythrocyte malondialdehyde release in vitro: a functional measure of vitamin E status. *Clin Chim Acta* 1985; 151: 169-176.
148. Manju V, Kalaivani Sailaja J, Nalini N. Circulating lipid peroxidation and antioxidant status in cervical cancer patients: a case-control study. *Clin Biochem* 2002; 35: 621-625.
149. Bakan E, Taysi S, Polat MF, Dalga S, Umudum Z, Bakan N, et al. Nitric oxide levels and lipid peroxidation in plasma of patients with gastric cancer. *Jpn J Clin Oncol* 2002; 32: 162-6.
150. Bakan N, Taysi S, Yilmaz O, Bakan E, Kuskay S, Uzun N, et al. Glutathione peroxidase, glutathione reductase, Cu-Zn superoxide dismutase activities, glutathione, nitric oxide, and malondialdehyde concentrations in serum of patients with chronic lymphocytic leukemia. *Clin Chim Acta* 2003; 338: 143-149.
151. Sander CS, Hamm F, Elsner P, Thiele JJ. Oxidative stress in malignant melanoma and non-melanoma skin cancer. *Br J Dermatol* 2003; 148: 913-922.
152. Mackness MI, Mackness B, Durrington PN, Connelly PW, Hegele RA. Paraonase: biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoproteins. *Curr Opin Lipidol* 1996; 7: 69-76.
153. Primo-Parmo SL, Sorenson RC, Teiber J, La Du BN. The human serum paraonase/arylesterase gene (PON1) is one member of a multigene family. *Genomics* 1996; 33: 498-507.
154. Eckerson HW, Romson J, Wyte C, La Du BN. The human serum paraonase polymorphism: identification of phenotypes by their response to salts. *Am J Hum Genet* 1983; 35: 214-227.

155. La Du BN, Aviram M, Billecke S, Navab M, Primo-Parmo S, Sorenson RC, et al. On the physiological role(s) of the paraoxonases. *Chem Biol Interact* 1999; 119-120: 379-388.
156. Ferre N, Camps J, Cabre M, Paul A, Joven J. Hepatic paraoxonase activity alterations and free radical production in rats with experimental cirrhosis. *Metabolism* 2001; 50: 997-1000.
157. Eckerson HW, Wyte CM, La Du BN. The human serum paraoxonase/arylesterase polymorphism. *Am J Hum Genet* 1983; 35: 1126-1138.
158. Regnstrom J, Nilsson J, Tornvall P, Landou C, Hamsten A. Susceptibility to low-density lipoprotein oxidation and coronary atherosclerosis in man. *Lancet* 1992; 339: 1183-1186.
159. Mackness MI, Harty D, Bhatnagar D, Winocour PH, Arrol S, Ishola M, et al. Serum paraoxonase activity in familial hypercholesterolaemia and insulin-dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis* 1991; 86: 193-199.
160. Ayub A, Mackness MI, Arrol S, Mackness B, Patel J, Durrington PN. Serum paraoxonase after myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 330-335.
161. Weber WW. Influence of heredity on human sensitivity to environmental chemicals. *Environ Mol Mutagen* 1995; 25: 102-114.

7. ÖZGEÇMİŞ

1977 yılında Elazığ'da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Elazığ'da tamamladım. 1995 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi'ni kazandım ve 2001 yılında aynı üniversiteden mezun oldum. 2006 yılı Kasım ayında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları AD'da ihtisas eğitimime başladım. Halen araştırma görevlisi olarak görevime devam etmekteyim. Yabancı dilim İngilizce'dir.