

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**BENZO(A)PİREN VERİLEN RATLARDA E VİTAMİNİ VE
SELENYUMUN KAN VE DOKULARDA LİPİT
PEROKSİDASYONU VE BAZI ANTİOKSİDAN ENZİMLER
ÜZERİNE ETKİLERİ**

DOKTORA TEZİ

Meltem KIZIL

ELAZIĞ – 2007

ONAY SAYFASI

.....

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Yüksek Lisans/Doktora Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

.....

..... Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans/Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

.....

Danışman

Yüksek Lisans/Doktora Sınavı Jüri Üyeleri

.....

.....

.....

.....

.....

TEŐEKKÜR

Bu çalıőmayı değerli katkılarıyla yönlendiren ve yardımlarını esirgemeyen hocam sayın Doç. Dr. Mehmet ÇAY, yine çalıőmam sırasında büyük desteklerini gördüğüm hocam sayın Prof. Dr. Mesut AKSAKAL, Prof. Dr. Gıyasettin BAYDAŐ, mesai arkadaşım Arő. Gör. Dr. Rauf YÜCE, Mustafa TAMSER, çalıőmam sırasında her türlü desteklerini esirgemeyen F.Ü. Tıp Fakültesi Patoloji A.B.D. Öğretim Üyesi sayın Prof. Dr. M. Reőat ÖZERCAN, eşim Arő. Gör. Dr. Ömer KIZIL ve kız kardeşim Mehtap Yüce'ye değerli katkılarından dolayı teőekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	4
3. GİRİŞ	7
3.1. Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar.....	10
3.1.1. 3.1.1 Benzo(a)piren.....	10
3.1.1.1. Benzo(a)piren Metabolizması.....	11
3.1.1.2. Benzo(a)piren Genel Etkileri.....	13
3.2. Kanser ve Genel Özellikleri.....	14
3.2.1. Kanser Oluşum Mekanizması.....	15
3.3. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar.....	18
3.3.1.Serbest Radikaller.....	18
3.3.1.1. Süperoksit (O_2^-) Radikali.....	20
3.3.1.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2) Radikali.....	20
3.3.1.3. Hidroksil Radikali (OH^-).....	21
3.3.1.4. Singlet Oksijen.....	21
3.3.2. Lipit Peroksidasyonu.....	21
3.3.3. Lipid Peroksidasyonu ve Serbest Radikallerin Kanser Oluşumundaki Rolü.....	24
3.3.4. Antioksidanlar.....	25
3.3.4.1.Enzimatik Antioksidanlar.....	27
3.3.4.1.1. Süperoksit Dismutaz.....	27
3.3.4.1.2. Katalaz.....	27
3.3.4.1.3. Glutasyon Peroksidaz.....	28
3.3.4.1.4. Glutasyon Redüktaz.....	29
3.3.4.2. Enzimsel Olmayan Antioksidanlar.....	30
3.3.4.2.1. E Vitamini.....	30
3.3.4.2.1.1. E Vitamininin Emilim, Dağılım ve Atılımı.....	31
3.3.4.2.1.2. E Vitamininin Fizyolojik Fonksiyonları.....	32
3.3.4.2.1.3. E Vitamini Yetersizliği ve Fazlalığı.....	35
3.3.4.2.2. Selenyum.....	36
3.3.4.2.2.1. Selenyumun Emilim, Taşınması ve Atılımı.....	37

3.3.4.2.2.2. Selenyumun Fizyolojik Fonksiyonları.....	37
3.3.4.2.2.3. Selenyum Yetersizliği ve Fazlalığı.....	38
3.3.4.2.3. E Vitamini, Selenyum ve BaP.....	40
4.GEREÇ VE YÖNTEM	44
4.1. Yöntem	45
4.1.1. Kan Örneklerinin Alınması.....	45
4.1.2. Doku Örneklerinin Alınması.....	46
4.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	47
4.2. Metotlar.....	47
4.2.1. Doku ve Plazmada Lipid Peroksidasyon Tayini.....	47
4.2.2. Doku ve Eritrosit Glutasyon Peroksidaz Tayini.....	47
4.2.3. Doku ve Eritrosit Redükte Glutasyon Düzeyinin Tayini.....	48
4.2.4. Eritrosit Katalaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi.....	48
4.2.5. Dokuda Katalaz Enzim Aktivitesinin Tayini.....	48
4.2.6. Protein Konsantrasyonlarının Belirlenmesi.....	49
4.2.7. Histolojik Kesitlerin Hazırlanması.....	49
4.3. İstatistik Analizler.....	50
5. BULGULAR	51
5.1. Plazma MDA düzeyleri.....	51
5.2. Karaciğer MDA düzeyleri	52
5.3. Eritrosit GSH düzeyleri	53
5.4. Karaciğer GSH düzeyleri.....	54
5.5. Eritrosit GSH-Px düzeyleri	55
5.6. Karaciğer GSH-Px düzeyleri.....	56
5.7. Eritrosit CAT düzeyleri.....	57
5.8. Karaciğer CAT düzeyleri.....	58
5.9. Bap Uygulamasına Bağlı Olarak Dokuların Histolojik Yapısındaki Değişimler.....	60
6. TARTIŞMA	65
7. KAYNAKLAR	81
8. ÖZGEÇMİŞ	95

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Ratlara verilen yem içeriği.....	44
Tablo 2. Tüm Gruplarda Plazma ve Dokuda Düzeyleri Belirlenen Antioksidan Enzimler ve LPO Sonuçları (Mean \pm SE).....	59

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. BaP'in metabolik aktivasyonu.....	12
Şekil 2. α - tokoferolün kimyasal yapısı.....	30
Şekil 3. Plazma MDA düzeyleri.....	51
Şekil 4. Karaciğer MDA düzeyleri	52
Şekil 5. Eritrosit GSH düzeyleri	53
Şekil 6. Karaciğer GSH düzeyleri	54
Şekil 7. Eritrosit GSH-Px düzeyleri	55
Şekil 8. Karaciğer GSH-Px düzeyleri	56
Şekil 9. Eritrosit CAT düzeyleri	57
Şekil 10. Karaciğer CAT düzeyleri.....	58
Şekil 11. Ratların normal akciğer dokusu	60
Şekil 12. BaP grubundaki ratların akciğer dokusunda adenokarsinom.....	61
Şekil 13. BaP grubundaki ratların akciğer dokusunda adenokarsinom.....	61
Şekil 14a. BaP grubundaki ratların akciğer dokusunda karsinoid.....	62
Şekil 14b. BaP grubundaki ratların akciğer dokusunda adenokarsinom.....	62
Şekil 15. Ratların normal ince bağırsak dokusu.....	63
Şekil 16. BaP grubundaki ratların ince bağırsak mezosunda lenfangiom.....	63
Şekil 17a. BaP grubundaki ratların ovaryumunda leiomyom.....	64
Şekil 17b. BaP grubundaki ratların ovaryumunda leiomyom.....	64

KISALTMALAR

RNS: Reaktif Nitrojen Türleri

BaP: Benzo (a) piren

LPO: Lipid Peroksidasyon

GSH-Px: Glutasyon Peroksidaz

GSH: İndirgenmiş Glutasyon

CAT: Katalaz

Se: Selenyum

MDA: Malondialdehid

PAH: Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar

SOD: Süperoksit Dismutaz

MFO: Mikrozomal Karışık Fonksiyonlu Oksidazlar

AHH: Aryl Hidrokarbon Hidroksilaz

CYP: Citokrom P-450

AhR: Aromatik Hidrokarbon Reseptörü

ARNT: Aryl Reseptör Nükleus Translokator

DRE: Dioksinen Sorumlu Enzim

BPDE: Diol Epoksitleri

ROS: Reaktif Oksijen Türleri

PIP: Fosfatidil İnozitol

H₂O₂: Hidrojen Peroksit

OH: Hidroksil Radikali

PUFA (Poliunsaturated Faty Acid): Çoklu Doymamış Yağ Asidi

LOOH: Lipid Hidroperoksitleri

1. ÖZET

Bu çalışmada, benzo(a)piren (BaP) verilen ratlarda E vitamini ve selenyumun kan ve dokularda lipit peroksidasyonu ve bazı antioksidan enzimler üzerine etkileri araştırıldı. Bu amaçla, 100 Wistar Albino türü dişi ratlardan beş grup oluşturuldu. Bu gruplar; 1. kontrol, 2. BaP, 3. BaP + E vitamini, 4. BaP + selenyum, 5. BaP + E vitamini + selenyum olarak ayrıldı.

Grup 1: plasebo serum fizyolojik,

Grup 2: 10,08 mg tek doz BaP,

Grup 3: tek doz BaP + 100 mg/kg E vitamini gün aşırı 12 hafta süreyle uygulandı.

Grup 4: tek doz BaP + 0,8 mg/kg selenyum gün aşırı 12 hafta süreyle uygulandı.

Grup 5: tek doz BaP + 100 mg/kg E vitamini + 0,8 mg/kg selenyum gün aşırı 12 hafta süreyle uygulandı.

Çalışma sonunda ratlardan alınan kan ve doku örneklerinde MDA, GSH, GSH-Px, katalaz düzeylerine bakıldı. Elde edilen sonuçlara göre, plazma lipit peroksidasyon (MDA) düzeyleri 2. grupta BaP etkisine bağlı olarak önemli düzeyde ($p<0.001$) artarken, 2. gruba nazaran 3. grupta ($p<0.01$) E vitamini, 4. grupta selenyum ($p<0.001$) ve 5. grupta E vitamini + selenyumun etkisine bağlı olarak önemli düzeyde ($p<0.001$) azalmıştır. Karaciğer MDA düzeyleri bakımından 2. gruba nazaran 3. grupta ve 5. grupta önemli düzeyde ($p<0.001$) azalmıştır. 4. grupla kıyaslandığında, 5. grupta önemli düzeyde ($p<0.001$) azalma tespit edilmiştir.

Eritrosit GSH, GSH-Px, katalaz düzeylerinin 2. grupta önemli derecede ($p<0.001$) azaldığı tespit edilmiştir. 2. grupta kıyaslandığında; eritrosit GSH düzeylerindeki artışların 3. grupta ($p<0.001$), 4. grupta ($p<0.05$) ve 5. grupta ($p<0.01$) önemli düzeyde olduğu saptanmıştır. Eritrosit GSH-Px düzeylerinde 3. 4. ve 5. gruplarda E vitamini ve selenyumun etkisiyle önemli artış ($p<0.001$) gözlenmiştir. 2. grupta kıyaslandığında, 3. grupta eritrosit katalaz düzeylerinde önemli ($p<0.05$) artış saptanmıştır.

Karaciğer GSH, GSH-Px ve katalaz düzeyleri BaP etkisine bağlı olarak 2. grupta önemli derecede ($p<0.001$) azalmıştır. 2. grupta kıyaslandığında; karaciğer GSH düzeylerinde 3. grupta ($p<0.01$), 4. ve 5. grupta ($p<0.001$) önemli artışlar olduğu tespit edilmiştir. 2. grupta kıyaslandığında; karaciğer GSH-Px düzeylerinde 3. ve 5. grupta ($p<0.001$) önemli artışlar olduğu tespit edilmiştir. 4. grupta kıyaslandığında 5. grupta önemli ($p<0.05$) artış olduğu gözlenmiştir. 2. grupta kıyaslandığında, karaciğer katalaz düzeyinde 3. grupta ($p<0.001$) ve 5. grupta ($p<0.05$) önemli artışlar olduğu saptanmıştır.

Çalışma sonucunda, BaP'ın tek başına uygulandığı 2. grupta özellikle akciğer (adenokarsinom), bağırsak (lenfangiom) ve ovaryum (leimyom) dokularında kanser oluşumu gözlenmiştir. E vitamini ve selenyum uygulanan diğer gruplarda herhangi bir kanser hücresi gelişmemiştir.

Çalışma bulgularına göre, BaP'ın plazma ve karaciğer lipit peroksidasyonunu artırdığı, eritrosit ve karaciğerdeki antioksidan enzim düzeylerini azalttığı saptanmıştır. Diğer yandan E vitamini ve selenyum, plazma ve karaciğer MDA düzeylerini azaltırken, eritrosit ve karaciğer GSH, GSH-Px ve katalaz düzeylerini artırmıştır.

Sonuç olarak, BaP'ın antioksidan enzimler ve lipit peroksidasyon üzerindeki olumsuz etkilerini düzeltmede, ayrıca kanserojen etkinliğini nlemede E vitamini, selenyum, **zellikle her ikisinin birlikte** etkili olduğu gzlenmiştir.

Anahtar kelimeler: BaP, E vitamini, Selenyum, Lipit peroksidasyon, Antioksidan enzimler.

2. ABSTRACT

The effects of vitamin E and selenium blood and tissues lipid peroxidation and some antioxidant enzymes levels in rats exposed to benzo(a)pyrene was investigated. For this purpose, 100 Wistar Albino female rats were divided in 5 groups, as group 1 (Control), group 2 (BaP), group 3 (BaP + vitamin E), group 4 (BaP + selenium), and group 5 (BaP + vitamin E + selenium).

Group 1: only placebo isotonic sodium chloride,

Group 2: one dose 10,08 mg BaP,

Group 3: single dose of 10,08 mg BaP + 100 mg/kg vitamin E were injected in every other day during the twelve week study period.

Group 4: single dose of 10,08 mg BaP + 0,8 mg/kg selenium were injected in every other day during the twelve week study period.

Group 5: single dose of 10,08 mg BaP + 100 mg/kg vitamin E + 0,8 mg/kg selenium were injected in every other day during the twelve week study period.

Plasma and liver lipid peroxidation (MDA) levels were significantly increased ($p < 0.001$) because of the effects of BaP in the group 2. The lipid peroxidation level was significantly decreased in the groups 3 ($p < 0.01$), 4 and 5 ($p < 0.001$) related to effects of vitamin E and selenium compared to group 2. Liver peroxidation level was significantly decreased in the groups 3 and 5 ($p < 0.001$) compared to group 2. Liver peroxidation level was significantly decreased in the group 5 ($p < 0.001$) compared to group 4.

Erythrocyte GSH, GSH-Px and catalase levels were significantly decreased ($p < 0.001$) in the group 2. The increase of erythrocyte GSH level was significant in the group 3 ($p < 0.001$), group 4 ($p < 0.05$) and group 5 ($p < 0.01$)

compared to group 2. Erythrocyte GSH-Px level was significantly increased ($p < 0.001$) in the groups 3, 4 and 5, depending in the effect of vitamin E and selenium, compared to group 2. Erythrocyte catalase level was significantly increased in the group 3 ($p < 0.05$), compared to group 2.

The liver GSH, GSH-Px and catalase levels were significantly decreased ($p < 0.001$) because of the effect of BaP in the group 2. The increased liver GSH level was statistically significant in the group 3 ($p < 0.01$), group 4 and 5 ($p < 0.001$), depending in the effect of vitamin E and selenium effects, in the compared to group 2. The increased liver GSH-Px level was statistically significant in the group 3 and 5 ($p < 0.001$) in the compared to group 2. Liver GSH-Px level was significantly increased in the group 5 ($p < 0.05$), compared to group 4. The increased catalase levels in the liver were statistically significant in the group 3 ($p < 0.001$) and group 5 ($p < 0.05$) compared to group 2.

The cancer development was observed especially in lung, intestine and ovarium tissues in the group 2 related to effects of BaP. Cancer was not observed in the other groups treated with vitamin E and selenium. The results of the current study showed that administration of BaP caused an increase in the levels of plasma and liver lipid peroxidation and decrease in the levels of antioxidant enzymes in the erythrocyte and liver. BaP can cause the cancer development. On the other hand, administration of vitamin E and selenium decreased the levels of plasma and liver MDA, while increasing the levels of erythrocyte and liver GSH, GSH-Px and catalase.

It is concluded that; it was observed that vitamin E and selenium were effective in preventing the negative effects of BaP on the lipid peroxidation, antioxidant enzymes and its carcinogenic effects.

Key words: BaP, Vitamin E, Selenium, Lipid peroxidation, Antioxidant enzymes.

3. GİRİŞ

İnsan ve hayvanlarda fizyolojik fonksiyonların devam edebilmesi için, canlılardaki iç ortamın değişmez tutulması (homeostazis) gereklidir. Vücut fonksiyonlarının canlı ihtiyaçlarına uygun bir şekilde yapılabilmesi için, bir takım düzenleyici kontrol sistemlerine gereksinim duyulmaktadır. Homeostazis; tüm sistemlerin en iyi şekilde çalışması, iç ortamın değişmez tutulması ve devam ettirilmesi anlamına gelir. Örneğin, hücrenin kimyasal yapısı, pH'sı, vücut sıcaklığı ve vücut sıvılarındaki elektrolit denge birçok sistem ve organlar tarafından sabit tutulmaya çalışılır (88). Homeostasis bozulduğunda iç ortamın; oksijen-karbondioksit düzeyleri, sıvı-elektrolit ve pH dengesi, kalsiyum düzeyi, vücut sıcaklığı, kan volümü gibi yaşamsal öneme sahip birçok mekanizma bozulur. Fizyolojik şartlar altında, metabolizmada moleküler oksijenin indirgenmesi ile serbest radikaller açığa çıkmaktadır. Bu serbest radikaller birçok hastalık sürecinde önemli rol oynamaktadır. Homeostazisin bozulduğu hücrede, serbest radikallerin üretimi artar. Artan reaktif oksijen türleri özellikle membrandaki doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girerek lipid peroksidasyonuna (LPO) neden olurlar. Bu yolla serbest radikaller, başta membran fosfolipitleri olmak üzere, hücresel komponentlerin tümüne zarar verebilirler (4, 87, 92, 117). Normal şartlarda endojen ve ekzojen kaynaklı stres faktörleri hücresel dengeyi sürekli olarak değiştirmektedir. Bu zararlı etkilere karşı korunmada, antioksidan denilen bazı bileşikler rol almaktadır (17). Antioksidanlar radikallerle hızla reaksiyona girerek oksidasyonun ilerlemesini önlerler. Bu nedenle vücutta oksidan-antioksidan dengenin sağlanması da homeostazisin sürdürülmesinde büyük önem taşımaktadır.

Ölümcül hastalıklar içinde, kalp hastalıklarından sonra ikinci sırada kanser yer almaktadır. Kanser oluşumunda fiziksel ve kimyasal kanserojenler, hormonlar, virüsler, yaş, cinsiyet, çevre faktörleri ve bazı genetik hastalıklar önemli rol oynamaktadır. Kanser etiolojisinde en önemli etkenlerden olan çevresel faktörler, günümüzde büyük bir tehlike oluşturmaktadır. Bu faktörlerden biri olan Benzo(a)pyrene, çevrede bol miktarda bulunmaktadır. Polisiklik aromatik hidrokarbonlar grubunda yer alan bu maddenin, biyolojik sistemlerde serbest radikaller oluşturmak suretiyle normal hücrenin işleyişini bozduğu ve akciğer kanseri başta olmak üzere çok sayıda kanser türüne neden olduğu belirtilmektedir (25, 71,124).

Günümüzde, tıp çok ileri düzeyde olmasına ve sürekli yeni tekniklerle araştırmalar yapılmasına rağmen, özellikle kanserin tedavisi hala güçlük arzeden bir konudur. Hastalığın tedavisinden ziyade, hastalıktan nasıl korunulabileceğine yönelik araştırmalar ön plana çıkmaktadır. Kanserden korunmada özellikle oksidan-antioksidan dengenin sağlanması gerektiği belirtilmektedir. Bu dengenin sağlanmasında ve organizmada belirli bazı hücresel fonksiyonların sürdürülmesinde özellikle E vitamini ve selenyum gibi antioksidanların yeterli düzeyde besinlerle veya ilave olarak dış ortamdan alınması gereklidir. Güçlü antioksidan özelliğe sahip selenyum ve E vitamini kansere karşı korunmada önemli rol oynamaktadır (114, 193).

E vitamininin en önemli fonksiyonları, güçlü antioksidan özelliğinden ötürü doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu önlemesi, radikalleri indirgeyerek zincir reaksiyonlarını durdurmasıdır (76, 129). Diyete E vitamini ilavelerinin akciğer epitelyumunda, oksidan zararları azalttığı, tümör gelişimine neden olan

BaP gibi kanserojen maddelerin DNA'ya bağlanmasını ve kromozomlarda oluşturduğu kötü etkileri inhibe ederek kanser oluşumunu engellediği belirtilmektedir (150).

Selenyum, glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enziminin yapısına giren en önemli iz elementlerden biridir. GSH-Px, lipitlerin oksidasyonu sonucunda oluşan peroksitleri yıkımlar. Böylece, hücre zarlarının bütünlüğünün sağlanması ve korunmasında önemli görev alır (52, 192). Selenyum, kalp hastalıkları ve kansere karşı korunma sağlar. Selenyum eksikliğinin kanser riskini artırdığı bildirilmektedir. Selenyum ile kanser arasındaki ilişkiler araştırılarak insanlarda fizyolojik düzeylerdeki selenyumun kanserojen olmadığı, hatta antikanserojen etki gösterdiği selenyum yetersizliği bulunan bölgelerde mide, özefagus ve rektum kanserlerinden ölüm oranlarının arttığı, ayrıca diyetle yeterli miktarda selenyum ilavesinin kanserin görülme sıklığını ve ölüm oranını düşürdüğü belirtilmektedir. Selenyum ayrıca E vitamini aktivitesini de önemli ölçüde artırır. Bu bilgiler ışığında, çevrede yaygın olarak bulunan ve serbest radikal oluşumunu arttıran BaP gibi kanserojenlerin zararlı etkilerinin ortadan kaldırılmasında ve kanser tedavisinde E vitamini ve selenyumun çok önemli olduğu görülmektedir (52, 71, 136, 196, 197).

Bu noktalardan hareketle bu çalışmada, Benzo(a)piren verilen ratlarda E vitamini ve selenyumun, kan ve dokularda lipit peroksidasyonu ve bazı antioksidan enzimler üzerine etkilerinin olup olmadığı, eğer etkisi varsa E vitamini ve selenyumun bunu ne düzeyde etkileyebileceğinin araştırılması amaçlandı.

3.1. Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar

Yaşam için birçok aromatik bileşik çok gerekli olmasına rağmen, bazıları da tehlikelidir. Polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH) grubunda yer alan BaP da bu maddelerden biridir (84). PAH su, toprak, atmosfer, sigara dumanı ve besin zincirinde bulunan kimyasal maddelerin büyük bir kısmını oluşturur. Genellikle PAH çevrede yaygın olarak bulunan, deney hayvanlarında kanser yapıcı özelliğe sahip toksik maddelerdir. PAH insan ve hayvan organizmasında fizyolojik olayları inhibe ederek veya kısmen azaltarak kanser yapıcı etkisini gösterir. En yaygın kanserojen PAH *anthracene*, *phenanthrene*, *fluoranthrene*, *chrysene*, *chloranthrene* ve *pyrene* türevleridir. Her ne kadar *pyrene* türevleri kanserojenik ajan olmasa da mono ve dibenzo derivatları güçlü kanser yapıcı maddelerdir (102).

3.1.1 Benzo(a)piren

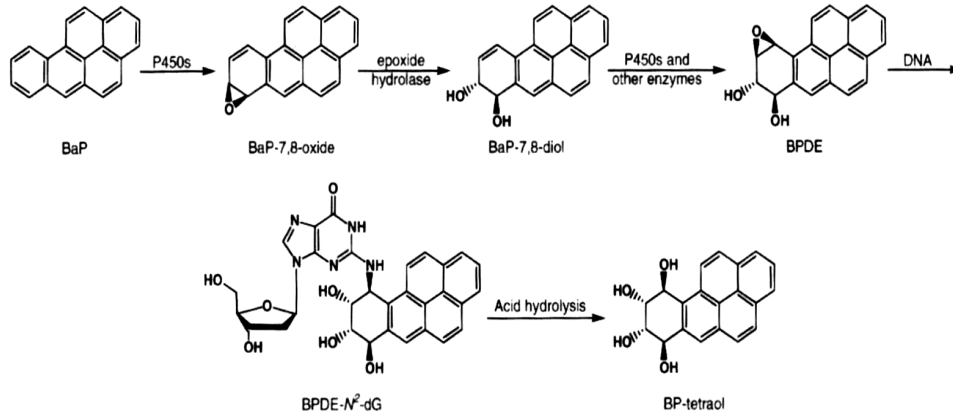
Benzo(a)piren (3,4-benzopyrene, BaP), çevresel ve endüstriyel kirlenmede önemli rol oynayan ve PAH sınıfında yer alan toksik etkili, immun sistemi baskılayıcı ve canlıların farklı dokularında güçlü kanser yapabilme yeteneğine sahip bir maddedir. BaP diyetle, çalışma ortamlarında, sigara dumanında ve çevrede yaygın olarak bulunur. Ayrıca, kömürde yapılan ızgara etlerde, yaz günlerinde asfaltla gelen sızıntılarda, fosil yakıtlarının tam olarak yanmaması sonucu da bu bileşik oluşur (84). Endüstriyel olarak alüminyum, grafit, kömür, benzin ve asfalt üretimi esnasında ortaya çıkarak gerek atmosferde gerekse endüstriyel çevrede kirlenmeye yol açar. İnsanların BaP'a maruz kalması, özellikle bu maddeyle bulaşık gıda ve suların alınması veya kirli havada ve sigara dumanında bulunan partiküllerin inhalasyonu yoluyla olmaktadır (56, 168).

Ratlarda BaP'ın ağız yoluyla alınmasından kısa süre sonra (1-3 saat) dokulara yayılma başlamaktadır (karaciğer > akciğer > böbrek = beyin). Ayrıca BaP'ın kan beyin engelini kolayca geçtiği ifade edilmektedir (55, 71, 95, 223).

3.1.1.1. Benzo(a)piren Metabolizması

Benzo(a)piren, biyolojik sistemlerdeki etkilerini oluşturmadan önce, reaktif maddeleri oluşturmak için metabolik olarak bir aktivasyon geçirir. BaP'ın kanserojenik ve mutajenik etkisi; hücrel makromoleküllere bağlanan mikrozomal karışık fonksiyonlu oksidazlar (MFO) tarafından oluşturulur. MFO aryl hidrokarbon hidroksilaz (AHH) olarak ta bilinir. Diğer kanserojen maddelerin etkinleştirilmesinde rolü olan bu enzim sisteminin etkisi hala tartışılmaktadır (77). BaP, MFO grubunda yer sitokrom p-450 (CYP) enzimleri tarafından BaP diolepoksitlerine metabolize edilir. Bu metabolitler kanserojen etkiye sahiptir (46, 60). BaP alındıktan sonra sitozolik aromatik hidrokarbon reseptörüne (AhR) bağlanır. BaP'ın AhR'ye bağlanmasından sonra çekirdeğe taşınarak translokale olur. AhR-çekirdek translokator (aryl reseptör nukleus translokator, ARNT) olarak adlandırılır. BaP-AhR-ARNT kompleksi, dioksin sorumlu enzimlere (DRE) bağlanır. DRE'nin aktivasyonu p-450-1A ve p450-1B enzimleri ve diğer genlerin aktivasyonuna neden olur (12). Karaciğer ve bağırsaklardaki yükseltgenmeyle ilgili işlemlerin yürütülüşü sırasında BaP, p-450-1A ve p450-1B enzimleri ile epoksit, fenol ve quinonlar gibi ürünlere oksitlenir. Bu esnada bu ürünlerden başka *6-oxobenzo(a)pyrene* ve *6-hydroxymethylbenzo(a)pyrene* radikallerinin oluştuğu da belirtilmektedir. Bu epoksit ürünleri son derece etkin kanserojen bileşiklerdir (77).

Ürünlerin oksitlemesinden sonraki metabolizmada, ya BaP-epoksitleri epoksit hidrolaz enzimi ile BP-7,8-dihidrodiol (BP-diol)'e hidrate edilir, daha sonra BP-dioleri ise başka bir oksijenlenme ile diol epoksitlerine (BPDE) dönüşür ya da oksijenlenmiş ara ürünlerin konjugasyonu ile suda çözünen glutasyon, *glucuronide* veya sülfat konjugatlarına dönüşür.



Şekil 1. BaP'ın metabolik aktivasyonu (27)

BaP epoksitleri, DNA ile çok kolay nükleofilik yer değiştirme tepkimeleri verirler. DNA üzerindeki nükleofilik kısımlar epoksit halkasını açarak tepkime verirler ve BPDE ile kovalent bağ oluşturarak DNA'nın alkillenmesine yol açarlar. DNA'nın bu yoldan değişimi, kanserin başlamasına neden olur (84). BaP gibi yabancı moleküllerin dışarı atılmasında normal yol, BaP epoksitlerinin nükleofilik yer değiştirme tepkimeleri sonucu gerçekleşmektedir. BaP'ın dışarı atılmasında bir başka yol ise, glutasyonla nükleofilik yer değiştirme sonucu epoksit halkasının açılmasını içerir. Glutasyon güçlü nükleofilik sülfhidril grubu olan, oldukça polar bir moleküldür. Suda çözünen bu ürünler hücreler tarafından

oluşturulmaktadır (77). Sülfidril grubunun epoksitle tepkimesinden sonra, daha polar hale gelir, sulu ortamlarda gerçekleşen yollarla hemen atılır. Epoksit grubu glutatyonun amin grubuyla tepkimeye girerek aminoalkol oluştururlar. Hidroksil grupları da glutatyonun karboksil grubuna bağlanarak dışarı atılır (84).

BaP metabolizmasının diğer enzimleri, MFO ile başlangıçta etkileşime giren epoksit redüktaz, epoksit hidrataz, glutatyon epoksit transferaz, sulfotransferazdır. Mikrozomal MFO tüm memeli türlerinin özellikle karaciğer, plasenta, lenfositler, monositler ve akciğer makrofajları olmak üzere çoğu dokusunda bulunmaktadır. MFO enzim aktivitesinin düzeyi yaş, cinsiyet ve hayvanın hormonal durumu ile etkilenmektedir (77).

BaP metabolizması için çok önemli olan CYP enzimlerinin uyarılması sonucu özellikle süperoksit ve hidrojen peroksit gibi serbest radikaller oluşur (125). Oluşan serbest radikaller, oksidatif olarak değişik memeli hücre tiplerinde mitogenezisi ve hücre çoğalmasını başlatırlar. Ayrıca proteinler, lipitler, DNA ve antioksidan enzimlere zarar verirler (136, 199) BaP'ın kanser yapıcı etkisi; aktivasyon ve detoksifikasyon metabolizmalarıyla azaltılabilir, artırılabilir veya ortadan kaldırılabilir (77).

3.1.1.2. Benzo(a)piren Genel Etkileri

Çok güçlü kanser yapabilme yeteneğine sahip olan BaP, uygulama dozuna bağlı olarak deri, özefagus, meme, akciğer gibi değişik dokularda çeşitli tipte tümörlere neden olabilir (65). BaP, deri altı veya kas içi yolla Wistar ratlarında çok yüksek oranda kötü huylu tümör oluşturduğu belirtilmiştir (42). BaP uygulanan farelerde mide tümörü, akciğer adenomu ile birlikte hematotoksik etkilerin ortaya çıktığı ifade edilmiştir (65, 119). BaP ve diol epoksitlerinin,

insanlarda normal memenin epitelyal hücrelerini metabolize ve aktive etme yeteneğine sahip olduğu, ayrıca epidermal hiperplaziye de neden oldukları belirtilmektedir (77). BaP'in metabolizması ve aktivasyonu canlılar arasında farklılıklar göstermektedir (122).

BaP membran lipitleriyle reaksiyona girerek lipit peroksidasyonuna neden olur (12). Bu nedenle de kanserli dokularda lipit peroksidasyonunda önemli bir artış gözlenebilmektedir. Bu artış, ya süperoksit radikal seviyesindeki artışın ya da serbest radikal temizleyicilerinin ortadan kaldırılmasının bir sonucu olarak oluşabilir. (71, 136). BaP'in biyotransformasyonu süresince oluşan serbest radikaller, DNA'ya zarar verebilirler. BaP'in oluşturduğu serbest radikallerin bu toksik etkileri, hücrede birinci derecede önemli olan enzim sistemleri (SOD, CAT, GSH-Px) ile ortadan kaldırılabilir (25). BaP'in tümör oluşturma etkisi E vitamini ve selenyum gibi antioksidanlar tarafından inhibe edilebilir. Antioksidanların bu etkilerini hidrokarbonların in vivo olarak kanserojen epoksitlere ve /veya diğer elektrofilik ürünlere dönüşümünü engelleyerek gösterdikleri belirtilmektedir (196).

3.2. Kanser ve Genel Özellikleri

Kanser, vücuttaki hücrelerin kontrolsüz ve hızlı bir şekilde bölünmeleri ile kendini gösteren patolojik bir durumdur. (32, 78). Çok eski zamanlardan beri bilinen kanser, Yunanca yengeç anlamına gelen 'karkinos' kelimesinden türetilmiştir (182). Tümörler iyi ya da kötü huylu olabilirler. Yavaş gelişen ve iyileşmeyen tümörler karsinos, kötü seyirli olanlar da karsinom olarak adlandırılır. Çoğalan kanser tümörleri benign (iyi huylu) ya da malign (kötü huylu) olurlar.

Kanser epitelyal kökenli ise karsinoma, mezenşimal kökenli ise sarkoma ile ifade edilir. Kanserın genel özellikleri; hızlı büyümesi, çoğu zaman kapsülünün bulunmaması, çevre dokulara yayılması, kan ve lenf damarları ile uzak metastaz yapabımesidir (180).

Sağlıklı hücreler vücudun büyümesi, gelişmesi, kendini yenilemesi ve hasar görmüş hücrelerin tamir edilmesinde önemli yer tutmaktadır. Fakat bazen normal hücreler bu özelliklerini kaybederek, çok hızlı bir şekilde çoğalırlar ve vücudun diğer kısımlarına yayılarak, tümör hücrelerini oluşturmaya başlarlar. Kanserın ilk aşamasında daima bir DNA hasarı vardır (32, 78).

Kanser basit bir hastalık değildir. Günümüzde kardiovasküler hastalıklardan sonra ikinci ölüm nedenidir. Tüm ülkeler için büyük bir sağlık problemidir (182).

Normal bir hücrenin farklılaşarak kanser hücresine nasıl dönüştüğü hakkında kesin bir şey söylemek mümkün değildir. Ancak serbest radikaller, ultraviyole ışınları, iyonize radyasyon, genetik yatkınlık, immun yetmezlik, hava kirliliği, diyet, kimyasal faktörler, sigara içimi, alkol, cinsiyet, hormonlar, virüsler ve parazitler gibi birçok etkenin bu oluşumu meydana getirdiği düşünölmektedir (32, 65, 70, 97). Çevresel ve kimyasal faktörlerden olan PAH grubunda yer alan BaP, önemli kanserojen maddelerden biridir (182, 193).

3.2.1. Kanserın Oluşum Mekanizması

Kanserın gelişiminde tümör oluşmasına neden olabilecek genler, ilk kez 1970'lerde tanımlanmış ve onkojenler olarak adlandırılmıştır. Onkojenlerin hücreyi etkilemelerinde esas rolü polifosfoinozidler oynamaktadır. Onkojenler polifosfoinozid aracılığı ile hücreyi transforme edebilirler ve kansere neden

olabilirler. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) onkojenleri, fosfatidilinozitolü (PIP) fosforile ederek, polifosfoinoziditid şeklinlenmesini arttıırlar. Bu onkojen mahsülleri diasilgliserole fosfat ekleyerek fosfatidik asiti oluştururlar. İkinci haberci diasilgliserolün hem şekillenmesini hem de ortadan kaldırılmasını sağlarlar. Polifosfoinoziditid parçalanmasıyla meydana gelen ikinci habercilerden birisi olan diasilgliserol, protein kinaz C'yi aktive ederek hücre çoğalmasına doğururlar. Tümör meydana gelmesine yardımcı olan forbol esterleri de protein kinaz C'yi, diasilgliserol gibi, aktive ederler. Zira forbol esterleri hücre zarını geçebilirler. Büyüme faktörleri de PIP hidrolizini meydana getirirler ve protein kinaz C'yi aktive ederek hücre çoğalmasını uyararak, sonuçta kanserin oluşumuna neden olurlar (57, 79, 133, 151).

Onkojenlerden başka, hücre bölünmesini harekete geçiren proto-onkojen olarak bilinen genler de bulunur. Proto-onkojenler belirli koşullar altında mutasyon geçirip onkojen haline gelirler. Oluşan onkojenler de daha sonra hücre çoğalmasını harekete geçirirler. Bu hücre çoğalması da, kısa bir süre sonra kontrol altına alınamaz bir hal alır. Aslında proto-onkojenler, embriyonun gelişme döneminde ve erken çocukluk dönemlerinde normal olarak aktif halde bulunurlar. Ama o dönem zaten, hızlı büyüme gereksinim olduğu bir dönemdir. Proto-onkojenlerden başka kontrolsüz hücre çoğalmasını önlemekle görevli tümörü baskı altına alan genler de bulunur. Proto-onkojenler, bu genler tarafından pasif hale getirilirler. Fakat mutajenler, BaP gibi kimyasal kanserojen maddeler, elektromanyetik enerji, aflatoksinler, nükleer radyasyon, virüsler ve hormonlar gibi sayısız dış faktör, bu proto-onkojenleri yeniden aktif hale getirebilir. Ama

onkojenlerin mutasyonu sonucu bu tümörleri baskı altına alan genler pasifleşirse, bunlar da artık tümör büyümesine katkıda bulunurlar (32, 109, 135, 162, 194).

Kanserin oluşumu tek basamakta gerçekleşen bir olay olmayıp, sadece gelişme sürecini başlatmak kansere yol açmaz. Kanserin oluşumundaki ilk basamak olan gelişim sürecinde, sadece bağımsız prekanserojenlerin bir kısmı üretilir. Üretilen bu prekanserojenler çoğaldıkları alanlardan diğer kısımlara yayılamazlarsa veya immun sistemin aktifliğine bağlı olarak yıkımlanacak olurlarsa kanser hücresi gelişmeyecektir. Kanserin oluşumundaki diğer bir basamak olan yayılma sürecinde ise, prekanserojen hücrelerin hızlı bir şekilde yeniden çoğalması ve membrandaki yüzey özelliklerinin malignant hücrelerin özelliklerine dönüşmesi ile gerçekleşir (179).

Serbest radikaller özellikle lipit peroksidleri; ateroskleroz, iskemi-reperfüzyon hasarı, inflamasyon, diabetes mellitus, akciğer hastalıkları, böbrek bozuklukları, kas hastalıkları, göz ve cilt bozuklukları gibi birçok hastalığın oluşumu ve gelişimi ile yakından ilişkili olmasının yanında, özellikle kanser oluşumunda çok önemli role sahiptirler. Serbest oksijen radikalleri, kimyasal maddelerin neden olduğu kanserin başlama, ilerleme ve gelişme evrelerinde katkıda bulunurlar (212). Serbest radikaller DNA için zararlı olup, hücrelerde mutasyona neden olurlar. Mutasyona uğrayan hücreler de çok hızlı bir şekilde çoğalarak, kontrolsüz doku gelişimine neden olur (67, 96, 121, 127, 144).

Yapılan çalışmalarda serbest oksijen radikalleri, lipit peroksidasyonu ve diğer peroksidasyon ürünleri ile kanser oluşumu arasında bir ilişki olduğu, BaP gibi kanserojen maddelerin hücrede radikal düzeyini artırarak kanser oluşturdukları belirtilmektedir. Bu maddeler organizmada hücrenin serbest

radikallere karşı enzimsel savunma sistemini oluşturan süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve katalaz gibi enzim aktivitelerinde aniden ve sürekli bir azalmaya neden olarak, antioksidan etkinliği azaltmaktadır (100, 212).

3.3. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar

3.3.1.Serbest Radikaller

Serbest radikaller, dış yörüngelerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron içeren, reaktif ve kısa ömürlü olan atom veya moleküllerdir (4, 21, 28, 34, 44, 57). Eşleşmemiş elektron, üst kısma yazılan bir nokta ile gösterilir (O_2^- OH^-). Bu radikaller, organizmada normal metabolik olaylar sırasında yan ürün olarak, mitokondriyal - mikrozomal elektron taşıma zincirlerinde (bu sistemde radikal üreten iki bölgenin varlığı bildirilmiştir. Bunlardan birincisi NADH dehidrogenazdır ve mitokondri zarında üretilen süperoksit radikalinin üçte biri bu bölgeden kaynaklanır. İkinci bölge ise koenzim Q-sitokrom b bölgesi olup, ubikinonun otoksidasyonu bu sistemde üretilen radikalın üçte ikisini oluşturur) (14, 146, 147), fagositik hücrelerden (süperoksit radikali, nötrofil, eozinofil ve makrofaj gibi fagositoz yapan hücreler tarafından üretilirler. Bu hücreler bakteriyi fagosite edince NADPH oksidaz enziminin etkisiyle moleküler oksijenden süperoksit radikalini üretirler ve bunu da bakterilerin parçalanmasında kullanırlar (14, 210) oluşabildiği gibi, kirlilik, ilaçlar, radyasyon benzeri çeşitli dış etkenlerin etkisiyle de oluşabilir. Yaşam süreleri çok kısa olmasına rağmen oldukça reaktif yapıya sahip olan serbest radikaller, elektronu çiftleyebilmek için tüm hücre bileşenleri ile etkileşime girebilirler (4, 94, 121).

Serbest radikaller, başlıca oksijenden türemektedirler. Hücrede enerji sağlanması için gerekli biyolojik oksidasyonlar sonucunda, oksijeninin bir kısmı süperoksit radikali ve hidroksil radikaline dönüşür (37).

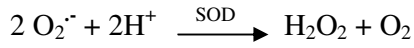
Serbest oksijen radikalleri, genellikle reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türleri (RNS) olarak bilinirler (210, 217). ROS ve RNS'nin biyolojik sistemlerdeki etkileri çift yönlü olup, yararlı ya da zararlı olabilirler. Düşük konsantrasyonlarda mitojenik bir cevap oluşturmaları ve hastalık etkenlerine karşı hücrel cevapta (örneğin, enfeksiyöz ajanlara karşı savunmada) fizyolojik olarak rol almaları faydalı etkileri arasında yer alırlar. Tam tersine yüksek konsantrasyonlarda ise lipid, protein ve nükleik asitler gibi hücre yapılarında hasara neden olurlar (218).

Reaktif oksijen türleri, kimyasal olarak reaktif olan çok sayıda molekülü kapsar. Bu moleküllerden hidroksil radikali aşırı reaktif olmasına rağmen, süperoksit ve hidrojen peroksit gibi radikaller daha az reaktiftirler. ROS'un çoğu, biyomoleküllerle kolayca reaksiyona girerek zincir reaksiyonlarını başlatırlar. Serbest radikalle reaksiyona giren moleküller bir elektronunu kaybettiğinden, etrafındaki moleküllerden bir elektron alacak derecede reaktif hale gelir. Böylece radikaller zincir reaksiyonu şeklinde çoğalırlar (4, 105, 203). Belirli düzeylere kadar artan reaktif türler vücutta bulunan doğal endojen antioksidan maddeler tarafından etkisiz hale getirilir. Bu nedenle, sağlıklı organizmadaki ROS ile antioksidanların etkileri arasında bir denge mevcuttur (34, 36).

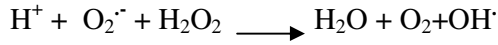
Başlıca reaktif oksijen türleri ve metabolizmaları şöyledir:

3.3.1.1. Süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) Radikali

Oksijen molekülüne bir elektron ilave edilmesiyle oluşur. Serbest radikal olmasına rağmen yüksek reaktiviteye sahip değildir. Asıl önemi hidrojen peroksit (H_2O_2) kaynağı olmasıdır (4, 115, 128, 161). Lipit membranlara girme yeteneğine sahip olmadığı için, meydana geldiği hücre bölümlerinde tutulur. Süperoksit radikalleri sıvı ortamda kendiliğinden dismutasyon reaksiyonu ile veya süper oksit dismutaz (SOD) enzimiyle H_2O_2 ve oksijene dönüşürler

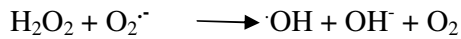


Süperoksit radikali aynı zamanda hidrojen peroksit ve hidrojen iyonlarıyla reaksiyona girerek daha reaktif olan hidroksil radikalini oluşturabilir (4, 59).

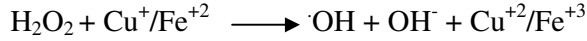
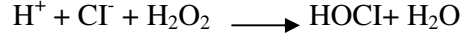


3.3.1.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2) Radikali

Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksitin asıl kaynağı süperoksit radikalinin dismutasyonudur. İki süperoksit molekülü iki proton alarak H_2O_2 ve O_2 oluşturur. Reaksiyon sonucu radikal olmayan ürünler meydana geldiğinden bu bir dismutasyon reaksiyonu olarak bilinir (24, 99). H_2O_2 eşleşmemiş elektron ihtiva etmediğinden bir radikal değildir, fakat yine de biyolojik membranlara nüfuz yeteneğinden dolayı önemlidir (145, 161). H_2O_2 , süperoksit ile reaksiyona girerek, en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikalinin ($\cdot OH$) oluşumuna neden olur (4, 93).



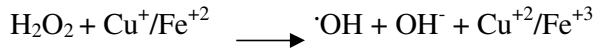
Bu reaksiyona ‘‘Haber-Weiss’’ reaksiyonu da denir (115). Bu reaksiyonda ferri demir (Fe^{+3}) süperoksit tarafından ferro demire (Fe^{+2}) indirgenir. Ferro demir kullanılarak ‘‘Fenton Reaksiyonu’’ ile hidrojen peroksitten $\cdot OH$ üretilir.



Oluşan hidrojen peroksit katalaz ve glutation peroksidaz aracılığı ile ortadan kaldırılır (115, 145, 161).

3.3.1.3. Hidroksil Radikali (OH^\cdot)

Güçlü reaktivitesi nedeniyle, diğer serbest radikal türlerine nazaran biyolojik sistemlere daha fazla zarar verme yeteneğinde olup, metal iyonlarının katalizörlüğünde ($\text{Cu}^+/\text{Fe}^{+2}$) hidrojen peroksitten üretilir (20, 91).



3.3.1.4. Singlet Oksijen

Singlet oksijen ($^1\text{O}_2$), eşleşmemiş elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Serbest radikal reaksiyonları sonucu oluşabildiği gibi serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına da neden olabilir (4, 93).

3.3.2. Lipit Peroksidasyonu

Stres; organizmanın normal fizyolojisine ters olan çevresel, besinsel, toplumsal, patolojik ve fizyolojik değişikliklere karşı gösterdiği tepkileri kapsamaktadır. Stres altında bulunan organizmanın homeostatik dengesi bozulur ve organizma her türlü tehlikeye karşı dirençsiz kalır (189).

Lipit peroksidasyonu (LPO), serbest radikaller tarafından başlatılan, uzun zincirli doymamış yağ asitlerinin ROS tarafından oksidasyonunu içeren kimyasal bir olaydır. Bu reaksiyon sonucunda LPO artışı serbest radikal aktivasyonun indirek bir göstergesidir (4, 92, 142, 156, 203). Organizmada, özellikle hücre membranlarında ve kanda bulunan çok zincirli doymamış yağ asitleri (PUFA)

ROS'a oldukça duyarlıdır (10). Değişik kanserojen maddelere maruz kalınması sonucu bu doymamış yağ asitlerinin lipit peroksidasyonu veya oksidatif yıkımlanması oluşur (65).

Lipit peroksidasyonu hücre zarının işlevini bozarak, enzimler ve diğer hücre bileşenlerini olumsuz etkileyerek ve son ürün olan aldehitlerin sitotoksik etkileri gibi farklı yollarla hücre hasarına neden oldukları bildirilmiştir (92).

Lipit peroksidasyonu başlama, yayılma ve sonlanma olarak üç aşamada incelenir.

Başlama

Lipit peroksidasyonu, membranlarda bulunan doymamış yağ asidi zincirinden O_2^{\cdot} ve $\cdot OH$ radikalleri tarafından bir hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlar (90, 91, 155). Reaksiyonun başlaması için demir, bakır gibi eşleşmemiş elektron içeren geçiş metali iyonlarına ihtiyaç vardır. Bu reaksiyon sonunda karbon merkezli dayanıksız bir lipit radikali (L^{\cdot}) oluşur. Bu radikal molekülündeki çift bağların dizilişinde birtakım değişiklikler olur ve konjuge dienler oluşur. Dienler hemen moleküler oksijenle birleşerek lipit peroksil radikalini (LOO^{\cdot}) oluştururlar (4, 87).

Yayılma

Lipit peroksil radikali, membrandaki proteinlerle veya PUFA ile reaksiyona girer. LOO^{\cdot} komşu yan zincirlerden bir hidrojen atomu koparır ve yeni lipit radikalleri oluşturarak zincir reaksiyonu devam ettirir. Bu reaksiyonda koparılan hidrojenler lipit radikalleriyle tekrar alınarak lipit hidroperoksitler ($LOOH$) ve yeni peroksitler oluşur.

Lipit peroksidasyonu bir kere başladıktan sonra kendi kendini katalizleyerek devam eder. Bu olayın sonucunda bol miktarda lipit hidroperoksitler ve yağ asidi zinciri oluşur. Yayılma reaksiyonunun uzunluğu, lipit/protein oranı, yağ asidi bileşimi (PUFA miktarının fazlalığı; fosfolipit, glikolipit, gliserit ve sterol gibi) ve oksijen konsantrasyonu gibi faktörlere bağlıdır. Bundan sonra LPO ya otokatalitik olarak devam eder veya lipid hidroperoksitlerinin aldehit ve diğer karbonil bileşiklere dönüşmesi ile sona erer (4, 50, 87).

Sonlanma

Çeşitli demir oluşumları H_2O_2 reaksiyona girerek çok reaktif yapıya sahip $\cdot OH$ oluştururlar. Fakat bazı proteinlerin yapısında olan demir, ortama salınmadığı sürece H_2O_2 ve $O_2^{\cdot -}$ ile reaksiyona girseler de $\cdot OH$ üretmezler (87, 93).

$LOOH$ ve $LOO\cdot$ radikalleri, serbest oksijen radikalleri gibi, hücrenin birçok komponentiyle reaksiyona girerek, selüler ve metabolik fonksiyonlar üzerinde toksik etkilerini gösterirler. Bu radikaller, membrana bağlı reseptörlerin ve enzimlerin inaktivasyonuna, membranlar arasında iyon geçişinin bozulmasına, mitokondride oksidatif fosforilasyonun çözülmesine, mikrozomal enzim aktivitelerinde değişikliklerin oluşmasına ve lizozom gibi hücre içi organellerin bütünlüğünün kaybolmasına neden olurlar (130).

$LOOH$ ve $LOO\cdot$ radikallerinin oluşturduğu bozukluklardan biri de, üç ve daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu toksik bir ürün olan malondialdehit (MDA) şekillenmesidir. Membran komponentlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmalarına neden olan MDA, membranda iyon

transportu ve enzim aktivitesi gibi bazı özelliklerin değişmesine neden olmaktadır (83, 159). MDA, kolayca diffüze olabildiğinden DNA'nın nitrojen bazları ile reaksiyona girmektedir. Bu özelliklerinden ötürü mutajenik, genotoksik, kanserojenik bir bileşiktir (130). Oldukça duyarlı olması nedeniyle MDA'nın ölçümü, doku hasarının boyutunu belirlemeye yarayan önemli belirleyicilerden biridir. BaP gibi kanserojen maddelerin neden olduğu LPO'nun boyutunu değerlendirmek için kullanılmaktadır (25). Zira, BaP uygulanan hayvanlarda, LPO sonucu MDA düzeylerinin önemli derecede arttığı (56) belirtilmiştir. MDA düzeylerinde gözlenen bu artışın, serbest radikal hasarına bağlı olarak ortaya çıktığı ifade edilmektedir (139).

3.3.3. Lipit Peroksidasyonu ve Serbest Radikallerin Kansere Oluşumundaki Rolü

Kanser uzun bir süreçte gelişebilen ve oluşumunda pek çok etkenin rol oynadığı patolojik bir durumdur. Bu süreçte normal hücrenin işleyişini bozacak tek bir hücre gelişir ve yayılarak organizmada kanser oluşumuna neden olabilir (127, 187). Yapılan çalışmalarda BaP'ın neden olduğu lipit peroksidasyonu, peroksidasyon ürünleri ve serbest radikaller ile kanser oluşumu arasında bir ilişki olduğu belirtilmiştir. BaP uygulamasına bağlı olarak LPO'da önemli artışlar olduğu belirtilmiştir (12). Bu kanserojen maddelerin hücrede oksidatif stresi arttırarak kanser oluşumuna neden oldukları bildirilmiştir. ROS mutajenik etkiye sahip olup, kanserin başlama, ilerleme ve gelişme evrelerinin hepsinde de rol oynar. Serbest radikallerin özellikle kanserin ilerleme safhasındaki etkileri daha belirgindir (78, 187).

Oksijen radikalleri ile DNA arasındaki etkileşimler veya lipid radikalleri ile DNA arasındaki etkileşimler sonucu DNA hasarı oluşabilmektedir. Serbest radikallerin etkileri sonucunda DNA ve kromozomlarda kırılma ve onkojenlerde aktivasyon oluşabilir. LPO sonucu oluşan lipid hidroperoksitleri, doğrudan DNA zincirini kırabilir ve DNA'da oksidasyona neden olabilir (206, 230). Süperoksit üretimi özellikle mitokondride fazla olduğu için mitokondriyal DNA daha fazla zarar görür. DNA yakınlarında sentezlenen hidroksil radikalleri pürin ve pirimidin bazlarına saldırarak mutasyonlara neden olur (180). Oksidatif stresten en çok etkilenen DNA'daki guanin ve sitozin bazlarıdır. Deoksiguanozindeki 8 nolu karbona bir oksijen bağlanması ile 8-hidroksiguanozin oluşur. Bu da fizyolojik pH'da 8-okzoguanozine dönüşür. Aynı şekilde oksidatif şartlarda deoksisitozinden 5-hidroksisitozin oluşur. Oluşan bu bileşikler de DNA'da anormal baz dizilişine ve böylece mutasyonlara neden olurlar (40).

Bap gibi kanserojenlerden kaynaklanan stres, sitotoksiste ve mutajenitenin sebebi olabilir. Gen yapısında değişiklikleri uyarabilir (160). BaP metabolizması sonucu süperoksit ve hidrojen peroksit gibi serbest radikaller oluşur (126). Oluşan serbest radikaller direk olarak DNA'yı etkileyip, mutasyonlara ve sonuçta kanser oluşumuna neden olmaktadır (107, 136, 154, 199). DNA yapısında meydana gelen oksidatif değişim benign yapının malign yapıya dönüşmesine sebep olabilir (40).

3.3.4. Antioksidanlar

Biyolojik sistemlerde oksidatif stres sonucu oluşan ROS'un meydana getirdiği hasarı önlemek için, vücutta birçok savunma sistemi gelişmiştir. Bunlar "antioksidan savunma sistemleri" veya kısaca "antioksidanlar" olarak bilinirler

(4). Antioksidanlar, belirli düzeyi aşmış oksidan moleküllere doğrudan etki ederek onları etkisiz hale getiren moleküllerdir (104). Antioksidasyon terimi, serbest radikal oluşumunu geciktiren veya ortadan kaldıran tüm işlemleri kapsar. Etkili bir antioksidanın iki özelliği vardır. Birincisi, serbest radikallerle hızlı bir şekilde reaksiyona girerek yeni bir radikal oluşturmasıdır. İkincisi ise, oluşan yeni radikale komşu dokulara zarar vermeyen ve reaktif olmayan özellik kazandırmasıdır (34). Antioksidanlar, zincir reaksiyonlarını durdurarak veya ROS'u ortamdan uzaklaştırarak LPO'nun başlamasını engellerler. Antioksidanlar endojen veya ekzojen kaynaklı olmaktadır. Bunlar hücrelerin hem sıvı hem de membran kısımlarında bulunurlar (4, 33, 190).

Normal şartlarda endojen ve ekzojen kaynaklı birçok stres faktörü hücresel dengeyi (homeostasis) sürekli etkilemektedir. Serbest radikallerin yol açtığı hücre hasarının derecesi, hücre içerisindeki koruyucu sistemlerin etkinlik derecelerine bağlıdır. Bu savunma sistemlerini çeşitli serbest radikal tutucuları ve bazı enzimler oluşturmaktadır. Süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz serbest radikallerin birikmesini ve lipit peroksidasyonunun başlamasını önleyen enzimlerdir. Süperoksit dismutaz süperoksit radikalının, katalaz ve glutatyon peroksidaz ise hidrojen peroksidin metabolize olmasını sağlar. Enzimsel savunma sisteminin yeterli olmadığı hallerde, düşük molekül ağırlıklı serbest radikal tutucuları lipit radikalleri ile etkileşerek reaksiyonların ilerlemesini önlemeye çalışırlar. En önemli serbest radikal tutucuları arasında E vitamini, C vitamini ve glutatyon yer almaktadır (57, 68, 152).

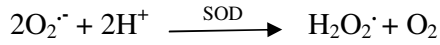
Antioksidanlar enzimatik ve enzimatik olmayanlar olmak üzere ikiye ayrılır.

3.3.4.1. Enzimatik Antioksidanlar

Bu enzimler hücre ve organizmayı aşırı serbest radikal oluşumunun zararlı etkilerinden korurlar. Bu sistemde yer alan enzimler aşağıda belirtilmiştir.

3.3.4.1.1. Süperoksit Dismutaz

Süperoksit dismutaz (SOD) ilk olarak 1968 yılında Mc Cord ve Fridovich tarafından tanımlanmıştır (4). Bu enzim, süperoksit radikalinin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü sağlar (4, 59). Böylece hücrel hidrojen peroksitin kaynağını oluştururlar. Süperoksit dismutaz tarafından katalize edilen reaksiyon oldukça etkilidir.

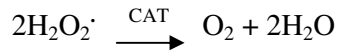


Normal metabolizma sırasında hücreler tarafından yüksek oranda süperoksit anyonu üretilmesi olmasına rağmen, SOD enzimi sayesinde intraselüler seviyesi düşük tutulur. SOD enziminin ekstraselüler aktivitesi oldukça düşüktür (89, 103, 132, 170).

SOD enzimi hücreyi, özellikle DNA'yı radyasyonun iyonizan etkisine karşı koruyucu özelliğe sahiptir (167).

3.3.4.1.2. Katalaz

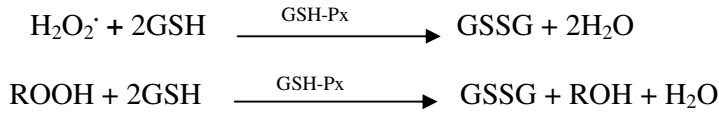
Katalaz enzimi (CAT), hidrojen peroksitin oksijen ve suya parçalanmasını sağlar. Bir molekül katalaz bir dakikada yaklaşık olarak 6 milyon hidrojen peroksit molekülünü suya ve oksijene dönüştürebilir (161, 218). Katalaz memeli hücrelerinin peroksisomlarında bulunur.



Katalazın antioksidatif rolü, hidrojen peroksitten çok daha güçlü oksidatif etkiye sahip olan hidroksil radikali oluşmasını azaltmasından kaynaklanır (146).

3.3.4.1.3. Glutasyon Peroksidaz

Glutasyon peroksidaz (GSH-Px), hidrojen peroksitlerin ve hidroperoksitlerin alkollere indirgenmesini sağlayarak, hidroksil radikallerinin oluşumunu azaltan bir enzimdir (4). Özellikle eritrosit membran bütünlüğünün devamı için GSH-Px çok önemlidir. GSH-Px, peroksitleri membran hasarına neden olmadan önce yıkımlayan bir enzimdir (146).



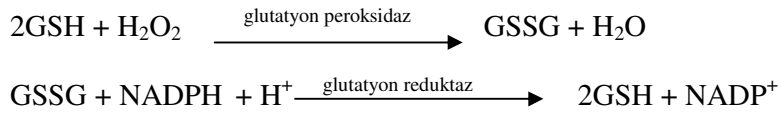
Hücrelerde GSH-Px enzimleri başlıca selenyuma bağımlı GSH-Px, fosfolipid hidroperoksit GSH-Px (GSH-Px II), selenyumundan bağımsız GSH-Px, ve plazma GSH-Px'i olmak üzere dört ayrı formda bulunur (4, 108). Selenyuma bağımlı GSH-Px, hücrede büyük ölçüde sitozolde bulunur, hem H_2O_2 hem de diğer peroksitler üzerine etkilidir. Selenyuma bağımsız GSH-Px ise mitokondride yer alır ve sadece organik peroksitleri indirgediği bilinir. Buna karşılık katalazın fazla miktarda bulunduğu peroksizomlarda bu enzimin aktivitesine rastlanmamıştır (2, 132, 188, 196).

GSH-Px'in fagositik hücrelerde önemli fonksiyonları vardır. Diğer antioksidanlarla birlikte GSH-Px, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller (189). Solunum patlaması adı verilen reaksiyon, fagositoz sırasında fagositik hücrelerin oksijen ve glikoz tüketiminin artması sonucu O_2^- ve buna bağlı olarak $\cdot\text{OH}$, H_2O_2 ve $\cdot\text{O}_2$ oluşmasıyla ilişkilidir (13, 49, 234). Bu oksidan moleküller fagositoziste, nötrofil ve makrofajlar tarafından salınarak bakterisidal etki gösterirler. Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlarla inaktivite edilirler. Bu radikallerin belirli

düzeyin üzerinde oluşması durumunda, antioksidanlar da yetersiz kalırsa protein, lipit, karbonhidrat, nükleik asit yapılarını bozarak, özellikle fagositozları tahrip ederler. GSH-Px H_2O_2 'i suya, ayrıca lipit peroksidleri de alkol ve suya dönüştürerek zararsız hale getirir (11, 35, 114, 165, 213). GSH-Px aktivitesindeki azalma, H_2O_2 'nin artmasına ve şiddetli hücre hasarına neden olur (156, 200).

3.3.4.1.4. Glutasyon Redüktaz

İndirgenmiş glutasyonun (GSH) peroksidlerle ve disülfidlerle GSH-Px enzimi varlığında reaksiyonu sonucu GSSG (okside glutasyon) oluşur. GSSG miktarındaki artış, oksidatif stresin bir göstergesidir. GSSG, tiol içeren proteinlerin konformasyonu ve aktivitesi üzerine zararlı etkileri olan prooksidan bir maddedir ve hızla redüklenmesi gereklidir. GSH-Rx enzimi NADPH (redükte nikotinamid adenin dinükleotid fosfat) varlığında GSSG'yi GSH'a redükler (149).



Antioksidan savunmanın etkinliğini sürdürebilmesi için oksitlenmiş glutasyonun (GSSG) tekrar indirgenmiş glutasyona (GSH) dönüşmesi gerekir. Glutasyon redüktaz, NADPH varlığında oksitlenmiş glutasyonun indirgenme reaksiyonunu katalizler. Glutasyon redüktaz sitozol ve mitokondride lokalizedir (145).

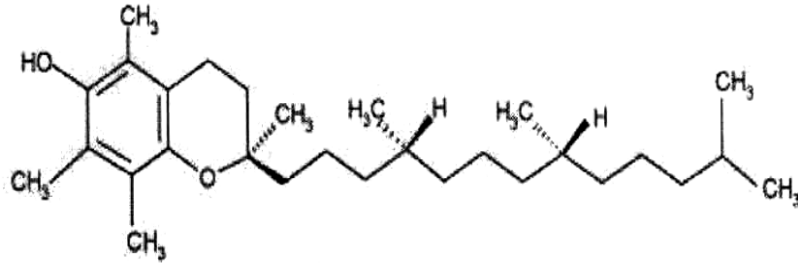
GSH'ın oksidatif hasarı önleme kapasitesi, serbest radikallerle direk olarak reaksiyona girmesi, disülfidleri indirgemesi ve GSH-Px'a kofaktör olma yeteneğine bağlıdır (149).

NADPH/NADP ve GSH/GSSG oranlarındaki değişiklikler akut prooksidan stres ile antioksidan savunma arasındaki dengesizliğin belirtisidir (115, 145).

3.3.4.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

3.3.4.2.1. E Vitamini

E vitamini, tokoferoller (alfa, beta, gama ve delta) ve tokotrienoller (alfa, beta, gama ve delta) olmak üzere iki farklı gruba ayrılır. E vitamininin en aktif ve antioksidan aktivitesi en yüksek olan formu α -tokoferoldür. Bu vitaminin saf formları suda çözünmez, alkol, organik çözücüler (aseton, kloroform, eter) ve bitkisel yağlarda kolayca çözünür. E vitamini, vücuttaki ve gıdalardaki karotenleri ve diğer okside olabilen materyalleri koruyan mükemmel doğal bir antioksidandır (148, 174). Yapısında bulunan fenolik hidroksil grubuna sahip aromatik halka, vitaminin kimyasal olarak aktif kısmını oluşturur ve antioksidan özelliği bu gruptan kaynaklanır (117).



Şekil 2. α - tokoferolün kimyasal yapısı (174).

Lipofilik özelliğinden ötürü başta yağ dokusu olmak üzere adrenal bezler, testis, kalp, karaciğer ve trombositler gibi dokularda değişik miktarlarda bulunur

(4, 51, 141). Hücre içinde ise en çok mitokondri, mikrozm, nükleus ve plazma membranı gibi hücrenel komponentlerde yoğunlaşırlar (226). Miyokart membranlarındaki miktarı oldukça fazladır (4). Bitkisel yağlar, karaciğer, baklagil tohumları ve yeşil bitkilerin çoğu E vitamini kaynağıdır. E vitamini insan ve hayvan vücudunda sentezlenemediği için mutlaka dışardan alınmalıdır (74).

3.3.4.2.1.1. E Vitamininin Emilim, Dağılım ve Atılımı

E vitamini, sadece yağlarda ve organik çözücülerde çözünebildiğinden emilmesi için yağlara ihtiyaç duyar (51, 66, 141). Vücuda alınan yağlı besinlerin emilimi ince bağırsaklarda safra ve pankreatik lipaz enzimi aracılığıyla olur. Emilim esas olarak duodenum ve jejunumun proksimal kısmında meydana gelir. Yağların lipoliz ve emülsifikasyonu sonucu E vitamini içeren miseller oluşur. Bu miseller bağırsak mukozasının fırçamsı kenarlarından pasif difüzyonla hücre içine alınır. Burada fosfolipit, kolesterol ve trigliserit ile birlikte şilomikronların yapısına katılır (76, 215, 226). Şilomikronlar egzozitoz yoluyla lenf damarlarına verilir. Buradan ductus torasikus yoluyla kan dolaşımına katılırlar. Şilomikronlar, lipoprotein lipaz ile hidrolize olurken bir kısım yağ asiti ve E vitamini dokulara taşınır. Diğer kısım E vitamini ise dolaşımdaki bütün lipoproteinlere dağıtılır. E vitamini hidrofobik özelliğinden dolayı, plazmada başlıca LDL ve HDL lipoproteinler tarafından taşınır. E vitamini en fazla LDL'de bulunur. Plazmada fosfolipitler arasında lipit alışverişini sağlayan fosfolipit transfer protein (PLTP) bulunmaktadır. Bu protein aynı zamanda HDL ve LDL arasındaki E vitamini değişimini de sağlar. Plazmadaki E vitamini LDL endositozu ile hücre içine alınır ve burada TAP (Tocopherol Associated Protein) ile birleşir. TAP, hücrelerde alfa tocoferol regülasyonunu sağlayan bir proteindir (10, 178, 193, 222). Genel

dolaşıma serbest formda giren tokoferoller plazma proteinlerine (beta-lipoproteinlere ve globulinlere) bağlanarak, karaciğere sonra da ekstrahepatik dokulara taşınırlar (4, 72).

E vitamini okside olursa tokoferoksil radikali oluşur. Bu radikal peroksil radikali ile reaksiyona girer ve alfa tokoferil quinon oluşur. Alfa tokoferil quinonun bir kısmı glukronik asitle konjuge olarak safra yoluyla feçesle atılır. Geri kalan kısmı ise böbreklerde mitokondriyal enzimler vasıtasıyla tokoferil hidroquinona indirgenir. Alfa tokoferil hidroquinon ise alfa tokoferonik asit ve alfa tokofero laktone metabolize edilerek dışarı atılır. Alfa tokoferolün idrardaki diğer bir metaboliti ise alfa- CEHC [(2,5,7,8-tetramethyl-2(2'-karboksietil)-6-hidroksikroman]'tir. Plazmada E vitamini belirli bir seviyeyi aştığı zaman idrarda alfa CEHC görülür ki, bu durum yeterli veya fazla E vitamini alımının bir göstergesidir (73).

3.3.4.2.1.2. E Vitamininin Fizyolojik Fonksiyonları

E vitamininin en önemli fonksiyonu, biyolojik sistemlerde zincir kırıcı bir antioksidan olarak serbest radikal reaksiyonlarının yayılmasını önlemesi ve hücreleri lipit peroksidasyonuna karşı korumasıdır (71, 177, 202, 218).

E vitamininin antioksidan etkisi yüksek oksijen konsantrasyonlarında etkilidir. E vitamini süperoksit, lipid peroksit ve hidroksil radikallerini, singlet oksijeni ve diğer radikalleri indirgeme özelliğindedir (4). Özellikle mitokondri, endoplazmik retikulum ve plazma membranı gibi doymamış yağ asitleri bakımından zengin hücre membranlarını lipit peroksidasyondan koruyan merkezi bir role sahiptir (173, 202, 221). Membrandaki çok zincirli doymamış yağ asitlerinin doymamış çift bağları, peroksitler ve aktif oksijen formları tarafından

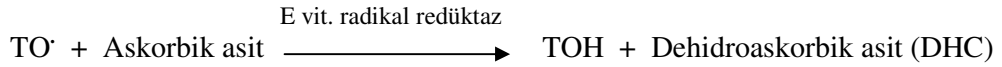
kolayca etkilenirler (175). Bu işlem bir zincir reaksiyonu başlatma eğilimindedir. Bu zincir reaksiyonları süresince fazla miktarda serbest radikal ve hidroperoksitler oluşur. α -tocopherol plazmada diğer yağda çözünen antioksidanlara nazaran yaklaşık 15 misli daha fazla bulunduğundan, plazma ve düşük moleküllü lipoproteinlerdeki (LDL) en önemli antioksidandır (151).

α -tokoferolün (TOH) fenolik grubu, bir peroksil radikali ($\text{ROO}\cdot$) ile karşılaştığında, hidrojen atomunu peroksil radikaline verir ve bu işlemle bir α -tokoferoksil radikali ($\text{TO}\cdot$) oluşur (151, 208) ;



α -tokoferoksil radikali, nisbeten stabil ve lipit peroksidasyonunu başlatamayacak kadar reaktivitesi az bir radikaldir (4). α -tokoferoksil radikali bundan sonra dört farklı şekilde reaksiyona girebilir.

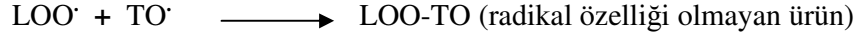
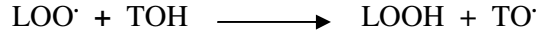
a) Oluşan oksidasyon ürünü glukoronik asitle konjuge edilerek safra ile atılır (151). Bu nedenle, normal şartlar altında membrandaki çok zincirli doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girmez ve böylece zincir reaksiyonlarının yayılması inhibe edilir (225). Ya da glutatyon (GSH), ubiquitin ve özellikle askorbik asit gibi antioksidanlarla tekrar α -tokoferole indirgenir. Bu yolla tokoferol radikali, E vitamini radikal redüktaz enzimiyle doğal E vitamini haline dönüşmüş olur (4, 9, 66, 141).



Böylece tokoferolün radikal temizleyici etkisi restore edilmiş olur. Bu reaksiyonlar sonrası oluşan askorbil radikali α -tocopheroxil radikalinden daha zayıf olduğundan yeniden okside olmaz. Tokoferolü tekrar eski durumuna getiren

mevcut askorbatın azalması, E vitamininin aktivite kaybını hızlandırabileceğinden E vitamini takviyesi gereklidir (173, 174).

b) Tekrar peroksil radikali ile reaksiyona girerek radikal olmayan ürünlere dönüşür. Böylece iki radikal ortadan kalkmış olur (4, 9, 66, 141).



c) Okside olarak tokoferil quinona dönüşür.

d) Tokoferoksil radikali, askorbik asit veya ubiquitin tarafından redükte edilmezse, bu radikal lipoproteinleri okside edebilir. Ancak bu reaksiyon fizyolojik şartlar altında pek oluşmaz (4, 9, 66, 141).

Ortamda askorbik asit bulunmazsa, radikal E vitamini GSH ile reaksiyona girerek aktif E vitaminine dönüşür. Ancak bu reaksiyonda oldukça önemli olan GSH harcanması yerinde olmayacaktır. Çünkü GSH; oluşan ROO^\cdot , H_2O_2 , OH^\cdot radikallerin etkisizleştirilmesi için öncelikli önemi olan moleküldür (98, 165, 219).

E vitamini kreatin fosfat ve adenosin fosfat gibi yüksek enerjili fosfat bileşiklerinde ve B_{12} vitamininin metabolizmasında da rol almaktadır (216). Eritrositlerdeki E vitamininin büyük bir kısmının membranda lokalize olması nedeniyle hemolize karşı korunmada önemli bir rol üstlenmektedir (6).

Serbest radikallerin oluşturduğu LPO nedeniyle hücrelerin biyomoleküllerinde inhibisyon ve fonksiyon bozuklukları oluşur. Bunun sonucunda DNA hasarı gerçekleşir. E vitamininin genotoksik etkili serbest radikallerle reaksiyona girerek, serbest radikalleri temizlediği ve böylece hücre membranını stabilize ettiği belirtilmiştir. E vitamini, hücrede gerçekleşen

oksidasyon-redüksiyon olaylarında etkilidir. Etkisini, tümör gelişimine neden olan aktif kanserojen maddelerin DNA'ya bağlanmasını ve kromozomlarda oluşturduğu kötü etkileri inhibe ederek gösterir (174).

E vitamini selenyum metabolizmasında da önemli rol oynar. Selenyum E vitamininin lipoproteinler içinde tutulmasına yardımcı olur. E vitamini ise selenyumun organizmadan kaybını önleyerek veya onu aktif şekilde tutarak selenyum ihtiyacını azaltır (30, 118).

3.3.4.2.1.3. E Vitamini Yetersizliği ve Fazlalığı

İnsanlarda ve çeşitli hayvan türlerinde E vitamini eksikliğine bağlı bozukluklar çok farklı şekillerde ortaya çıkar. Deney hayvanlarındaki E vitamini eksikliği testislerde atrofi ve dejenerasyon sonucu streliteye, dişilerde ise fütal rezorbsiyon ve ölü yavru doğurma gibi üreme sisteminde fonksiyon bozukluklarına neden olmaktadır. Hayvanlarda E vitamini yetersizliği sonucu görülen en yaygın hastalık beyaz kas hastalığıdır (7). İnsanlarda uzun süre E vitamini yetersizliği eritrositlerde hemoliz artışı, pulmoner hipertansiyon, immun cevapta ve fagositik fonksiyonlarda azalma, düşük doğum ağırlığındaki bebekler, hemolitik anemi, yeni doğanların kalbinde intraventiküler kanama, eritrositlerin yaşam sürecinde kısaltmaya neden olmaktadır (178).

İnsan ve hayvanlar E vitamininin yüksek dozlarını iyi tolere edebilirler. Deney hayvanları ve kanatlılara uzun süre yüksek dozda E vitamini verilmesi sonucu protrombin zamanında uzama ve hemoraji gibi koagülasyon bozuklukları gözlenmiştir. Yüksek dozda E vitamini trombosit agregasyonunu da inhibe etmektedir. E vitamininin mutajenik, kanserojenik ve teratojenik olmadığı yapılan deneysel çalışmalarla gösterilmiştir (1).

3.3.4.2.2. Selenyum

Selenyum, insan ve hayvanların normal gelişimini sürdürebilmeleri için gerekli olan, toprak, bitkiler ve suda farklı bileşimlerin yapısına giren esansiyel iz elementlerden biridir (114). Vücudun en önemli antioksidan enzimi olan glutatyon peroksidazın (GSH-Px) bir komponentidir.

Selenyum (Se) biyolojik bir siklusla topraktan bitkilere, hayvanlara, insanlara geçer. Organizmada eser miktarda bulunduğu için dışardan alınması gerekmektedir (114). Asıl kaynağı toprak olduğu için besin ve yemlerdeki selenyum düzeyi topraktaki miktarlarıyla doğru orantılı olarak değişir (54). Şayet topraktaki selenyum miktarı yeterli düzeyde ise bu toprakta yetişen bitkilerle beslenen hayvan ve insanlarda selenyum düzeyi yeterli olurken, toprakta selenyum yetersizliği olan bölgelerde ise, yetersizlik belirtileri ortaya çıkmaktadır. Selenyum, bitkilerde selenometionin, Se-metil-selenometionin, selenosistin ve selenosistein (54, 209), hayvan dokularında ise genellikle selenometiyonin ve selenosistein olarak bulunur (214).

Toprakta kobalt, çinko, vanadyum ve özellikle sülfat gibi mineraller ile selenyum arasında zıt bir ilişki bulunmaktadır. Toprak yapısında sülfat miktarı fazla olduğunda, selenyum miktarı yeterli olsa bile sülfat bitkilerin selenyumu bağlamasını engelleyerek Se yetersizliklerine neden olmaktadır (31, 44).

Böbrek, karaciğer, iskelet kasları, et, deniz ürünleri ve tüm tahıllar genel olarak iyi bilinen selenyum (>0,2 ppm Se) kaynaklarıdır. Meyve ve sebzeler selenyum açısından zayıf (0,01 ppm Se) kaynaklardır (114, 214).

3.3.4.2.2.1. Selenyumun Emilim, Dağılım ve Atılımı

Selenyum ince bağırsaklarda duodenum-ileum ve ileum-sekum arasındaki bölgelerden emilir. Ruminantlarda abomasum ve rumenden de emilir (5). Emilen selenyum plazma proteinlerine bağlanarak taşınır ve ulaştığı dokuların yapısına girer. Plazma proteinlerine bağlanarak kemik, saçları içine alan tüm vücut dokularına özellikle de böbrek, karaciğer, kalp, pankreas dokularına ayrıca süt proteinlerine, alyuvar ve akyuvarlara taşınmaktadır (114, 176).

Selenyum ruminantlarda dışkıyla, tek mideli hayvanlarda ise idrarla atılır. Vücuttaki atılım oranları besinlerdeki selenyum miktarı, hayvan türü ve verilmiş yoluna göre değişiklik gösterir (6). Selenyum ağız yoluyla alındığında dışkı ile, enjeksiyon şeklinde verildiğinde idrar ile, toksik dozlarda alındığında ise fazla miktarları solunum yoluyla atılmaktadır (198).

3.3.4.2.2. Selenyumun Fizyolojik Fonksiyonları

Selenyum, vücudun en önemli antioksidan enzimi olan GSH-Px'in bir komponenti olması nedeniyle, lipidlerin oksidasyonu sonucunda oluşan peroksitlerin yıkılmasında önemli rol oynar. Böylece, hücre zarlarının bütünlüğünün sağlanması ve korunmasında etkin fizyolojik bir görev üstlenir (52, 176, 193).

Bir selenoprotein olan GSH-Px en fazla karaciğer ve eritrositlerde, daha az düzeyde ise kalp, mide, adrenal bezler, akciğer, böbrek, adipoz doku, beyin, lens, iskelet kası ve testislerde aktivite gösterir (26, 52). Selenyum, mide-bağırsak kanalından lipidlerin ve tokoferollerin normal emilimi için gerekli olan pankreas lipazın üretilmesi ve pankreasın normal yapısı için gereklidir (114). Alyuvarların hemolizini ve serbest radikaller tarafından oksidasyonunu önler (54, 61).

Selenyum immunolojik olarak nonspesifik humoral ve hücresele bağışıklıkta da etkilidir (26, 62, 131).

Selenyumun fizyolojik görevlerinden biri de, E vitamini taşıyıcısı olmasıdır. E vitaminin bozulmasının önlenmesinde, emiliminde rolü olduğu ve buna bağılı olarak ta selenyumun biyolojik etkinliğini arttırmasında etkili olabileceğı belirtilmektedir (114).

Genel olarak seleno-enzimlerin oksijen metabolizması, detoksifikasyon olayları, kanser hücrelerindeki apoptozisin indüklenmesi ve hücre bölünmesinin kontrolünde görev aldıkları bilinmektedir (218).

Selenyum ile kanser arasındaki ilişkiler araştırıldığında, insanlarda fizyolojik düzeylerdeki selenyumun kanserojen olmadığı, hatta antikanserojen etki gösterdiği, kanserli hastaları ölüm oranı ile kan selenyum düzeyleri arasında negatif önemli bir ilişki bulunduğu belirtilmiştir (114).

3.3.4.2.2.3. Selenyum Yetersizliğı ve Fazlalığı

Selenyumun fizyolojik dozları immunolojik cevabı arttırdığı, yetersizliğı durumda ise immun yetmezliklere neden olduğu ifade edilmektedir. Selenyum yetersizliğı durumunda mikrobiyal ve viral enfeksiyonlara karşı direncin, antikor üretiminin, fagositik hücre fonksiyonlarının ve mitojenlere karşı B ve T lenfositlerin proliferasyonlarının azaldığı belirtilmektedir (131).

Selenyum yetersizliğı olan hayvanlarda oluşturulan deneysel enfeksiyonlarda, bu hayvanların enfeksiyonlara karşı dirençsiz oldukları, hayvanlara selenyum verilmesi halinde ise enfeksiyonlara karşı daha dirençli hale geldikleri kaydedilmiştir (175). Selenyum yetersizliğine bağılı olarak evcil hayvan ve insanların çoğı dokusunda dejeneratif bozukluklar, üreme ve büyümede

aksaklıklar ve kardiovasküler hastalıklara karşı hassasiyet artışı gözlenebilir (120). Sıçanlarda karaciğer nekrozu, testislerde dejenerasyon, gelişmede yavaşlama, böbreklerde tubüler dejenerasyonlar şekillenmektedir. Selenyum yetersizliği nedeniyle, özellikle genç hayvanlarda meydana gelen bozukluklardan biri de beyaz kas hastalığıdır (114).

Dokularda en uygun GSH-Px etkinliğinin oluşabilmesi için alınan besinlerdeki selenyum düzeyinin 0.10-0.20 µg/g değerleri arasında olması gerektiği açıklanmaktadır. Besinlerle günde 5µg/g düzeyinde uzun süre selenyum alan çoğu hayvan türlerinde zehirlenmeler görülmüş, intramusküler 0.7 µg/g selenyum verilen koyunların yarısının, 0.8 µg/g verilenlerin ise tümünün birkaç gün içinde öldüğü bildirilmiştir (48, 114, 191). Ratlarda selenyumun toksik dozu, oral 4.8-6.0 mg/kg, intravenöz 5.7 mg/kg, intraperitoneal 3.25-3.5 mg/kg olarak belirtilmiştir (52).

İnsanlarda selenyum zehirlenmesinde; nefesin sarımsak kokusu vermesi, iştahsızlık, durgunluk, bulantı gibi belirtiler görülür. Selenyumun toksik dozlarının alınmasıyla hayvanlarda kronik seyirli veya akut öldürücü etkiler görülmektedir. Yün kalitesinde bozukluk, eklem ve uzun kemiklerin hasarı nedeniyle hayvanlarda topallık, hareket edememe, kalpte atrofi, siroz ve anemi oluşmaktadır. Akut selenyum zehirlenmesinde körlük, karın ağrısı, salivasyon, diş gıcırıtması ve değişik derecelerde felçler meydana gelir ve hayvan solunum yetmezliğinden ölür (114, 214).

3.3.4.2.3. E Vitamini, Selenyum ve BaP

Oksidatif hasara karşı selenyum ve E vitamini birbirlerini tamamlayıcı rol oynarlar. E vitamini, doymamış yağ asidi moleküllerine bağlanır ve hücre solunumu sırasında yağ asitleri salınımı oluncaya kadar onlarla zayıf kimyasal bileşikler oluşturur. Doymamış yağ asitleri çift bağa sahip olduklarından oksijen ile hızlı bir şekilde reaksiyona girer ve zarların yapısını ve metabolizmasını bozan peroksit ve hidroperoksitleri oluştururlar. E vitamini, hidrojen protonları ile peroksit ve hidroperoksitleri doyurarak peroksit radikallerinin etkinliklerini azaltıp, otooksidasyonun başlatıcısı olan bu reaksiyonu daha işin başında duraklatır. Selenyum ise in vivo olarak oluşan peroksitleri GSH-Px aracılığı ile suya ve alkolere katalizleyerek, hücrel zarları oksidatif zarardan korur (52, 114, 225).

Eğer E vitamini doymamış yağ asiti moleküllerinin hepsine bağlanacak kadar yeterli değilse, ya da GSH-Px miktarı tüm peroksitleri ortadan kaldıracak düzeyde değilse o zaman doku harabiyeti oluşur. E vitamini ve selenyum eksikliğinin belirtileri birbirine benzer olmasına karşın birbirinin yerini asla alamazlar (48, 114).

Selenyum birçok biyolojik işlemde rol oynayan, esansiyel iz elementlerden biridir (157). Pankreasın bütünlüğünü koruyarak yağ sindiriminin düzenli olmasını sağlar. E vitamininin kan plazmasında tutulmasına yardımcı olur. GSH-Px enziminin yapısına girer, serbest radikalleri suya dönüştürerek E vitamininin kullanımını azaltır. Selenyumun bu etkileri E vitamini ihtiyaçlarını olumlu yönde etkilemektedir (6, 8, 225). Hayvanlar üzerinde yapılan deneysel çalışmalarda

selenyumun kanseri önleyebildiği, aynı zamanda insanlarda yetersiz selenyum düzeylerinin kanser riskini arttırdığı belirtilmiştir (157).

Çevrede çok yaygın olarak bulunan ve canlıların sürekli maruz kaldıkları BaP gibi güçlü kanserojen özelliğe sahip maddeler, mutajenik ve kanserojenik etkilerini oluşturmada önce reaktif türleri oluşturmak için organizmada metabolik olarak bir aktivasyon geçirirler (77). Bu aktivasyon sonucunda LPO'ya neden olarak serbest radikallerin oluşmasına yol açarlar. BaP'ın biyotransformasyonu süresince oluşan bu serbest radikaller, DNA'ya zarar verebilirler. Hücrelerde mutasyona neden olarak kanseri başlatabilirler. Mutasyona uğrayan hücre oluşumları sınırlanmadıkları takdirde çok hızlı çoğalırlar. Sonuçta hücreler bölünmeye zorlanır ve bu da kontrolsüz doku gelişimine neden olur. Serbest radikallerin bu toksik etkileri, hücrede birinci derecede önemli olan enzim sistemleri (SOD, CAT, GSH-Px) ile ortadan kaldırılabılır (25).

Benzo(a)pireninin tümör oluşturma etkisinin, E vitamini ve selenyum gibi antioksidanlar tarafından inhibe edilebileceği belirtilmektedir. Antioksidanlar, bu etkilerini hidrokarbonların in vivo olarak kanserojen epoksitlere ve diğer elektrofilik ürünlere dönüşümünü engelleyerek gösterirler (196).

E vitamini serbest radikalleri temizleyerek, kanser oluşumunu engellemektedir. Bu etkisine ilaveten E vitamininin immun sistemi kimyasal maddelerin etkisinden koruduğu da bildirilmektedir. İnsanlarda yaşlanmaya bağlı olarak immun fonksiyonların azaldığı, fakat E vitamini ilaveleriyle bu olumsuz etkilerin bazı bireylerde ortadan kaldırıldığı ifade edilmiştir. Pallast ve ark. (66)

günlük 100 mg E vitamininin altı ay süresince alınmasıyla sağlıklı yaşlı bireylerde, hücrel immun fonksiyonların artırılabilceğini bildirmişlerdir

Yapılan çalışmalarda E vitamini ilavelerinin, BaP gibi çevresel kanserojen maddelere maruz kalan hayvanların akciğer epitelyumunda serbest radikallerin oluşturduğu zararlı etkileri ve tümör oluşum sıklığını azalttığı belirtilmiştir (193).

Sigara içenlerde, E vitamininin kanser oluşum riskini azalttığı bildirilmiştir (136). Yine yapılan çalışmalarda uzun süreli E vitamini ilavelerinin lenfositlerdeki oksidatif DNA hasarını, meme kanserini ve hepatomların oluşumunu azalttığı bildirilmiştir (45).

Kanser yapıcı maddelere maruz kalınmasından sonra selenyum, immun sistemi uyarır. GSH-Px enzimi ile serbest radikallerin zararlı etkilerini ortadan kaldırır. Hücrel solunumu muhafaza eder. Kanser yapıcı maddeleri inaktive eder ve apoptosisi regüle eder. Selenyumun sayılan bu özelliklerine bağlı olarak kanseri önleyebildiği belirtilmektedir. Bu etkisini tam olarak yerine getirebilmesi için diyet ve rasyona yeterli miktarda selenyum ilave edilmesi gerekmektedir. Yeterli miktarlardaki selenyumun kanseri önleyici etki gösterdiği, selenyum yetersizliğine bağlı olarak mide, özefagus ve rektum kanserlerinden ölüm oranlarının arttığı belirtilmektedir (114, 228). Yeterli düzeydeki selenyum, hücre proliferasyonunu ve benzer etki mekanizmasıyla protein sentezinin azalmasını önlemektedir (185).

Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada, selenyumun akciğer hücrelerinde oluşan DNA hasarını önlediği belirtilmiştir (232). Selenyumun, BaP uygulamasına bağlı olarak farelerde oluşan mide tümörlerini etkili bir şekilde inhibe ettiği belirtilmiştir (70, 204, 205). İn vitro olarak tümör oluşturulan hücre

kültürlerinde, selenyumun tümör hücrelerinin gelişme ve canlılığını inhibe ettiği belirtilmektedir. Bu etkilerin, tümör hücre metabolizmasında çeşitli sistemlerde azalan mitokondrial oksidatif metabolizma, artmış cAMP düzeyi ve azalan RNA sentezini kapsayan değişimlerle birlikte olduğu gösterilmektedir (52, 114).

Selenyum normal hücrelerin kötü huylu hücrelere dönüşmesini önleyerek, antimutajenik bir ajan olarak da fonksiyon görür. Selenyumun bu koruyucu etkisi DNA ve diğer hücresel maddeleri oksidatif stresten koruyan GSH-Px enzimi ve tioredoksin redüktazın bir bileşeni olmasıyla ilişkilendirilebilir (184, 211).

Selenyum eksikliği olan hayvanlar, yemdeki doymamış yağ asit oranı fazlaysa belirli kanserojen maddelere karşı daha duyarlı olurlar. Birçok kanserojen madde yağda çözüldüğü için fazla yağ alınması, bu kanserojenlerin etkilerinin artmasına neden olur (93).

4.GEREÇ VE YÖNTEM

Deneylede, F.Ü. Tıp Fakültesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden temin edilen, ağırlıkları 200-250 gr arasında değişen 10-12 haftalık 100 adet dişi Wistar albino rat kullanıldı. Araştırma F.Ü. Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarlarında yürütüldü. Ratlar çalışmaya başlamadan bir ay önce alınarak ortama adaptasyonları sağlandı. Araştırmada her birine beş adet rat konulabilen özel kafesler kullanıldı. Kafeslerin özel bir bölümüne uçlarında damlalık bulunan ve ratların sürekli taze su alabilmelerini sağlayan suluklar yerleştirildi. Kafesler düzenli olarak temizlendi. Ratlara yem ve su ad libitum olarak verildi Yem olarak Elazığ Yem Fabrikasından temin edilen rat yemi kullanıldı. Yem içeriği Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Ratlara verilen yem içeriği

Yem Maddeleri	Yüzdesi (%)
Buğday	30
Mısır	15
Arpa	10
Kepek (Buğday)	5
Soya küspesi	30
Balık unu	6.5
Limestone (Mermer tozu)	2
Tuz	1
Methionin	0.25
* Vitamin ve Mineral karması	0,25

*A (12.000.000 IU), D₃ (2.400.000 IU), E (30.000 mg), K₃ (2.500 mg), B₁ (3.000 mg), B₂ (7.000 mg), B₆ (4.000 mg), B₁₂ (15 mg) vitaminleri ile nicotinamide (40.000 mg), folic acid (1.000 mg), D-biotin (45 mg), vitamin C (50.000 mg) ve Choline chloride (125.000 mg)'ten oluşmaktadır. Mangan (80.000 mg), Demir (40.000 mg), Çinko (60.000 mg), Bakır (5.000 mg), İyot (400 mg), Kobalt (100 mg), Selenyum (150 mg) mineralleri ile Antioksidan (10.000 mg)'dan oluşmuştur.

4.1. Yöntem

Araştırmada kullanılan dişi Wistar albino ratlar her grupta 20 adet rat olacak şekilde beş gruba ayrıldı. Birinci grup hariç diğer gruplarda bulunan ratlara tricapyrilin içinde çözdürülerek 10,08 mg dozunda 3,4 benzo(a)pyren (BaP) deri altı yolla tek doz uygulandı. Bu gruplar aşağıda belirtilmiştir.

1. Grup (Kontrol Grubu): Plasebo olarak intraperitoneal serum fizyolojik uygulandı.

2. Grup (BaP Grubu): BaP uygulandı.

3. Grup (BaP + E vitamini grubu): Ratlara gün aşırı 100 mg/kg E vitamini intraperitoneal uygulandı.

4. Grup (BaP + Selenyum grubu): Ratlara gün aşırı 0,8 mg/kg selenyum intraperitoneal uygulandı.

5. Grup (BaP + Selenyum + E vitamini grubu): Ratlara gün aşırı 100 mg/kg E vitamini ve 0,8 mg/kg selenyum intraperitoneal uygulandı.

Uygulamalar 12 hafta süre ile devam etmiştir.

4.1.1. Kan Örneklerinin Alınması

Bu deneysel uygulamaların (12 hafta) sonunda bir gece öncesinden yemleri alınan ratların 12 saatlik açlık periyodundan sonra kan örnekleri, eter anestezisini takiben median laparotomi sonrasında kalpten punksiyon ile alındı. EDTA'lı tüplere alınan kanların bir kısmı MDA tayini için 3000 rpm'de +4 °C'de 10 dakika santrifüj edilerek plazma ve eritrositler elde edildi. Eritrositler üç kez serum fizyolojik ile yıkanarak RBC eritrositleri hazırlandı. Plazma ve eritrositler,

diğer analizler için -20 °C'de derin dondurucuda saklandı. Alınan kan örneklerinde plazma MDA, eritrosit GSH, GSH-PX, CAT tayini yapıldı.

4.1.2. Doku Örneklerinin Alınması

Ratlardan akciğer, karaciğer, böbrek, ovaryum, mide, kalp, beyin, kas, dalak ve bağırsaklar gibi organlar çıkartıldı. Bu organların bir kısmı, histopatolojik olarak incelenmek üzere ayrı solusyonlar içine konulurken, bir kısmı da doku düzeyinde yapılacak analizler için ayrıldı. Daha sonra doku parçaları bekletilmeden serum fizyolojik ile yıkanarak dokuların kandan temizlenmeleri sağlandı. Doku örnekleri ile ilgili çalışmalar yapıncaya kadar -20 °C'de derin dondurucuda saklandı.

Enzim aktivite ölçümleri ve diğer parametreleri çalışılacak olan dokular derin dondurucudan alınarak buzdolabında bekletilip, tam olarak çözünmeleri sağlandı. Daha sonra süzgeç kağıdı arasına alınan dokuların suyu alınarak kurutuldu ve net ağırlıkları tartıldı. Tartımları alınan dokular 10 nmol/L konsantrasyonundaki sodyum-fosfat tamponu içinde 1/10 oranında sulandırıldı. Kolayca homojenize edebilmek için ince parçalara bölünerek cam-cam homojenizatör kullanılarak +4 °C'de tam olarak homojenize edildi. Elde edilen homojenatlar soğutmalı santrifüjde +4 °C'de 4000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantlar enzim kaynağı ve diğer parametreler için kullanılmak üzere -20 de derin dondurucuda muhafaza edildi. Alınan karaciğer örneklerinde MDA, GSH, GSH-Px, CAT tayini yapıldı.

4.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmada kullanılan bütün kimyasal maddeler analitik saflıkta olup, Merck (Almanya), Sigma (A.B.D), Carlo Erba (İtalya), firmalarından temin edilmiştir. E vitamini Roche Müstahsarları San. A.Ş.'den temin edilmiştir.

4.2. Metotlar

4.2.1. Doku ve Plazmada Lipit peroksidasyon Tayini

Plazma ve dokuda lipit peroksit tayini (MDA) Placer ve ark. (169)'nın tanımladığı yöntemine göre spektrofotometrik olarak belirlendi.

Prensip: pH'ın 3,4 olduğu aerobik bir ortamda tiobarbitürik asit (TBA) ile plazmanın 100 °C'de inkubasyonu, lipit peroksidasyonun sekonder bir ürünü olan malondialdehiti (MDA) oluşturmaktadır. Oluşan MDA, TBA ile pembe renkli bir kompleks oluşturur. Pembe rengin 532 nm'de spektrofotometrik olarak ölçümü ile lipit peroksidasyon saptanır. Belirlenen absorbanans değeri MDA standart eğrisinden plazma MDA değeri nmol/ml olarak hesaplandı.

Standart eğri çizimi için 10µl 1,1,3,3 Tetraethoxypropane'den 10 ml absolut etanolde çözdürülerek + 4 °C'de koyu bir şişede saklanarak bu stok solusyondan farklı konsantrasyonlarda çalışma çözeltileri hazırlanarak standart eğri çizilir.

4.2.2. Doku ve Eritrosit Glutatyon Peroksidaz Tayini

Eritrosit ve dokuda GSH-Px aktivitesi düzeyi Lawrence ve ark. (134)'nin belirttiği şekilde belirlendi.

Prensip: Eritrosit ve dokulardaki GSH-Px, GSH Cumenehidroperoksit (CHPO₄) ile oksidasyona uğratılır. Renk ajanı olarak 5,5-ditiyo-bis[2-nitrobenzoik

asit] (DTNB) solusyonu ile karıştırılması sonucu hem kör ve hem de örneklerde meydana gelen sarı renk kompleksinin 412 nm’de spektrofotometre ile okunması sonucu belirlenmiştir.

4.2.3. Doku ve Eritrosit Redükte Glutatyon Düzeyinin Tayini

Doku ve eritrositte GSH düzeyi Sedlak ve Lindsay (186)’ın belirttiği şekilde yapılmıştır.

Prensip: plazmadaki bütün non-protein sülfidril grupları, GSH şeklinde bulunur. Renk ajanı olarak 5,5-ditiyo-bis[2-nitrobenzoik asit] (DTNB)’nin sülfidril gruplarıyla reaksiyonu sonucu sarı renkli kompleks meydana gelir. Oluşan renk değişiminin köre karşı 412 nm’de spektrofotometrik ölçümüyle belirlenmiştir.

4.2.4. Eritrosit Katalaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Eritrosit katalaz (CAT) enzim tayini Goth (82) metoduna göre yapıldı.

Prensip: Eritrosit Eritrositin, hidrojen peroksit (H_2O_2) içeren substrat ile inkübe edilir. H_2O_2 katalaz aktivitesi ile H_2O ve O ’e parçalanır. Ortama ilave edilen amonyum molibdat H_2O_2 ile birleşerek reaksiyon sonlandırılır. Bu süre içerisinde meydana gelen renk değişimi 405 nm’de köre karşı spektrofotometre ile okunur.

4.2.5. Dokuda Katalaz Enzim Aktivitesinin Tayini

Doku katalaz enzim aktivitesinin tayini için Aebi (3)’nin tanımladığı yöntem kullanıldı.

Prensip: UV spektrosunda gittikçe azalan dalga boyu ile ters orantılı olarak yükselen absorbans veren hidrojen peroksitin, katalaz enzim aktivitesi ile dekompozisyonu neticesi 240 nm’de oluşturduğu birim zamandaki absorbans

azalması katalaz aktivitesinin bir ölçüsüdür. 240 nm'de köre karşı önce 0. sn'de ve daha sonra 30. sn'de ki absorbans düşüşü ölçüldü. Bulunan değer protein değerine bölünerek tespit edildi.

4.2.6. Protein Konsantrasyonunun Belirlenmesi

Eritrosit protein konsantrasyonu Gornal ve ark (81) tarif ettiği şekilde biüret yöntemi kullanılarak belirlendi.

Prensip: İki veya daha fazla peptit bağ içeren proteinlerin alkali ortamda bakır iyonları ile reaksiyonu sonucu meydana gelen mor rengin 540 nm'de spektrofotometrede okunması ile belirlenmiştir.

Doku protein tayini Lowry metodu (140) kullanılarak yapılmıştır.

Prensip: Fenol ayırıcı bakır ile muamele edilmiş ve karışıma ilave edildiğinde mor-mavi renk şekillenmiştir. Daha sonra 650 nm'de spektrofotometrede okuma işlemi yapılmıştır.

4.2.7. Histolojik Kesitlerin Hazırlanması

Çalışma ve kontrol gruplarındaki ratlar sakrifiye edilerek organları çıkarıldı. Çıkarılan organlar makroskopik değerlendirme sonrası % 10'luk formalinde fikse edildi. Fırat Tıp Merkezi Patoloji Anabilim Dalı laboratuvarında yapılan rutin takip işlemlerinden sonra hazırlanan parafin bloklardan elde edilen 4-5 mikron kalınlığındaki kesitler Hematoksilen ve Eozin ile boyandı ve ışık mikroskopunda (Olympus Bx50) incelendi.

4.3. İstatistiksel Analizler

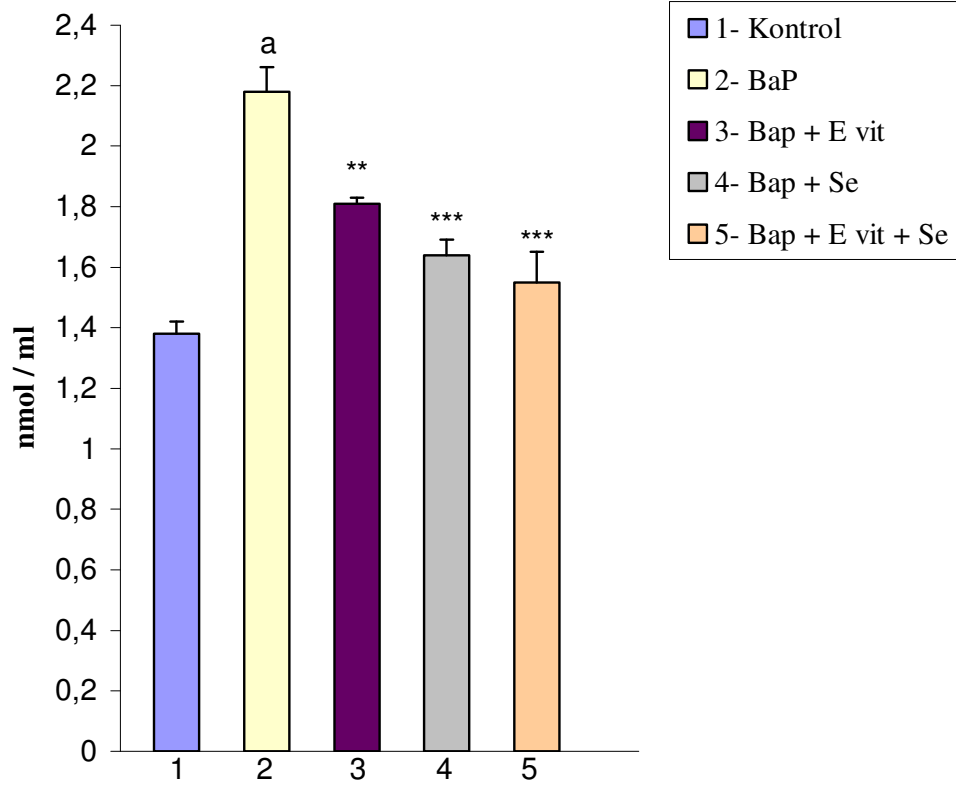
Araştırma sonucunda elde edilen veriler ortalama \pm SE olarak gösterildi. İstatistiksel analizler SPSS 11.5 paket programı kullanılarak yapıldı. Plazma MDA, eritrosit GSH, GSH-Px, CAT, karaciğer MDA, GSH, GSH-Px, CAT düzeylerinin gruplar arasındaki karşılaştırmalarında varyans analizi (One-Way Anova) yapıldı. Gruplar arasında fark bulunduğunda ise farklılığın hangi gruptan kaynaklandığı Tukey testi ile incelendi. Anlamlılık düzeyi olarak $p < 0.05$ kabul edildi. Grafiklerde sadece istatistiksel olarak anlamlı olan grup karşılaştırmalarının p değerleri verilmiştir.

5. BULGULAR

Gruplara ait plazma ve karaciğer MDA, eritrosit ve karaciğer GSH, GSH-PX, CAT düzeylerinin tümü Tablo 2’de gösterilmiştir.

5.1. Plazma MDA Düzeyleri

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 2. grupta MDA düzeylerinin anlamlı olarak arttığı ($p<0.001$) belirlendi. 2. grupta kıyaslandığında, 3. ($p<0.01$), 4. ($p<0.001$) ve 5. ($p<0.001$) grupların MDA seviyelerinde önemli bir azalma gözlemlendi. 3. ve 4. grupta kıyaslandığında 5. grupta istatistiksel bir önem belirlenmemiştir.



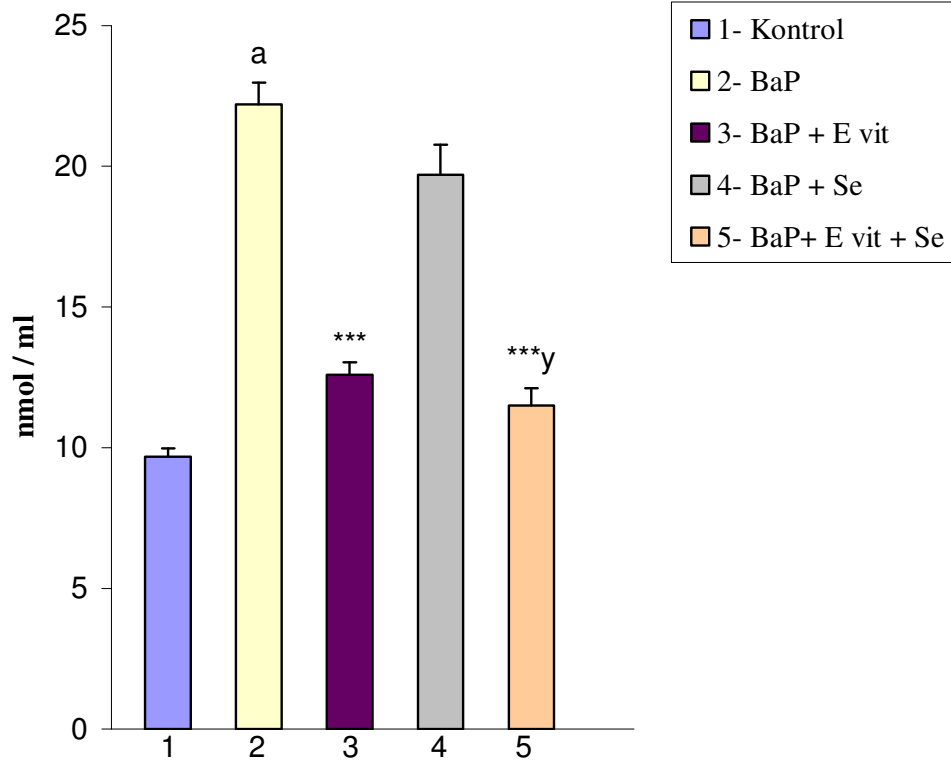
a=kontrol ile kıyaslandığında önemli; a= $p<0.001$.

, * = BaP ile kıyaslandığında önemli; **= $p<0.01$, ***= $p<0.001$.

Şekil 3. Plazma MDA düzeyleri.

5.2. Karaciğer MDA Düzeyleri

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 2. grupta MDA düzeylerinde anlamlı bir artış ($p<0.001$) gözlemlendi. 2. grupta kıyaslandığında 3. ve 5. grupta MDA düzeylerinde istatistiksel olarak önemli bir azalma ($p<0.001$) belirlendi. 3. grupta kıyaslandığında 5. grupta arasında önemli bir değişim gözlemlenmedi. 4. grupta kıyaslandığında 5. grupta istatistiksel olarak önemli bir azalma ($p<0.001$) belirlendi.



a = kontrol ile kıyaslandığında önemli; a= $p<0.001$.

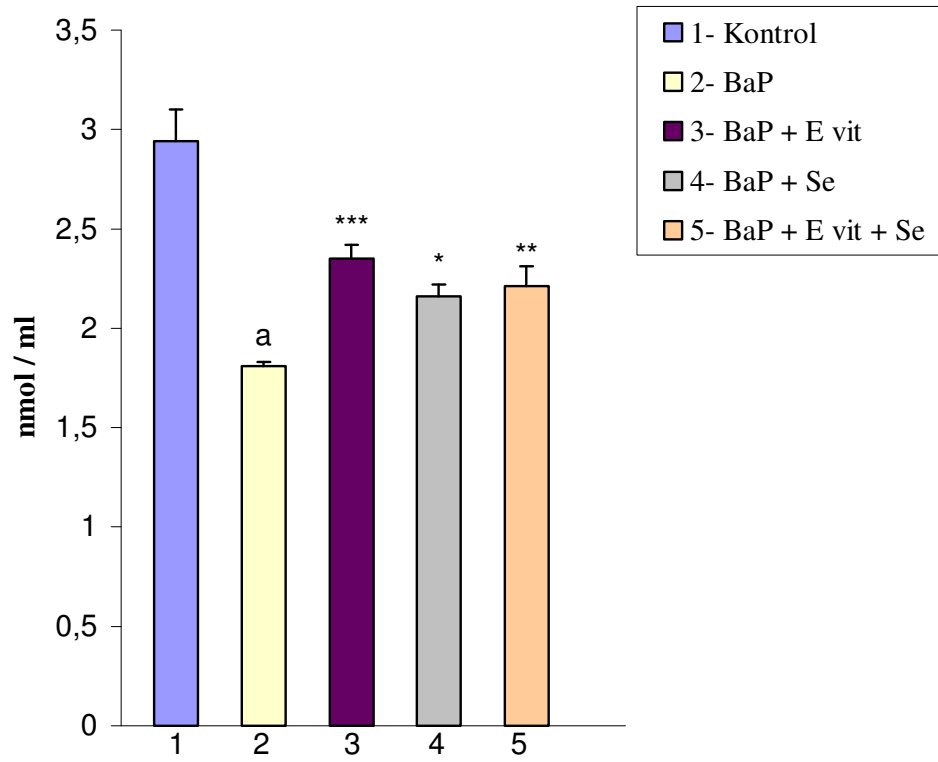
*** = BaP ile kıyaslandığında önemli; ***= $p<0.001$.

y = BAP + Se ile kıyaslandığında önemli; y = $p<0.001$.

Şekil 4. Karaciğer MDA düzeyleri.

5.3. Eritrosit GSH Düzeyleri

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 2. grupta eritrosit GSH düzeylerinin anlamlı ($p<0.001$) olarak azaldığı belirlendi. 2. grupla kıyaslandığında 3. ($p<0.001$), 4. ($p<0.05$) ve 5. grupta ($p<0.01$) önemli bir artış belirlendi. 3. ve 4. grupla kıyaslandığında 5. grupta istatistiksel olarak önem gözlenmedi.



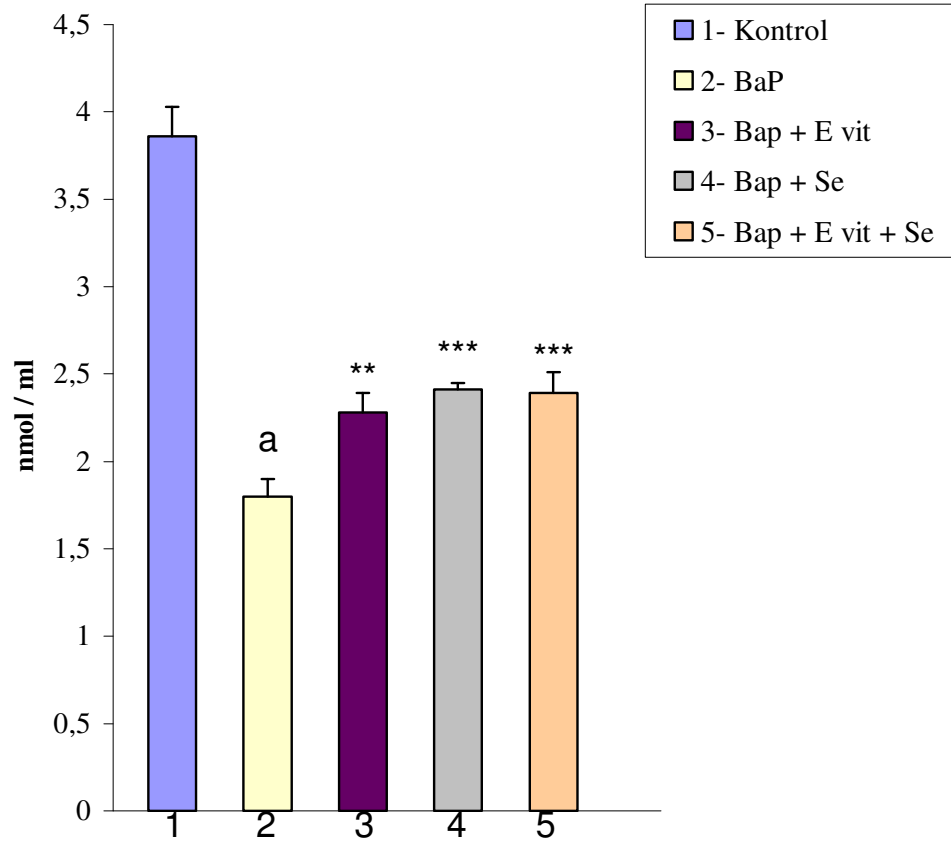
a = kontrol ile kıyaslandığında önemli; a= $p<0.001$.

*, **, *** = BaP ile kıyaslandığında önemli; *= $p<0.05$, ** = $p<0.01$, *** = $p<0.001$.

Şekil 5. Eritrosit GSH düzeyleri.

5.4. Karaciğer GSH Düzeyleri

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 2. grupta GSH düzeylerinin anlamlı olarak azaldığı ($p<0.001$) belirlendi. 2. grupta kıyaslandığında 3. ($p<0.01$), 4. ($p<0.001$) ve 5. gruplarda ($p<0.001$) önemli bir artış belirlendi. 3. ve 4. grupla kıyaslandığında, 5. grupta istatistiksel olarak önemli bir değişim tespit edilmedi.



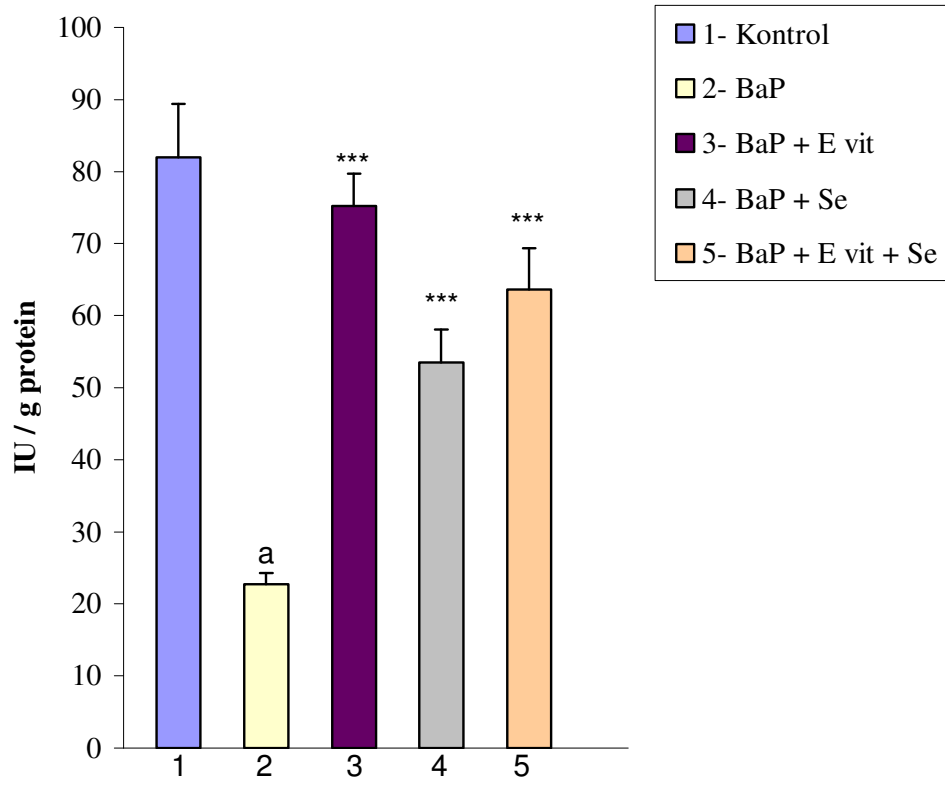
a = kontrol ile kıyaslandığında önemli; a= $p<0.001$.

** , *** = BaP ile kıyaslandığında önemli; ** = $p<0.01$, *** = $p<0.001$

Şekil 6. Karaciğer GSH düzeyleri.

5.5. Eritrosit GSH-Px Düzeyleri

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 2. grupta eritrosit GSH-Px düzeylerinin anlamlı olarak azaldığı ($p<0.001$) belirlendi. 2. grupla kıyaslandığında 3, 4 ve 5. grupta eritrosit GSH-Px düzeylerinde önemli bir artış ($p<0.001$) gözlemlendi. 3. ve 4. grupla kıyaslandığında, 5. grupta istatistiksel olarak önemli bir değişim gözlemlenmedi.



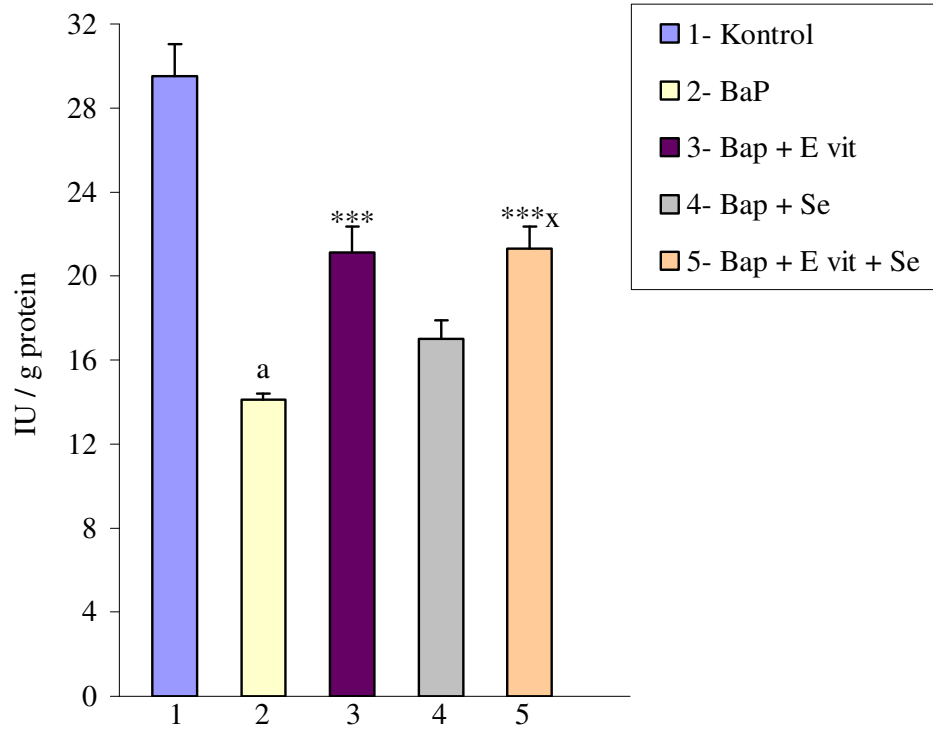
a = kontrol ile kıyaslandığında önemli; a= $p<0.001$.

***= BaP ile kıyaslandığında önemli; ***= $p<0.001$.

Şekil 7. Eritrosit GSH-Px düzeyleri.

5.6. Karaciğer GSH-Px Düzeyleri

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 2. grupta GSH-Px düzeylerinin anlamlı olarak azaldığı ($p<0.001$) belirlendi. 2. grupla kıyaslandığında 3. ve 5. grupta GSH-Px düzeylerinde istatistiksel olarak önemli ($p<0.001$) bir artış gözlemlendi. 3. grupla kıyaslandığında 5. grupta herhangi bir değişim gözlenmedi. 4. grupla kıyaslandığında 5. grupta istatistiksel olarak önemli bir artış ($p<0.05$) belirlendi.

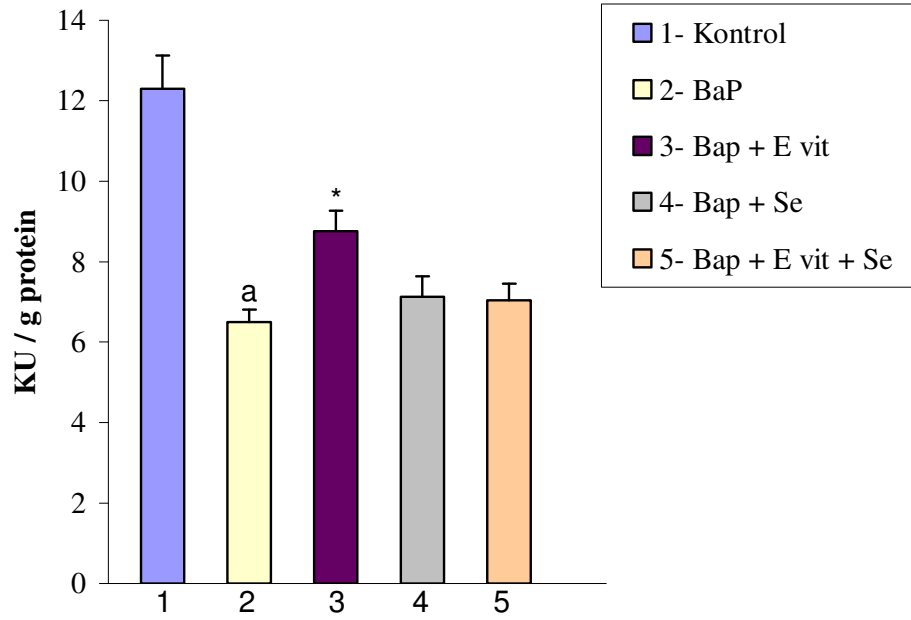


a = kontrol ile kıyaslandığında önemli; a= $p<0.001$.
 *** = BaP ile kıyaslandığında önemli; **** = $p<0.001$.
 x = BaP+Se ile kıyaslandığında önemli; x = $p<0.05$

Şekil 8. Karaciğer GSH-Px düzeyleri.

5.7. Eritrosit CAT Düzeyleri

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 2. grupta eritrosit katalaz düzeylerinin anlamlı olarak azaldığı ($p<0.001$) belirlendi. 2. grupla kıyaslandığında 3 grupta önemli ($p<0.05$) bir artış saptanırken, 4 ve 5. gruplarda eritrosit katalaz düzeylerinde istatistiksel olarak önemli bir değişim belirlenmedi. 3. ve 4. grupla kıyaslandığında, 5. grupta istatistiksel olarak önemli bir değişim gözlenmedi.



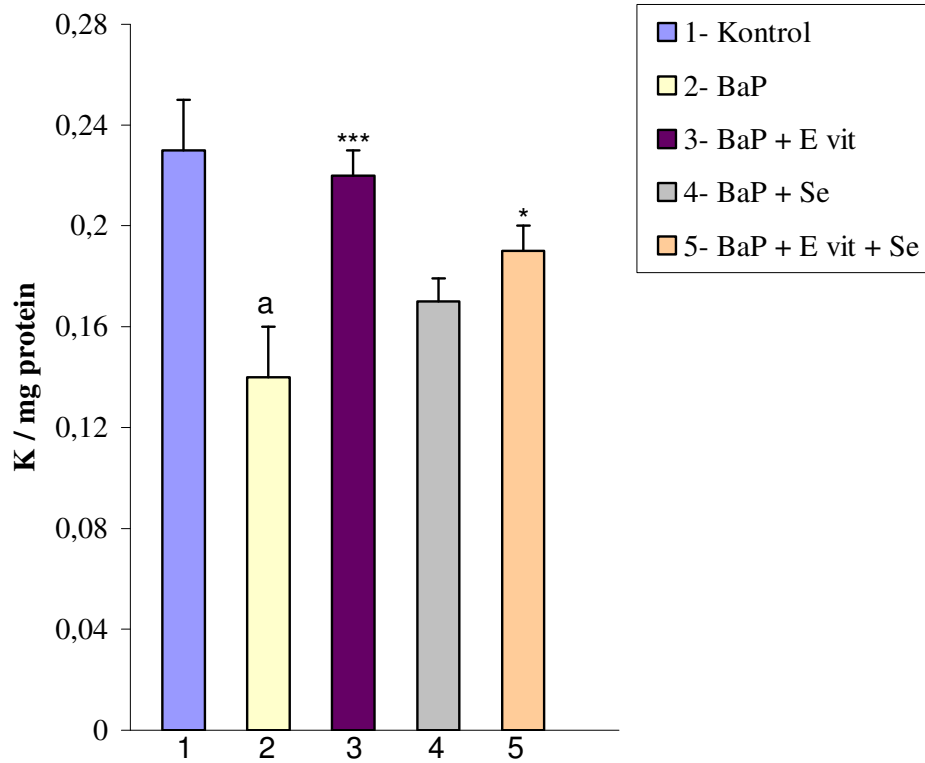
a = kontrol ile kıyaslandığında önemli; a= $p<0.001$.

* = BaP ile kıyaslandığında önemli; * = $p<0.05$.

Şekil 9. Eritrosit CAT düzeyleri.

5.8. Karaciğer CAT Düzeyleri

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 2. grupta katalaz düzeylerinde önemli bir azalma ($p<0.001$) belirlendi. 2. grupta kıyaslandığında 3. grupta katalaz düzeylerinde istatistiksel olarak önemli bir artış ($p<0.001$) görüldü. 4. grupta önemli bir değişiklik belirlenmedi. 5. grupta katalaz düzeylerinde istatistiksel olarak önemli bir artış ($p<0.05$) gözlemlendi. 3. ve 4. grupta kıyaslandığında, 5. grupta istatistiksel olarak önemli bir değişim belirlenmedi.



a = kontrol ile kıyaslandığında önemli; a = $p<0.001$.

*, ***= BaP ile kıyaslandığında önemli; *= $p<0.05$, *** = $p<0.001$.

Şekil 10. Karaciğer CAT düzeyleri.

Tablo 2. Tüm gruplarda plazma ve dokuda düzeyleri belirlenen antioksidan enzimler ve LPO sonuçları (Mean \pm SE)

	Kontrol	BaP	BaP + E	BaP + Se	BaP + E + Se	F
Plazma MDA (nmol/ml)	1,38 \pm 0,04	2,18 \pm 0,08 ^a	1,81 \pm 0,02 ^{**}	1,64 \pm 0,05 ^{***}	1,55 \pm 0,11 ^{***}	15.001
Eritrosit GSH (nmol/ml)	2,94 \pm 0,16	1,81 \pm 0,02 ^a	2,35 \pm 0,07 ^{***}	2,16 \pm 0,06 [*]	2,21 \pm 0,1 ^{**}	18.064
Eritrosit GSHPX (IU/ g protein)	81,99 \pm 7,4	22,67 \pm 1,62 ^a	75,25 \pm 4,49 ^{***}	53,47 \pm 4,64 ^{***}	63,6 \pm 5,73 ^{***}	23.308
Eritrosit CAT (KU/ g protein)	12,3 \pm 0,82	6,5 \pm 0,31 ^a	8,75 \pm 0,51 [*]	7,12 \pm 0,51	7,03 \pm 0,43	21.558
KC MDA (nmol/ml)	9,69 \pm 0,29	22,21 \pm 0,76 ^a	12,58 \pm 0,46 ^{***}	19,7 \pm 1,07	11,5 \pm 0,62 ^{***y}	49.233
KC GSH (nmol/ml)	3,86 \pm 0,17	1,80 \pm 0,01 ^a	2,28 \pm 0,11 ^{**}	2,41 \pm 0,04 ^{***}	2,39 \pm 0,12 ^{***}	44.161
KC GSHPX (IU/ g protein)	29,51 \pm 1,51	14,12 \pm 0,27 ^a	21,13 \pm 1,21 ^{***}	17,01 \pm 0,87	21,3 \pm 1,04 ^{***x}	26.099
KC CAT (K/ mg protein)	0,23 \pm 0,02	0,14 \pm 0,02 ^a	0,22 \pm 0,01 ^{***}	0,17 \pm 0,09	0,19 \pm 0,01 [*]	8.594

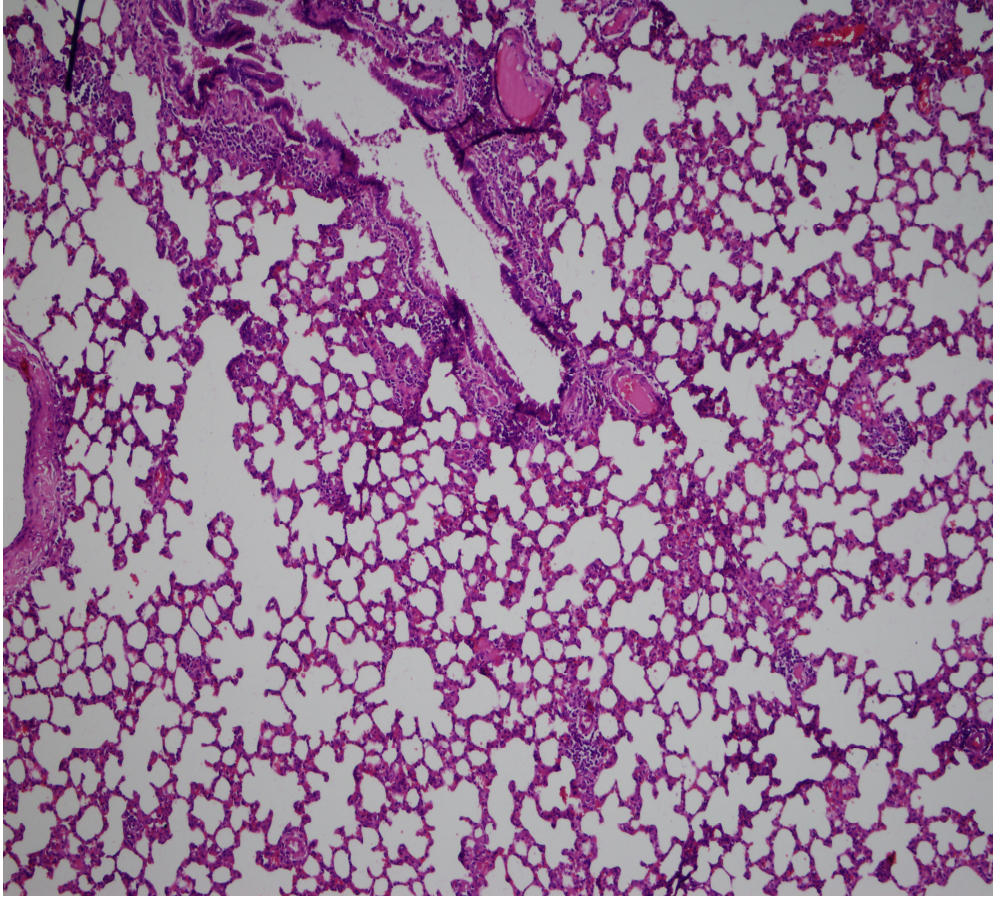
a = kontrol ile kıyaslandığında önemli; a= p<0.001.

*, **, *** = BaP ile kıyaslandığında önemli; *=p<0.05, ** = p<0.01, *** = p<0.001.

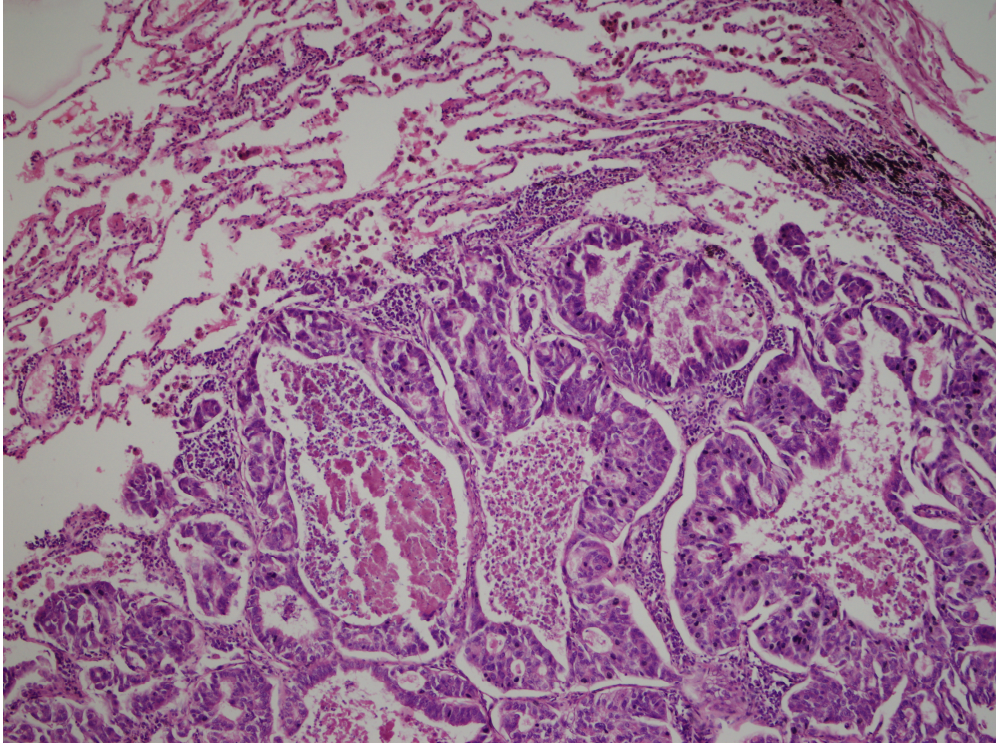
x, y = BAP + Se ile kıyaslandığında önemli; x= p<0.05, y=p<0.001

5.9. Bap Uygulamasına Bağlı Olarak Bazı Dokuların Histolojik Yapısındaki Değişimler

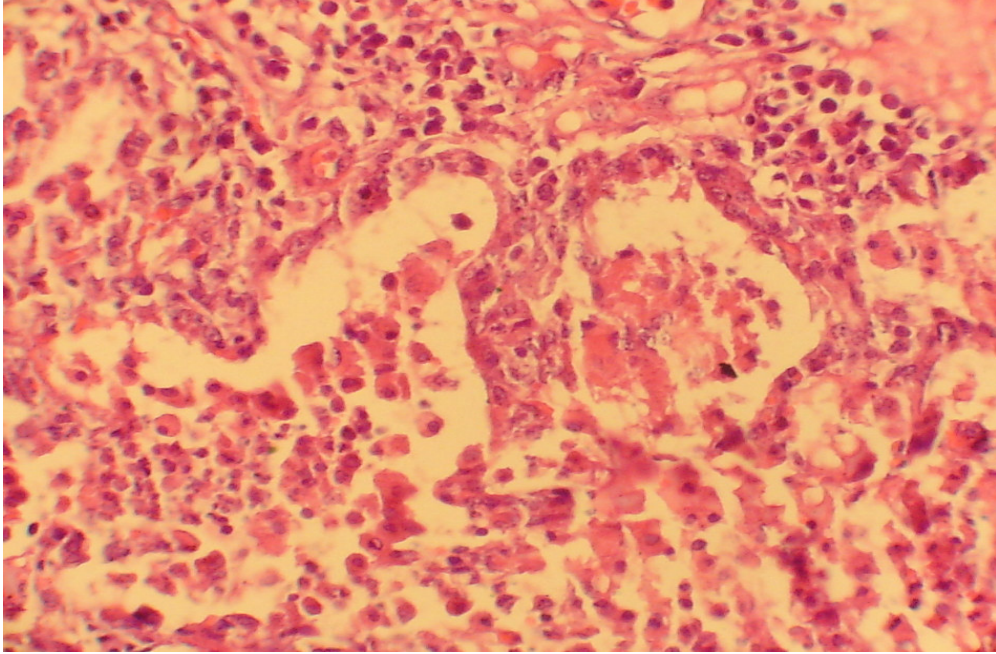
Çalışma sonunda toplam 100 adet dişi Wistar albino cinsi ratın dokularından (akciğer, karaciğer, deri, bağırsak, böbrek, ovaryum, mide, kas, kalp, beyin, dalak) hazırlanan histolojik preparatların incelenmesi sonucu, kontrol grubu ratlar ile karşılaştırıldığında, BaP uygulamalarının yapıldığı 2. grup ratların özellikle akciğer (Şekil 12, 13, 14a ve 14b), bağırsak (Şekil 16) ve ovaryum (Şekil 17a ve 17b) dokularında histolojik değişimler belirlenmiştir.



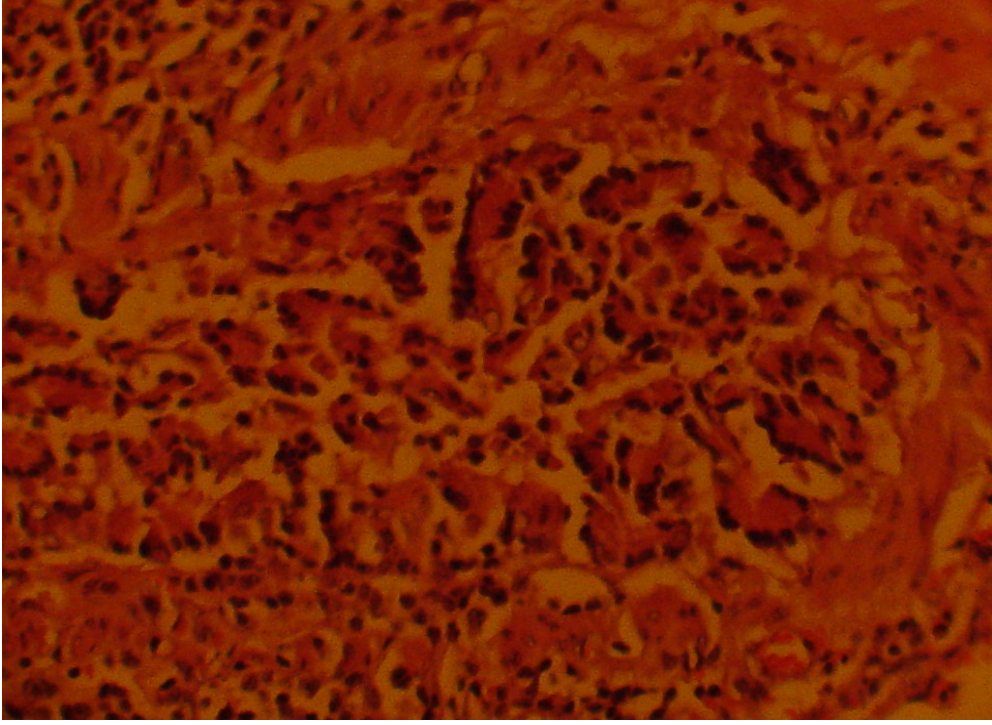
Şekil 11. Ratların normal akciğer dokusu



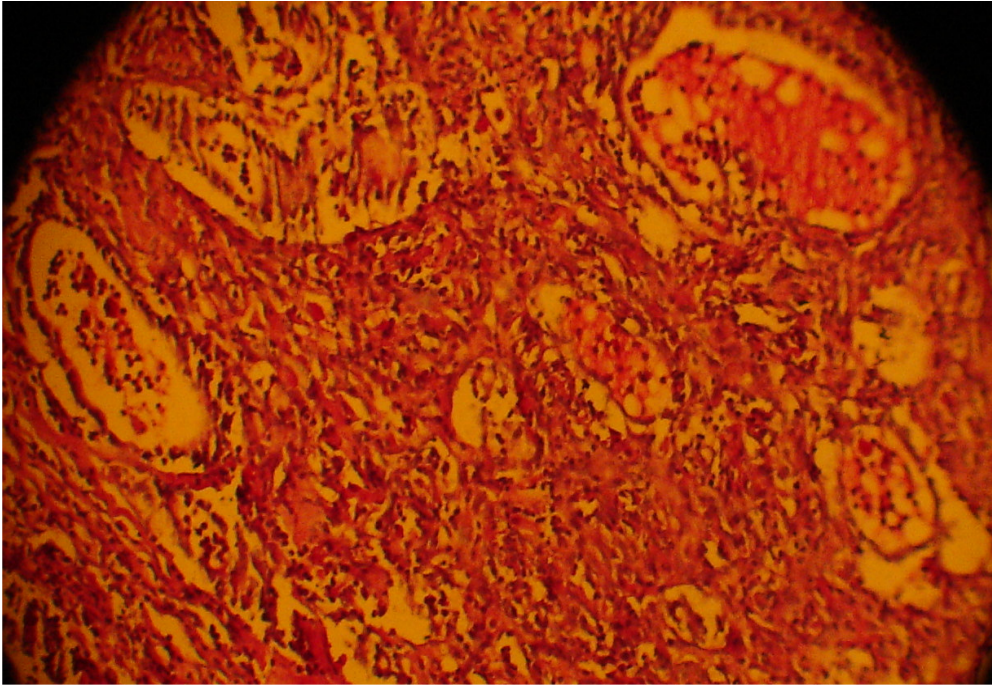
Şekil 12. BaP grubundaki ratların akciğer dokusunda adenokarsinom.



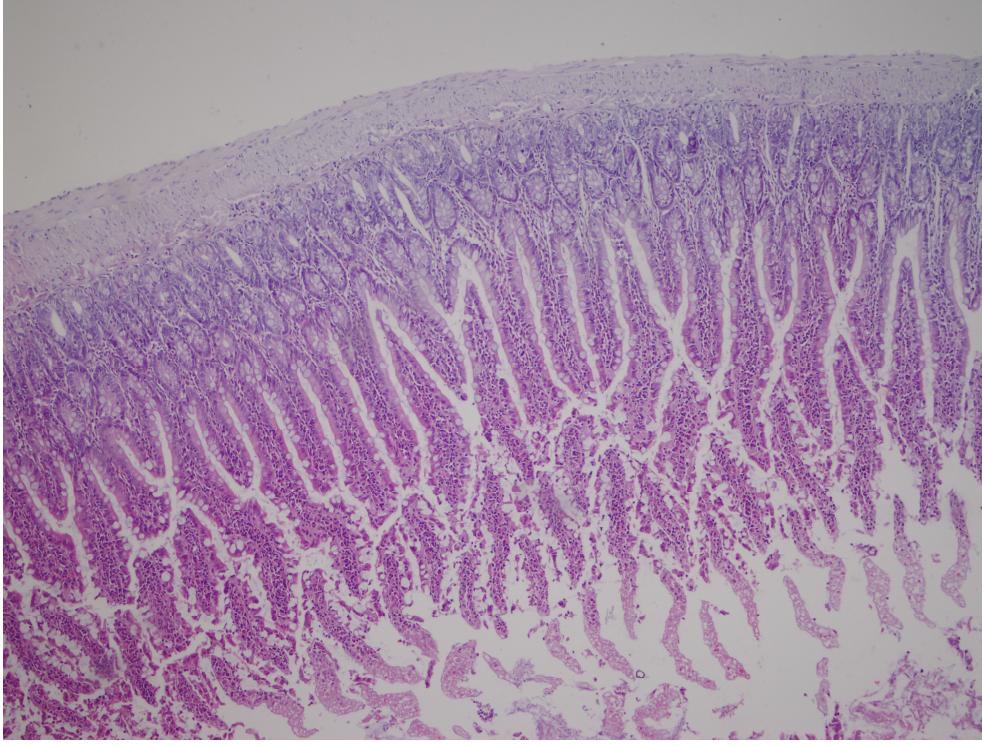
Şekil 13. BaP grubundaki ratların akciğer dokusunda adenokarsinom.



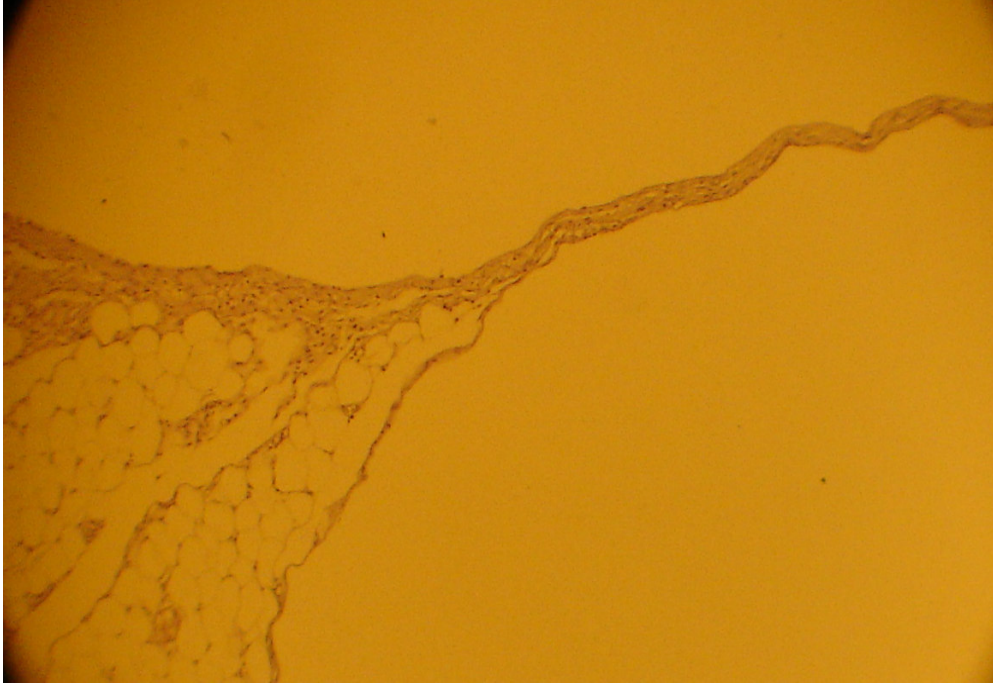
Şekil 14a. BaP grubundaki ratların akciğer dokusunda karsinoid.



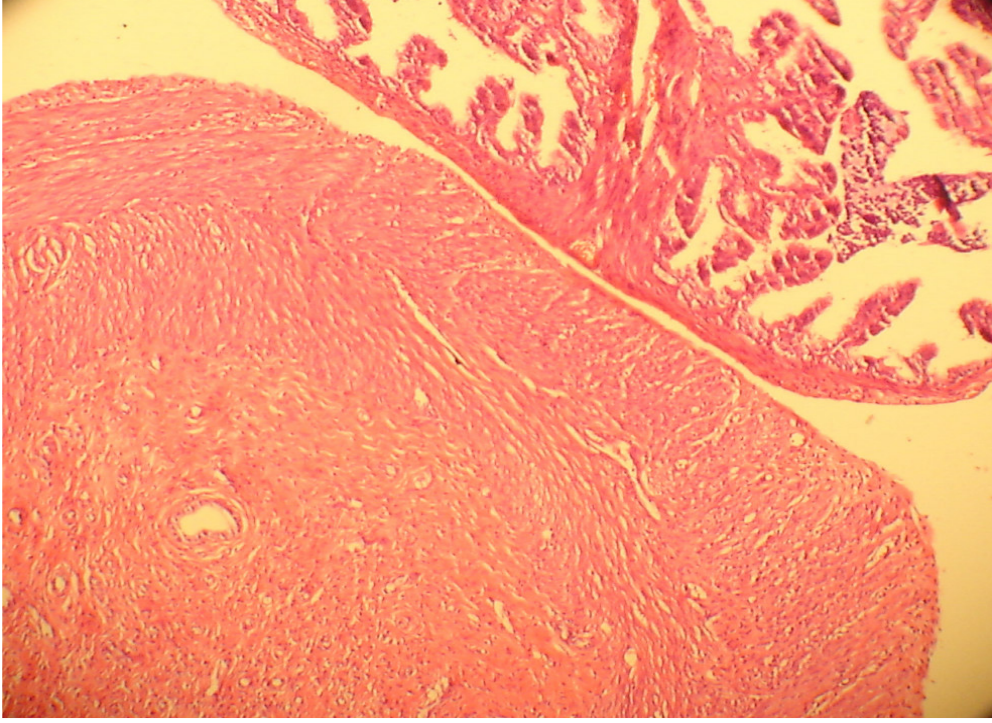
Şekil 14b. BaP grubundaki ratların akciğer dokusunda adenokarsinom.



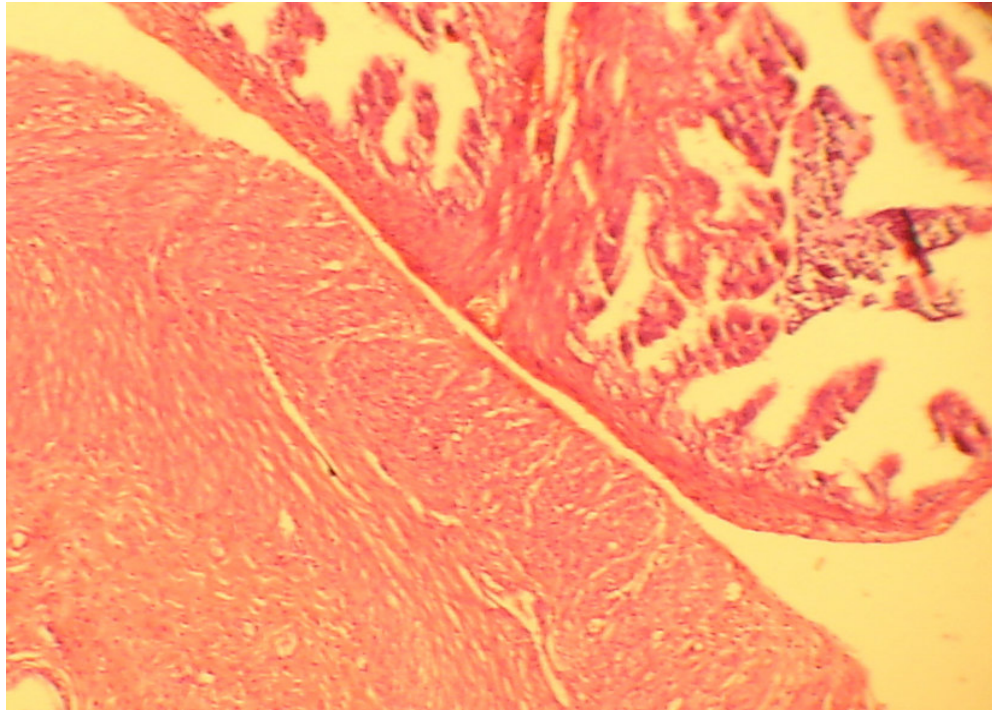
Şekil 15. Ratların normal ince bağırsak dokusu



Şekil 16. BaP grubundaki ratların ince bağırsak mezosunda lenfangiom.



Şekil 17a. BaP grubundaki ratların ovaryumunda leiomyom.



Şekil 17b. BaP grubundaki ratların ovaryumunda leiomyom.

6. TARTIŞMA

Biyolojik sistemlerde hücreler normal şartlar altında birçok endojen ve ekzojen kaynaklı stres faktörüne maruz kalmaktadır. Nedeni ve düzeyi ne olursa olsun organizma bu olumsuz etkilere karşı koymak zorundadır. Son yıllarda kanser oluşumu ile organizmanın oksidan-antioksidan denge durumu arasında yakın bir ilişki bulunduğunu ve kanserde oksidatif stresin ve serbest radikallerin arttığını gösteren çeşitli çalışmalar yayınlanmıştır (86, 101, 106, 121, 127, 159).

Canlı organizmalar, normal olarak devamlı üretilen bu serbest radikalleri elimine etmede gelişmiş bir antioksidan savunma sistemine sahiptir. Sağlıklı bir organizmada oksidan ile antioksidan düzeyler arasında bir denge mevcuttur (51, 228). Aslında, normal metabolik süreçte üretilen radikaller her zaman için zararlı olmayıp, özellikle enfeksiyon etkenlerine karşı vücut savunmasında ve bağışıklıkta önemli rol üstlenirler (206, 231).

Serbest radikaller; mitokondriyal-mikrozomal elektron taşıma sisteminden, fagositoz sırasında fagositik hücrelerden, ksantin oksidaz gibi çeşitli enzimatik tepkimelerden, hücre hasarı nedeniyle ortaya çıkan araşidonik asitten ve indirgenmiş geçiş metallere (demir ve bakır) otooksidasyonu gibi nedenlerden oluşurlar. Ayrıca çevre kirliliği, ilaçlar, radyasyon benzeri çeşitli dış etkenlerin etkisiyle de oluşabilirler (14, 93, 146, 147, 210).

Hücre dışında üretilen serbest radikaller hücre bileşenleriyle etkileşmeden önce hücre zarını geçmek zorundadırlar. Oksijen molekülünün membran lipitlerine karşı yüksek affinitesi olduğundan hücre zarı, serbest radikal reaksiyonları için önemli bir hedeftir (51). Serbest oksijen radikalleri,

membranlarda bulunan doymamış yağ asitlerine bağlanarak LPO'ya neden olur. LPO, oksidatif stresin en önemli sonuçlarından biridir ve kanser gibi birçok hastalığın patogeneziinde kritik role sahiptir. LPO sonucu oluşan peroksidasyon ürünleri ve serbest radikaller hücrede oksidatif stresi arttırarak, hücre zarı bütünlüğünün bozulmasına neden olurlar (4, 75, 181, 190).

Çevresel ve endüstriyel kirlenmede önemli rol oynayan BaP, immün sistemi baskılayıcı ve güçlü kanserojen özelliğe sahip, PAH grubunda yer alan bir maddedir. İnsanların BaP'a maruz kalması özellikle bu maddeyle bulaşık gıda ve suların alınmasıyla veya bulaşık havanın inhalasyonu yoluyla olmaktadır (56, 168). BaP membran lipitleriyle reaksiyona girerek lipit peroksidasyonunda artışa neden olur. Bu artış, ya süperoksit radikal seviyesinin artmasının ya da serbest radikal temizleyicilerinin ortadan kaldırılmasının bir sonucu olarak oluşabilir (71, 136). Serbest radikal düzeylerinin artması hücrenin antioksidan savunma sisteminde bir azalmaya neden olur (100). Oksidatif strese bağlı olarak oluşan bu serbest radikallerin düzeyleri kontrol edilemezse, bu radikaller ve LPO sonucu oluşan MDA gibi bazı toksik ürünler nükleik asit, amino asit, protein, karbonhidrat ve lipidler gibi hücrenin temel unsurlarını olumsuz etkiler. Hidroksil radikalleri gibi serbest radikaller ve MDA gibi toksik ürünlerin etkisiyle, DNA yakınlarında sentezlenen pürin ve pirimidin bazıları zarar görür. Genetik materyalde mutasyonlar sonucu başta kanser olmak üzere birçok fonksiyon bozukluğu meydana gelebilir (16, 43, 195, 228).

Homeostazisin korunmasında ve stres yapıcı unsurların elimine edilmesinde hormonlar, vitaminler ve mineraller arasında hassas bir denge mevcuttur. Özellikle de E vitamini ve selenyum serbest radikallerin elimine

edilmesinde önemli görevler üstlenmektedir (64, 65, 207). E vitamininin en önemli fonksiyonu biyolojik sistemlerde zincir kırıcı bir antioksidan olarak serbest radikal reaksiyonlarının yayılmasını önlemesi ve hücreleri lipit peroksidasyonuna karşı korumasıdır (53, 126).

Selenyum, vücudun en önemli antioksidan enzimi olan GSH-Px enziminin temel unsurlarından biri olduğu için vücuttaki çeşitli sistemleri LPO'a karşı koruyan merkezi bir role sahiptir (116). Selenyumun en önemli fizyolojik işlevlerinden biri, yapısına girdiği GSH-Px enzimi ile hidrojen peroksiti ve lipit peroksitleri parçalayarak zararsız ürünlere dönüştürmek ve böylece hücre zarını bu zararlı radikallerin yıkıcı etkisinden korumaktır. Böylece hücre zarlarının bütünlüğünün sağlanmasında etkin fizyolojik bir görev üstlenir (52, 228). Ayrıca selenyum, E vitamininin bozulmasının önlenmesinde, emiliminde ve bunlara bağlı olarak da biyolojik etkinliğinin arttırılmasında etkili olmaktadır (114). E vitamini, peroksit ve hidroperoksitler gibi radikallerle karşılaştığında sahip olduğu hidrojen protonlarından birini vererek bu radikalleri doyurur ve böylece bu radikallerin etkinliklerini azaltır. Selenyum ise peroksitleri GSH-Px aracılığı ile inaktif ürünlere parçalayarak hücre zarları oksidatif zarardan korur (52, 114).

Yukarıdaki literatür bilgileri ışığında, çevrede yaygın olarak bulunan, canlıların sürekli maruz kaldığı ve güçlü kanserojen etkiye sahip olan BaP uyguladığımız ratlarda, E vitamini ve selenyumun koruyucu etkinliğini araştırmak amacıyla yaptığımız bu çalışmada, kan ve dokularda lipit peroksidasyonu ve bazı antioksidan enzim düzeylerinde önemli sayılabilecek bulgular elde edilmiştir.

Çalışma sonuçlarının topluca gösterildiği Tablo 2 incelendiğinde; gruplar arasında plazma ve karaciğer MDA, eritrosit ve karaciğer GSH, GSH-Px, CAT düzeyleri bakımından önemli farklılıkların saptandığı görülmektedir.

Benzo(a)piren gibi kanserojen maddelerin oluşturduğu serbest radikallerin, direkt olarak DNA'yı etkilemek suretiyle kanser oluşumuna neden oldukları belirtilmektedir (107, 154). BaP'in, hem hücrel hem de humoral immun yanıtı baskıladığı bildirilmiştir (58, 158, 201). BaP uygulanan hayvanlarda, LPO sonucu oluşan ve en önemli toksik ürün olan MDA düzeylerinin önemli derecede arttığı (56) ve serbest radikal hasarının bir göstergesi olarak kabul edilebileceği bildirilmiştir (139).

Çalışmamızda tüm gruplara ait plazma ve karaciğer MDA düzeyleri incelendiğinde (Tablo 2, Şekil 3 ve 4), kontrol grubuna kıyasla BaP uygulanan 2. grupta hem plazma ($p<0.001$) hem de karaciğer ($p<0.001$) MDA düzeylerinin önemli derecede arttığı tespit edilmiştir. MDA düzeylerindeki artışlar, BaP'in oksidatif etkinliği sonucu organizmada üretilen peroksit miktarı ile peroksitleri temizleyen enzim sistemleri arasındaki yetersizliğe bağlı olabilir. Bu durumda hidrojen peroksit ve onun aktif ürünü olan hidroksil radikallerinin neoplastik değişikliklere neden olduğu (153), kanserli akciğer, karaciğer (188) ve meme dokusunda (232) MDA düzeylerinin arttığı bildirilmiştir. BAP uygulanarak yapılan bir çalışmada, fare eritrositlerinde MDA düzeylerinin oldukça yüksek olduğu belirtilmiştir (136).

Portakal ve ark. (171) ile Wang ve ark. (220) kanserli meme dokusu ve serumda oksidatif stresin arttığını belirtmişlerdir. Bu araştırmacılar meme, kolon ve prostat kanserli vakalarda, prooksidan ve antioksidan değişikliklere bağlı olarak

oluşan oksidatif stresin, malign tümörlerle ilişkili olabileceğini bildirmişlerdir. BaP uygulanan tavşanlarda, MDA düzeylerinin arttığı, bu artışların BaP metabolizması süresince üretilen serbest radikallerin, lipitlerde oksidatif hasara neden oluşuyla alakalı olduğu belirtilmiştir (65). ROS'un aşırı üretimine karşılık antioksidan tüketimi yeterli olmazsa, olay oksidatif stres lehine sonuçlanacaktır (230).

Yapmış olduğumuz çalışmadaki bulgular, kanserli hastalarda MDA düzeylerinin yüksek olduğunu ifade eden literatür bilgileriyle (56, 188, 230) uyumlu bulunmuştur. Zira çalışmamızda BaP uygulanan grupta diğer gruplardan farklı olarak tümör olgusu saptanmıştır (Şekil 12-17).

Sadece BaP uygulanan 2. grup ile 3. 4. ve 5. gruplar kıyaslandığında, hem plazma hem de karaciğer MDA düzeylerinin azaldığı belirlenmiştir. Plazma MDA düzeyleri bakımından 2. grupta kıyaslandığında, 3. ($p<0.01$), 4. ($p<0.001$) ve 5. ($p<0.001$) gruplarda önemli azalmalar gözlenmiştir. 3. ve 4. grupta kıyaslandığında 5. grupta istatistiksel bir önem belirlenmemiştir. Karaciğer MDA düzeylerinde, 2. grup ile kıyaslandığında 3. ve 5. grupta önemli ($p<0.001$) bir azalma belirlenirken, 4. grupta istatistiksel bir önem gözlenmemiştir. 4. grup ile kıyaslandığında, 5. grupta karaciğer MDA düzeylerinde istatistiksel olarak önemli ($p<0.001$) azalma saptanmıştır.

Ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada, diyetle E vitamini ilavelerinin meme kanserini ve hepatomların oluşumunu azalttığı bildirilmiştir (45). Ayrıca ratların karaciğer dokusunda artmış MDA ve azalan antioksidan enzim düzeylerinin yeterli dozda E vitamini ve selenyum verilerek düzeltildiği bildirilmiştir (157). BaP verilerek kanser oluşturulan bir çalışmada (110), antikanserojen etkinliğe

sahip E vitamini ve selenyumun BaP'ın etkilerini ve dolayısıyla kanser oluşumunu inhibe ettiği belirtilmektedir.

Değişik çalışmalarda, E vitamini ve selenyumun antioksidan aktivitesi nedeniyle LPO'yu inhibe ederek plazma MDA seviyesini azalttığı (23, 164, 172), ayrıca BaP'ın neden olduğu DNA hasarını önlediği (23, 69, 205, 232) ifade edilmiştir.

Yapmış olduğumuz bu çalışmada E vitamini + selenyum uygulamasının bir sonucu olarak MDA düzeylerinde azalmalar tespit edilmiştir. E vitamini + selenyum uygulamasına bağlı olarak, MDA düzeyleri dikkate değer bir tarzda kontrol değerlerine yakın bir seviyeye getirilmiştir. Ayrıca, E vitamini ve selenyum uygulanan gruplarda herhangi bir tümör olgusu gelişmemiştir.

Çalışmamızda, 2. grupta kıyaslandığında, 5. grupta saptanan plazma ve karaciğer MDA düzeylerindeki azalmaların, E vitamini ile selenyumun birlikte verilmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Zira bu bulgular, E vitamini ile selenyumun birlikte verilmesinin daha güçlü antioksidan etkinliğe sahip olduğunu ifade eden bildirimlerle de (52, 114) uyum içerisinde bulunmuştur.

Selenyumun, BaP gibi kanserojenlerin etkisini güçlü bir şekilde inhibe eden antioksidanlardan biri olduğu bildirilmiştir (42). Özellikle sodyum selenitin BaP'ın neden olduğu DNA hasarını önlediği veya ortadan kaldırdığı bildirilmiştir (15, 163, 204, 205, 232). BaP uygulanarak kanser oluşturulan ratlarda, antioksidan etkisinden dolayı selenyumun kanser oluşumunu inhibe ettiği belirtilmiştir (29, 85, 111, 112, 191).

E vitamini ve selenyum gibi antioksidanların bir arada uygulanmasının, ratlarda BaP'ın neden olduğu oksidatif stres sonucu oluşan serbest radikallerin zararlı etkilerini önlediği (23, 110) saptanmıştır.

Çinde yürütülen klinik bir çalışma, günlük olarak 50 µg selenyumun E vitamini ile kombine alınması sonucu mide kanserinde görülen ölüm oranını önemli derecede azalttığını göstermiştir (22). İlaveten in vitro çalışmalar selenyum bileşiklerinin DNA hasarına neden olan oksidatif stresi inhibe edebilme yeteneğinde olduğunu göstermiştir (218).

Çalışmamızda, 3. grupta kıyaslandığında, 5. grupta saptanan azalmanın özellikle selenyumun güçlü antioksidan etkisine bağlı olarak ortaya çıktığı söylenebilir. 4. grupta kıyaslandığında 5. grupta saptanan azalmaların ise, selenyum ile E vitamininin birlikte kullanılmasının oksidatif stresi çok daha etkili bir şekilde önleyebileceğinin bir göstergesi olarak ifade edilebilir. Çalışmamızda saptanan bu bulgular, selenyum ve E vitamininin bir arada kullanılmasının, BaP'ın neden olduğu DNA hasarını ve kanser oluşumunu etkili bir şekilde önlediğini ifade eden yukarıdaki literatür bilgileriyle uyumlu bulunmuştur.

GSH, direk olarak serbest radikallerle reaksiyona girer, disüflitleri indirgeyerek oksidatif hasarı önler. Bu reaksiyonların sürdürülmesi GSH-Px'a kofaktör olma yeteneğine bağlıdır (149).

Kanserli hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada GSH (137) düzeylerinin kontrollere nazaran düşük olduğu bildirilmiştir. Bu hastaların eritrosit GSH düzeylerindeki azalmaların LPO temizlenmesindeki artışa, ayrıca BaP uygulamasına bağlı oksidatif stres nedeniyle GSH kullanımının artmasına bağlı olarak geliştiği bildirilmektedir.

Çalışmamızda tüm gruplara ait plazma ve karaciğer GSH düzeyleri incelendiğinde (Tablo 2, Şekil 5 ve 6), kontrol grubuyla kıyaslandığında 2. grupta GSH düzeylerinin önemli derecede azaldığı ($p<0.001$) tespit edilmiştir. 2. grup ile kıyaslandığında; eritrosit GSH düzeylerindeki artışların 3. ($p<0.001$), 4. ($p<0.05$) ve 5. ($p<0.01$) gruplarda önemli olduğu saptanmıştır. Karaciğer GSH düzeylerinde 3. ($p<0.01$), 4. ve 5. gruplarda ($p<0.001$) önemli bir artış gözlenmiştir.

İkinci grupla kıyaslandığında, 3. 4. ve 5. gruplarda saptanan plazma ve karaciğer GSH düzeylerindeki artışların 3. grupta E vitamini, 4. grupta selenyum, 5. grupta E vitamini + selenyumun güçlü antioksidan etkisine bağlı olarak gerçekleştiği düşünülmektedir. 3. ve 4. grupla kıyaslandığında; eritrosit ve karaciğer GSH düzeylerinde 5. grupta istatistiksel önem saptanmamıştır. BaP'ın oksidan etkinliğine karşı, eritrosit GSH düzeylerinin düzeltilmesinde özellikle E vitamini, karaciğer GSH düzeylerinin düzeltilmesinde ise özellikle selenyumun etkili olduğu saptanmıştır.

Kontrol grubuna nazaran 2. grupta görülen azalmanın BaP'ın organizmada radikal oluşumunu arttırmasına ve bu radikalleri ortadan kaldırmak için, GSH kullanımının artmasına bağlı olarak geliştiği düşünülmektedir.

Sabitha ve ark. (183) kontrollere kıyasla oral kanserli hastalarda eritrosit GSH düzeylerinde önemli azalmalar olduğunu bildirmişlerdir. Kanserli hastalar üzerinde yapılan değişik çalışmalarda GSH (137, 143) düzeylerinin kontrollere nazaran düşük olduğu bildirilmiştir.

Ratlarda oksidatif strese bağlı olarak artan radikallerin böbrek GSH ($p<0.001$) düzeylerini kontrol grubuna nazaran önemli derecede düşürdüğünün belirlendiği bir çalışmada, intraperitoneal selenyumla birlikte E vitamini

uygulamalarının GSH enzimleri üzerine olumlu etkilerinin olduğu bildirilmiştir (157). Çalışmada elde edilen bu sonuçlar yukarıda verilen bilgilerle uyum içerisindedir.

Benzo(a)piren gibi güçlü kanserojen etkiye sahip maddelerin oksidatif strese neden olarak, serbest radikal üretimini arttırdığı ve kanser oluşumuna neden oldukları belirtilmektedir (42, 65, 107, 125, 136). BaP'ın tümör oluşturma etkisinin, E vitamini ve selenyum gibi güçlü antioksidanlar tarafından ortadan kaldırılabileceği belirtilmektedir. Antioksidanlar, bu etkilerini hidrokarbonların in vivo olarak kanserojen epoksitlere dönüşümünü engelleyerek gösterirler (42, 196). Özellikle sodyum selenitin BaP'ın neden olduğu DNA hasarını (163, 205, 232) önlediği veya ortadan kaldırdığı bildirilmiştir. BaP uygulanarak kanser oluşturulan ratlarda, antioksidan etkisinden dolayı selenyumun kanser oluşumunu inhibe ettiği belirtilmiştir (85, 112, 191).

Glutasyon peroksidaz, lipit peroksit ve hidrojen peroksitleri yıkımlayarak inaktif ürünlere dönüştürür. Membran bütünlüğünün devamı için gerekli olan, yapısında selenyum bulunduran bir enzimdir (4, 145). GSH-Px aktivitesindeki azalma, H₂O₂'in artmasına ve şiddetli hücre hasarına neden olur (156, 200).

Larinks kanserli hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada (39), MDA düzeylerinin arttığı ve eritrosit GSH-Px düzeylerinin kontrollere nazaran daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bu hastaların eritrosit GSH-Px düzeylerindeki azalmaların radikal temizlenmesindeki artışa bağlı olabileceği ve BaP etkisiyle GSH-Px kullanımının artmasına bağlı olarak geliştiği belirtilmiştir.

Çalışmamızda tüm gruplara ait plazma ve karaciğer GSH-Px düzeyleri incelendiğinde (Tablo 2, Şekil 7 ve 8), kontrol grubuyla kıyaslandığında 2. grupta

GSH-Px düzeylerinin önemli derecede azaldığı ($p<0.001$) tespit edilmiştir. 2. grup ile kıyaslandığında; 3. 4. ve 5. gruplarda eritrosit GSH-Px düzeylerinde önemli ($p<0.001$) bir artış belirlenmiştir. 3. ve 5. grupta karaciğer GSH-Px düzeylerinde 2. gruba nazaran önemli artışlar ($p<0.001$) belirlenirken, 4. grupta istatistiksel bir önem saptanmamıştır. Eritrosit GSH-Px düzeyleri bakımından 3. ve 4. grupla kıyaslandığında; 5. grupta istatistiksel önem saptanmazken, karaciğer GSH-Px düzeylerinde 4. grupla kıyaslandığında 5. grupta önemli ($p<0.05$) bir artış gözlenmiştir.

Yapılan çalışmalarda E vitamininin, BaP gibi kanserojen maddelere maruz kalan hayvanlarda serbest radikallerin oluşturduğu zararlı etkileri ve tümör oluşum sıklığını azalttığı (193), oksidatif DNA hasarını, meme kanserini ve hepatomların (45) oluşumunu azalttığı bildirilmiştir.

Kanserli ratlar üzerinde yapılan değişik çalışmalarda (188) karaciğer dokusunda GSH-Px aktiviteleri azalmış olarak belirlenmiştir. Mulder ve ark. (153) kanserli dokularda GSH-Px aktivitesini düşük olarak bulmuşlar ve azalan GSH-Px aktivitesini kansere bağlı artan oksidan miktarına bağlamışlardır

Pawlowicz ve arkadaşları (166) meme, bağırsak ve akciğer kanseri olan hastalarda eritrosit GSH-Px aktivitesinin azalmış olduğunu ve enzim düzeylerindeki bu azalmaların kanser durumunda oksidanların artmasına bağlı olabileceğini bildirmişlerdir.

Kanserli hastalar üzerinde yapılan çalışmalarda (80, 89, 143, 229) GSH-Px düzeylerinin kontrollere nazaran düşük olduğu, oral kanserli hastalarda eritrosit GSH-Px enzim düzeylerinde önemli azalmalar olduğu bildirilmiştir (183).

Selenyum konsantrasyonları ile GSH-Px aktivitesi arasında önemli bir ilişki olduğu ve serumdaki selenyum düzeyi azaldığında GSH-Px aktivitesinin de azaldığı ifade edilmiştir (47).

E vitamini ile selenyumun yapısına girdiği GSH-Px arasında yakın bir ilişki bulunmaktadır. E vitamini ile GSH-Px, serbest radikallere karşı birbirlerini tamamlayıcı role sahiptirler. GSH-Px, peroksitleri ortadan kaldırırken E vitamini de peroksitlerin sentezini engellemede önemli görev üstlenir (4).

Eritrosit GSH-Px düzeyleri bakımından kontrol grubu ve diğer gruplarla kıyaslandığında 2. grupta görülen azalma, yukarıdaki bilgilerle uyum içerisinde bulunmuştur. Bu sonuçlara göre BaP'ın reaktif etkisini önlemede, özellikle E vitamininin önemli derecede etkili olduğu, selenyumun ise E vitamini ile birlikte etkili olduğu tespit edilmiştir.

Katalaz enziminin antioksidatif rolü, hidrojen peroksiti oksijen ve suya parçalayarak çok daha güçlü oksidatif etkiye sahip olan hidroksil radikali oluşmasını azaltmasından kaynaklanır (145,161)

Çalışmamızda tüm gruplara ait eritrosit ve karaciğer CAT düzeyleri incelendiğinde (Tablo 2, Şekil 9 ve 10), kontrol grubuna kıyasla 2. grupta önemli derecede azaldığı ($p<0.001$) tespit edilmiştir. 2. grup ile kıyaslandığında, sadece 3. grupta eritrosit CAT düzeyleri bakımından önemli ($p<0.05$) bir artış gözlenmiştir. Karaciğer CAT düzeylerinde 2. grup ile kıyaslandığında, 3. grupta ($p<0.001$), 5. grupta ($p<0.05$) önemli bir artış gözlenirken, 4. grupta istatistiksel bir önem saptanmamıştır. 3. ve 4. grupla kıyaslandığında; hem plazma hem de karaciğer CAT düzeylerinde 5. grupta istatistiksel bir önem belirlenmemiştir.

Katalaz düzeyleri bakımından kontrol grubu ve diğer gruplar kıyaslandığında 2. grupta görülen azalmaların, BaP uygulamasına bağlı oksidatif stres nedeniyle radikal üretiminin artmasına ve katalazın bu radikalleri elimine etmek için fazla miktarda kullanılmasına bağlı olarak geliştiği düşünülmektedir.

Kontrollerle kıyaslandığında kanserli hastaların CAT düzeylerinin (229) düşük olduğu bildirilmiştir. Birçok hayvan tümör hücresinde CAT aktivitesi düşük olarak saptanmıştır (93). Sabitha ve ark. (183), kontrollere kıyasla oral kanserli hastalarda eritrosit CAT enzim düzeylerinde önemli azalmalar olduğunu bildirmişlerdir.

Tümör uyarıcılarının CAT gibi hücrel antioksidan savunmayı baskıladığı ve buna bağlı olarak oksidatif stresin artmasına neden olduğu ifade edilmiştir (93, 123). Zima (233) ve Gonzales (81) kötü huylu kanser vakalarında eritrosit CAT seviyelerinde önemli azalmalar olduğunu belirtmişlerdir.

Benzo(a)piren uygulamasıyla, enzimatik antioksidanların aktivitelerinde meydana gelen azalmanın mekanizması açık değildir Ancak BaP'ın organizmada neden olduğu oksidatif stres sonucu ortaya çıkan süperoksit, hidroksil ve hidrojen peroksit gibi serbest radikallerin bu azalmada önemli rol oynadığı ifade edilmiştir (185).

Kanserli hayvanlarda (189) karaciğer dokusunda CAT aktiviteleri azalmış olarak belirlenmiştir. Solmaz ve ark. (197), kanserli hastaların dokularında CAT aktivitesinin azaldığını belirtmişlerdir. Bu bildirimler çalışmamızdaki bulguları doğrulamaktadır.

Çalışmamızda selenyum ve özellikle E vitamininin CAT aktivitesini arttırdığı gözlenmiştir. E vitamini ve selenyumun, BaP uygulamasına bağlı oluşan

radikalleri inaktive etmede antioksidan enzim kullanılmasını azalttığı düşünülmektedir. Yukarıdaki bilgiler dikkate alındığında, BaP'ın tek başına uygulandığı grupta kanser oluşumu ile GSH, GSH-Px ve CAT enzim aktivitelerindeki azalmaların uyum içerisinde olduğu anlaşılmaktadır.

PAH grubunda yeralan BaP gibi güçlü kanserojen etkinliğe sahip maddeler, membran lipitleriyle reaksiyona girerek lipit peroksidasyonuna neden olurlar ve direkt olarak DNA'da hasar oluştururlar. Bu durum engellenemezse BaP, kanser başta olmak üzere organizmada istenmeyen olayların oluşmasına neden olur (71, 136). BaP'ın bu istenmeyen etkilerinden korunmada E vitamini ve selenyum takviyeleri çok büyük öneme sahiptir. BaP'ın LPO ürünlerini arttırdığı, buna karşılık E vitamini ve selenyumun sahip oldukları antioksidan özelliklerinden ötürü, LPO ürünleri üzerinde indirgeyici olarak önemli roller oynayabilecekleri kanaatine varılmıştır.

BaP uygulamasına bağlı olarak ratlarda histolojik olarak başlıca fibrosarkom, rhabdomyosarkom, hemangiosarkom, osteokondrosarkom, squamos hücre sarkomu, adenokarsinom, göğüs ve mide karsinomları ile karışık tümörlerin gelişebilmektedir. BaP gibi kanser oluşumuna neden olan toksik maddelere karşı, E vitamini ve selenyumun inhibitör etkilerinin olduğu belirtilmiştir (42).

Çalışma sonunda tüm gruplardan alınan doku örneklerinin patolojik incelemesi sonucunda BaP'ın uygulandığı 2. grupta özellikle akciğer, bağırsak ve ovaryum dokularında tümör oluşumu gözlenmiştir (Şekil 12, 13, 14a, 14b, 16, 17a ve 17b). Kanser oluşumu dışında patolojik olarak akciğer, karaciğer, böbreklerde şiddetli derecede amfizem, lenfoid infiltrasyonu, bronş epitel hücrelerinde

displazik değişiklikler, granüler hücre artışı, damar çevrelerinde atipik hücre infiltrasyonu gibi bulgulara rastlanılmıştır.

BaP ile birlikte E vitamini, selenyum ve E vitamini + selenyum uygulamalarının yapıldığı ratların çeşitli dokularının histolojik kesitlerinde herhangi bir kanser hücresi gelişmemesine rağmen, bu ratların değişik dokularında çeşitli derecelerde de olsa morfolojik değişiklikler saptanmıştır. Örneğin; BaP uygulamasına ilaveten E vitamini uygulanan 3. grupta akciğer dokusunda hafif dereceli amfizem, perialveolar reaksiyonlar, böbrekte akut tubuler nekroz, bağırsaklarda lenfoid infiltrasyon belirtileri saptanırken dalak, kalp, beyin, mide, karaciğer ve ovaryumlarda herhangi bir patolojik bulgu gözlenmemiştir.

BaP uygulamasına ilaveten selenyum uygulanan 4. grupta aynı şekilde akciğer dokusunda hafif ve orta şiddetli amfizem, perialveolar reaksiyonlar, lenfoid infiltrasyonu, alveol duvarlarında kalınlaşma, böbrekte akut tubuler nekroz belirtileri yanı sıra distal tubullerde hyalin dejenerasyonu, bağırsaklarda lenfoid infiltrasyon gibi değişimler gözlenirken, geri kalan dokularda herhangi bir patolojik bulguya rastlanmamıştır.

BaP uygulamasına ilaveten E vitamini + selenyum uygulanan 5. grupta ise akciğer dokusunda hafif derecede amfizem bulguları ile böbrekte akut tubuler nekroz belirtileri saptanırken dalak, kalp, beyin, mide, karaciğer ve ovaryumlarda herhangi bir patolojik bulgu belirlenmemiştir.

Evangelou ve ark (71) BaP vererek kötü huylu tümör oluşturdıkları ratlarda özellikle akciğer, karaciğer, mide, bağırsak ve böbreklerde tümör oluşumunu gözlemlemişler, kanseri önlemek için yüksek dozda E vitamini

uygulamalarına rağmen dokularda morfolojik değişimleri önleyememişlerdir. Ancak bu ratlar hiçbir kanser belirtisi göstermeden normal yaşamlarına devam etmişlerdir.

Çalışmamızda, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında BaP uygulanan diğer tüm gruplarda az veya çok düzeyde hücre hasarı şekillenmiştir. BaP'ın tek başına uygulandığı grupta oluşan hücre hasarları patolojik özellikte olup, özellikle akciğer, bağırsak ve ovaryumlarda tümör oluşumuna neden olmuştur (Şekil 12, 13, 14a, 14b, 16, 17a ve 17b). Çalışmada BaP uygulanan gruptaki ratların çeşitli dokularında oluşan kanser tiplerinin yukarıda bahsedilen literatür bilgileriyle uyum içerisinde olduğu kabul edilebilir.

Özellikle sodyum selenit formundaki selenyumun, farelerde tümör gelişimini önemli ölçüde azaltan ve PAH grubunda yeralan BaP gibi kanserojenlerin etkisini güçlü bir şekilde inhibe eden antioksidanlardan biri olduğu (41) bildirilmiştir. Yapılan değişik çalışmalarda sodyum selenitin BaP'ın neden olduğu DNA hasarını (15, 163, 204, 205, 232), mide (19) ve solunum yolu tümörlerini (18) önlediği veya ortadan kaldırdığı bildirilmiştir.

E vitamininin colon-rektum, özefagus, mide, göğüs, deri ve prostat kanserlerinde olan önleyici etkileri değişik çalışmalarda araştırılmış (42, 224, 227) ve E vitamini türevlerinin BaP gibi çevresel kanserojenlere karşı faydalı inhibitör etkisinin olduğu ifade edilmiştir.

Sodyum selenitin BaP'ın metabolizması için gerekli olan aryl hidrokarbon hidroksilaz aktivitesini yaklaşık %70 oranda inhibe ettiği (138) ve BaP spesifik polipeptitlerin hücrelerde sentezlenmesini azaltarak (113) kanser oluşumunu engellediğini bildirmişlerdir.

Yapılan değişik çalışmalarda günlük olarak 200 IU E vitamini alınmasının kolorektal kanser riskini azalttığı, ancak 400 IU dozlarının toksik olduğu saptanmıştır (38, 218).

Çalışmamızda, BaP'ın olumsuz etkilerini ortadan kaldırmak amacıyla tek başına veya kombine olarak E vitamini ve selenyum uygulaması doku hasarının gelişmesini tam anlamıyla önleyememiştir. Ancak bu gruptaki hayvanların hiç birinde kanser dokusuna rastlanılmaması en azından korunmadaki etkinliklerinin bir ispatı olarak kabul edilebilir özellikle olup, elde edilen sonuçlar yukarıda bahsedilen literatür bilgileriyle uyumlu bulunmuştur.

Sonuç olarak; BaP grubunda eritrosit ve karaciğer GSH, GSH-Px ve CAT enzim aktivitelerinde saptanan azalmalar ile MDA düzeylerinde saptanan artışların gelişen oksidatif stresin önemli bir göstergesi olduğu, antioksidan aktivitedeki yetersizliğin oksidanların neden olduğu DNA hasarını uyarabileceği ve sonuçta kanser oluşumuna zemin hazırlayabileceği, ayrıca çevrede çok yaygın olarak bulunan ve sürekli maruz kaldığımız BaP'ın neden olduğu olumsuz etkileri ortadan kaldırmak veya azaltmak için E vitamini, selenyum ve özellikle her ikisinin birlikte verilmesinin yararlı olabileceği kanaatine varılmıştır.

7. KAYNAKLAR

1. Abdo KM, Rao G, Montgomeri CA, Dinowitz M, Kanagalingam K (1986). Thirteen week-toxicity study of d α -tocopherol acetate (vitamin E) in Fischer 344 rats. *Food Chem Toxicol.* 24: 1045-1050.
2. Abiaka C, Al-Awodi F, Alsoyer H (2002). Activities of erythrocyte antioxidant enzymes in cancer patients. *J. Clin. Lab. Anal.* 16: 167-171
3. Aebi H. Catalase. In: Bergmeyer U (ed.). *Methods of enzymatic analysis.* New York and London: Academic Press, 1974: 673-77.
4. Akkuş İ. (1995). Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. *Mimosa yayınları*:1-47.
5. Akkuş İ, Şekeroğlu R, Üner A. (1991). Selenyum: dağılışı, metabolizması ve fizyopatolojisi. *S.Ü. Tıp Fak. Derg.* 7 (4): 547-551.
6. Allison JM. (1984). *Dukes' Physiology of Domestic Animals.* Ed. By Melvin J. Swenson. Tenth edition. Vail-Ballow Pres Inc. USA.
7. Anon. (1998). Veris Research Summary. Erişim: <http://www.veris-online.org>.
8. Arthur JR. (1982). Nutritional interrelationships between selenium and vitamin E. *Rep. Rowett. Inst.* 38: 124-135.
9. Aydılek N (2002). Testosteron ve E vitamininin tavşanlarda bazı pıhtılaşma faktörleri, lipid peroksidasyonu ve lipid değerleri üzerine etkileri. *F.Ü. Vet. Fak. Fizyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi, Elazığ.*
10. Azzi A, Stocker A. (2000). Vitamin E: non-antioxidan roles. *Prog. Lipid res.* 39: 231-255.
11. Babior BM (1984). The respiratory burst of phagocytes. *J. Clin. Invest.* 8: 599-601.
12. Badary OA, AbdEl-Gavad HM, Taha RA, Ali AA, Hamada FMA (2003). Effects of benzo(a)pyrene on tissue activities of methabolising enzymes and antioxidant systeme in normal and protein-malnourished rats. *J Biochem Mol Toxicol.* 17 (2): 86-91.
13. Baehner RL, Boxer LA, Ingraham LM, Butterick C and Haak RA (1982). The influence of vitamine E on human polymorphonuclear cell methabolism and function. *Annals New York Academy of Sciences.* 393: 237-350.
14. Balık E (1986). Doku incinmesi ve yangısal olaylarda oksijen serbest radikallerinin önemi. *Ege Ü. Tıp fak. Derg.* 25(2): 809-815.
15. Bansal MP, Sood S (1999). Influence of sodium selenite and selenomethionine on DNA/RNA synthesis and BaP binding to spleen lymphocytes in culture. *Biol Trace Elem Res.*70(1): 21-28.
16. Barber DA and Haris SR (1994). Oxygen free radicals and antioxydants. *American Pharmacy.* 34 (9): 26-35.
17. Bast A, Haenen G, Daelman J. (1991). Oxidants and antioxidants. *State Art. Am. J. Med.* 91 (3): 2-13.

18. Beems RB (1986). Dietary selenium-and benzo(a)pyrene-induced respiratory tract tumours in hamsters. *Carcinogenesis*. 7(3): 485-489.
19. Bergman K, Slanina P (1986). Effects of dietary selenium compounds on benzo(a)pyrene-induced forestomach tumours and whole-blood glutathione peroxidase activities in C3H mice. *Anticancer Res*. 6(4): 785-790.
20. Betteridge DJ. (2000). What is Oxidative stress? *Metabolism*., 49,2:3-8.
21. Blood DC, Radostits DM, Handerson JA. (1990): *Veterinary Medicine*. Bailliere Tindall London.
22. Blot WJ, Li JY, Taylor PR, Guo S (1993). Nutrition intervention trials in linxian, China – supplementation with specific vitamin mineral combinations, cancer incidence, and disease-specific mortality in the general-population, *J. Natl. Cancer. Inst.* 85 1483-1492.
23. Borek C, Ong A, Mason H, Donahue L and Biaglow JE (1986). Selenium and vitamin E inhibit radiogenic and chemically induced transformation in vitro via different mechanisms. *Proc Natl acad Sci*. 83: 1490-1494.
24. Bors W, Saran M, Czapski G. (1980). In: *Biological and Clinical Aspects of superoxide and Superoxide dismutase*. N.Y. Elsevier/North Holland.
25. Boutin A.C., Shirali P., Garçon G. Gosset P et al.(1998). Peripheral markers (clara cell protein and α -glutathione S-Transferase) and lipidperoxidation (Malondialdehyde) assesment in sprague-dawley rats instilled with haematite and benzo(a)pyrene. *Journal of applied toxicology*.18(1), 39-45
26. Boyne R, Arthur JR and Wilson AB. (1986). An invivo and study of selenium deficiency and infection in rats. *J. Comp. Path.* 96:380-386.
27. Boysen G, Hecht SS. (2003). Analysis of DNA and protein adducts of benzo(a)pyrene in human tissues using structure-specific methods. *Mutat. Res.* 543: 17-30.
28. Bramley PM, Elmadfa I, Kafatos A, Kelly FJ, Manios Y, Roxborough HE, Schuch W, PJA Sheehy, K-H Wagner. (2000). Vitamin E. (review). *J. Sci. Food Agric.* 80: 913-938.
29. Broghamer WL, McConel KP, Slatky AL. (1976). Relationship between serum selenium levels and patients with carcinoma. *Cancer*. 37: 1384-1388.
30. Brown JH., Pollock H. (1972). Stabilization of Hepatic Lysosomes of Rats by Vitamin E and Selenium in vivo as Indicated by Thermal Labilization of Isolated Lysosomes. *J. Nutr.* 102: 1413-1420.
31. Buchanan S, Sharp BA, Tillman AD. (1971). Tissue selenium concentrations in sheep fed a purified diet. *Can. J. physiol. Pharmacol.* 49: 619-621.
32. Burtis AC, Ashwood ER (1999). *Tietz textbook of clinical chemistry*. Third edition. WB Saunder Company. Philadelphia.
33. Burton G, Traber M (1989). Antioxidants action of carotenoids. *J. Nutr.* 119: 109-111.

34. Burton GW, Joyce A, Ingold KU.(1983). Is Vitamin E Only Lipid-Soluble, Chain-Breaking Antioxidant in Human Blood Plasma and Erythrocyte Membranes?. *Arch. Biochem. Biophys.* 221(1); 281-290.
35. Burton GW, Traber MG (1990). Vitamine E: Antioxidant activity, biokinetics and bioavailability. *10:357-382.*
36. Byung PY. (1994). Cellular defenses against damage from reactive species. *Physiological reviews.* 74,1: 139-172.
37. Cadenas E (1989). Biochemistry of oxygen toxicity. *Annu Rev. Biochem.* 58: 79-110.
38. Campbell S, Stone W, Whaley S, Krishnan K (2003). Development of gamma-tocopherol as a colorectal cancer chemopreventive agent. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 00. 1-11.
39. Canbay Eİ, Çelik K, Kunt T, Ertemur M, Canbay E (2002). Larinks kanserli hastalarda Glutasyon peroksidaz aktivitesi ve lipid peoksidasyon düzeylerindeki değişiklikler. *Cumhuriyet Ü Tıp Fak derg* 24(4): 175-178.
40. Ceratti PA, Trump BF (1991). İnflamation and oxidative stres in carcinogenesis. *Cancer cells.* 3: 1-7.
41. Champe PC, Harvey RA (1997). Lippincott's illustrated reviews. Second edition. Philadelphia.
42. Charalabopoulos K., Karkabounas S., Charalabopoulos A. K, Papalimneou V., Ioachim E., and Giannakopoulos X. (2003). Inhibition of benzo(a)pyrene-induced carcinogenesis by vitamin C alone and by Vitamin C/vitami E and Selenium/glutathione. *93: 201-209.*
43. Cheeseman KH (1993). Mechanisms and effects of lipid peoxidation. *Molecular Aspects of Medicine.* 14(3): 191-197.
44. Cheeseman KH, Slater TF. (1993). An Introduction to free radical biochemistry. *Br. Med. Bull, Review.* 49,3: 481-93
45. Chen LH, Boissonneault GA, Glauert HP (1988). Vitamin C, vitamin E and Cancer (review). *Anticancer Res.* 8: 739-748.
46. Cheng L, Spitz MR, Hong WK, Wei Q. (2000). Reduced expression levels of nucleotide excision repair genes in lung cancer; a case-control analysis. *Carcinogenesis.* 21: 1527-1530.
47. Chidambaram N, Baradarajan A (1996). Influence of selenium on glutatyione and some associated enzymes in rats with mammary tumor induced by 7,12-dimethyl benzo(a)anthracene. *Molecular and Cellular Biochemistry.* 156(2): 101-107.
48. Church DC, Pond WG. (1982). Basic animal nutrition and feeding. Second edition. John Willey and Sons Inc. Canada.
49. Clausen J (1991). The influence of selenium and vitamine E on the enhanced respiratory burst reaction in smokers. *Biological trace Elements Research.* 131: 281-291.
50. Clemens MR, Waller HD. (1987). Lipid peroxidation in erythrocytes. *Chem. Phys. Lipids.* 45: 251-268.

51. Combs GF (1998). The vitamins fundamental aspects in nutrition and health. Second edition. Academic Press.
52. Combs GF and Combs SB (1986): The Role of Selenium in Nutrition. Academic pres. Inc. Ltd. London. 415-484.
53. Cooney RV, Franke AA, Harwood PJ, Hatch-Pigott V, Juster LJ and Mordan LJ. (1993). Gamma-tocopherol detoxification of nitrogen dioxide: superiority to alpha tocopherol. Proc Natl Acad Sci USA. 90: 1771-1775.
54. Cousin FB. Cairney IM. (1961). Some effects of selenium in sheep. Aust. J. Agric. Res. 12: 927-943.
55. Das M, Mukhtar H, Seth P (1985). Distribution of benzo(a)pyrene in discrete regions of the rat brain. Bull Environ Contam Toxicol. 35: 500-504.
56. Das UN (2002). Effect of anti-oxidants, free radical quenchers and siklo oksigenase inhibitor on benzo(a)pyrene-induced suppression of human lymphocyte mitogenesis in vitro. Med Sci Monit. 8 (6): 205-207.
57. David W, Martin JR, Peter AM, Victor WR, Daryl K G. (1988). Harper's Review of Biochemistry. Twentieth Edition. 118-125
58. Dcan JH, Luster MI, Boorman GA (1983). Selective immunosuppression resulting from exposure to the carcinogenic congener of benzopyrene in B6C3F1 mice. Clin Exp Immunol. 52:199-206.
59. Delibaş N, Özçankaya R. (1995). Serbest radikaller. SDÜ Tıp Fak. Derg., 2,3: 11
60. Denissenko MF, Pao A, Tang M, Pfeifer GP. (1996). Preferential formation of benzo(a)pyrene adducts at lung cancer mutational hotspots in P53. science. 274: 430-432.
61. Desai ID, Scott ML. (1965). Mode of action of selenium in relation to biological activity of tocopherols. Arch. Biochem. Biophys. 110: 309-315.
62. Dhur A, Galon P, Hercberg S. (1990). Relationship between selenium and resistance against infection. Comp. Biochem. Physiol. 96 (2): 271-280.
63. Dowel LRM. (1989). Vitamins in animal nutrition comparative aspects to human nutrition. In: vitamin E. Academic Press. Ltd. London.
64. Draper HH. (1980). Nutrient interrelationship. Ed. JM Lawrence. In: vitamin E. A comprehensive treatise. Marchel Dekker. Inc. New York and Basel.
65. Dreher D, Junot AF (1996). Role of oxygen free radicals in cancer development. Eur J Cancer. 32: 30-38
66. DRI (Dietary reference Intakes) for vitamin C, vitamin E, selenium and carotenoids. National academy pres, Washington D.C.
67. Duthie DG, Wahle KJ (1990). Smoking anioxidants, essential fatty acids and coronary hearth disease. Biochem Soc Trans. 19: 1051-1054.
68. Dündar Y, Aslan R (1999). Bir antioksidan olarak vitamin E, Genel Tıp Derg., 3,9: 109-116.

69. El-Bayoumy K. (1984). Effects of organoselenium compounds on induction of Mouse forestomach tumors by benzo(a)pyrene. *Cancer Res* 45(8): 3631-3635.
70. Elias J, Kew MC (1990). Evaluation of CA 125 as a serum marker of hepatocellular carcinoma. *Int. J. Cancer*. 46: 805-807.
71. Evangelou A, Kalpouzos G, Karkabounas S, Liasko R, Nonni A, Stefanou D, Kallistratos G (1997): Dose-related preventive and therapeutic effects of antioxidants-anticarcinogens on experimentally induced malignant tumors in Wistar rats. *Cancer Letters*. 115; 105-111.
72. Faulder CG, Pamela AH. (1990). Vitamin E in biological systems. *Antiox. Ther. Preven. Med.* 3: 324.
73. Flohe RB, Traber MG. (1999). Vitamin E: function and metabolism. *Faseb J*. 13: 1145-1155.
74. Food and Nutrition Board Institute of Medicine. (2000). Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, Selenium, and carotenoids. National acad. Pres. Washington.
75. Freeman Ba.,Crapo JD. (1982). Biology of disease, Free radicals and tissue injury. *Lab. Invest* 47: 412-426.
76. Gallo- Torres HE (1980). Absorption. Ed. by Lawrence JM In vitamin E: a comprehensive treatise, Marchel Dekker Inc. New York and Basel.
77. Gelboin H.V. (1980). Benzo(a)pyrene metabolism, Activation, and Carcinogenesis: Role and regulation of Mixed-function oxidases and related enzymes. *Physiological reviews*. 60:4, 1107-1108
78. Geritti PA (1985). Prooksidant status and tumor promotion. *Science*. 127: 375-381.
79. Gibbs EM, Zielinski R (1987). Structure, polimorphism and novel repeated DNA elements revealed by a complete sequence of the human alphafetoprotein gene. *Biochemistry*. 26: 1332-1343.
80. Gonzales R, Auclair C, Voisin E, Gantero H, Dhemy D, Biovin P (1984). Superoxide dismutase, catalase and glutatione peroxidase in red blood cells from patients with malignant diseases. *Cancer Res*. 44: 4137-4139.
81. Gornal AG, Bardawill CJ and David MM (1975). Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J Biol Chem*. 177: 751.
82. Goth L (1991): A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clin Chim Acta*, 196, 143-152
83. Gönenç A, Özkan Y, Torun M (2001). Plasma malondialdehyde (MDA) levels in breast and lung cancer patients. *J. Clin. Pharmacol and Therapeutics*. 26: 141-144.
84. Graham S, Craig F (2002)Organik kimya. 7. basımdan çeviri. Çeviri editörleri. Güral okay, Yılmaz Yıldırım (514-515)
85. Griffin AC. (1979). Role of selenium in the chemoprevention of cancer. *Adv. Cancer Res*. 29: 419-422.

86. Gsandhya D, Prasad MH and et. Al. (2000). Free radicals antioxidant enzymes and lipid peroxidation in different types of leukemias. *Clin. Chim. Acta.* 93: 53-62.
87. Gutteridge JMC, Halliwell B. (1990). The measurement and mechanism of lipid peoxidation in biological systems. *Trnds Biochem. Sci.* 15: 129-135.
88. Guyton AC, Hall JE. (1996). *Tıbbi Fizyoloji.* Nobel Tıp Kitapevi. İstanbul.
89. Güven M, Öztürk B, Soyol A and ark. (2000). Lipid peroxidation and antioxidant system in the blood of patients with Hodgkins disease. *Clin. Biochem.* 33(3): 209-212.
90. Halliwell B. (1991). Reactive Oxygen Species in living Systems: Source, Biochemistry and role in Human Disease. *Am. J. Med.,* 91,14-21.
91. Halliwell B. (1999). Antioxidant Defence Mechanisms: From the Beginning to the End (of the beginning). *Free Radic Res.,*31,4:261-72.
92. Halliwell B, Chirico S (1993). Lipid peroxidation: Its mechanism, measurement and significance. *Am. J. Clin. Nutr.* 57: 715-725.
93. Halliwell B, Gutteridge JMC. (1989). *Free Radicals in Biology and Medicine.* Second ed, Clarendon Press, Oxford.
94. Halliwell B, Gutteridge JMC. (1999). *Free radicals in biology and medicine.* 3rd ed. Oxford University Pres
95. Hartwell, J.L., and P. Shubık. (1967). Survey of compounds which have been tested for carcinogenic activity. Rockville, MD: Thompson.
96. Helzlsouer KJ., Block G., Blumberg J, et al. (1994). Summary of the round table discussion on strategies for cancer prevention.: Diet food, additives, supplements and drugs. *Cancer Res.* 54: 2044-2051.
97. Hergeç G, Şahin H (1994). Kanser tanı ve prognozunda tümör belirteçlerinin önemi. *Sendrom.* 4: 50-55.
98. Ho CT and Chan AC (1992). Regeneration of vitamin E in rat polymorphonuclear leukocytes. *Fed. Eur. Biochem. Soc.* 306 (2-3): 269-272.
99. Hochs P. And Utley H. (1968). Hydrogen peroxide Detoxication by Glutathione Peroxidase and catalase in rat liver Homogenates. *Mol. Pharmacol.,* 4: 574.
100. Horrobin DF (1991). Is the main problem in free radical damage caused by radiation, oxygen and other toxins the loss of membrane essential fatty acids rather than the accumulation of toxic materials? *Medical Hypothesis.* 35:23-26.
101. Huang Y, Sheu J, Lin T (1999). Association between oxidative stress and chenges of trace elements in patients with breast cancer. *Clin. Biochem.* 32(2): 131-136.
102. International agency for research on cancer. Tobacco smoking, in: IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. (1986). Lyons. France.38.
103. İnci E, Civelek S, Seven A and et.all. (2003). Larengeal cancer: in relation to oxidative stres. *Tohoku J. of Exp. Med.* 200(1): 17-23.

104. İsbir T. (1994). Antioxidant sistemler. İzmir Tabip Odası Tıpta Temel Bilimler Kolu Sonbahar Okulu. İzmir. 92-98
105. İşlekel H, Güner G. (2000). Serbest radikal kaynağı olarak moleküler oksijen, bazı önemli reaktif oksijen partikülleri ve ölçüm yöntemleri. Pamukkale Üniv. Tıp Fak. Derg. 2: 18-24.
106. Jaund AF (1996). Role of free radicals in cancer development. Eur. J. Cancer. 32: 30-38.
107. Joenne H (1999). Genetic toxicology of oxygen. Rev. Mutation Res. 219: 193-208.
108. Jose M. MatEs, Perez-Gomez C and Nunez De Castro I. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. Clinical Biochemistry. 32,8: 595-603.
109. Kadayıfçı A, Benekli M, Savaş C (1994). Tümör belirleyicileri. Türkiye Tıp Dergisi, 1: 273-284.
110. Kallistratos G, Evangelou A, Agnantis N, Fasske E, Karkabounas S, Donos A (1994). Enhancement of the antineoplastic effect of anticarcinogenens on benzo(a)pyrene-treated Wistar rats, in relation to their number and biological activity. Cancer Let. 7: 153-165.
111. Kallistratos G, Fasske E, Seferiadis K, Donos A, Evangelou A, Kalfkakou V, Vezyraki P, Chadha MS. (1983). Benzo(a)pyrene, nitrosamines, arsenic and selenium, factors influencing the tobacco carcinogenesis. J. Med. Sci. 1: 49-55.
112. Kallistratos G, Fasske E, Karkabounas S, Charalampoboulos K. (1988). Prolongation of the survival time of tumor bearing Wistar rats, through a simultaneous oral administration of vitamin C + E, andd selenium with glutathione. Prog. Clin. Biol. res. 259: 377-389.
113. Kapoor M, Lin WS (1984). Studies on the induction of aryl hydrocarbon (benzo(a)pyrene) hydroxylase in Neurospora crassa, and its supprssion by sodium selenite. Xenobiotica. 14(12): 903-915.
114. Karakılıçık, A.Z.,Aksakal,M. (1993): Selenyumun Bazı Fizyolojik işlevleri, Metabolizması ve E vitamini ile Arasındaki İlişkileri.: Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 4: 283-291.
115. Kavas GÖ. (1989). Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri.Türkiye Klinikleri. 9(1):1-8.
116. Kaya S ve Akar F (1998). Metaller. Kaya S, pirinçci i ve Bilgili A (Editörler): Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji. 1. Baskı, Ankara, Medisan yayınevi: 141-144.
117. Kayaalp O. (1989). Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. Cilt 3. Ankara.
118. Kayaalp O. (1993). Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. 6. Baskı, Ankara: Feryal Matbaacılık. 3046-3074.
119. Kazerouni N, Sinha R, Hsu CH, Greenberg A, Rothman N (2001). Analysis of 200 food items for benzo(a)pyrene and estimation of its intake in an epidemiologic study. Food and Chem Toxicol. 39: 423-436.
120. Keen CL and Graham TW (1989). Trace elements. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. Kaneko JJ (ed). Academic Press. New York, 753-795.

121. Kehrer JP., Smith CV. (1994). Free radicals in biology: sources, reactivities and roles in the etiology of human disease. In: FREI B. Editor. Natural antioxidants in human health and disease. San Diego: Academic Pres. 25-62.
122. Keshava C., Whipkey D., Weston A. (2004). Transcriptional signatures of environmentally relevant exposures in normal human mammary epithelial cells: benzo(a)pyrene. *Cancer letters* 1-11
123. Kim KB, Lee BM (1997). Oxidative stress to DNA, protein, and antioxidant enzymes (superoxide dismutase and catalase) in rats treated with benzo(a)pyrene. *Cancer Lett.* 26;113 (1-2): 205-212.
124. Kim HS, Kwack SJ, Lee BM (2000). Lipid peroxidation, antioxidant enzymes, and benzo(a)pyrene – quinones in the blood of rats treated with benzo(a)pyrene. *Chemico-Biological Interactions.* 127: 139-150.
125. Klaunig JE, Kamendulis LM (2004). The role of oxidative stress in carcinogenesis. *Ann Rev Pharmacol Toxicol.* 44: 239-267
126. Knecht P. (1994). Vitamin E in cancer prevention. In: natural antioxidants in human health disease. Ed. Frei B. Academic pres. New York. 199-238.
127. Knight JA. (1995). Disease related to oxygen-derived free radicals. *Ann. Clin. Lab Sci.* 25: 111-121.
128. Kono Y, Fridovich I (1982). Superoxide radical inhibits catalase. *J Biol Chem.* 257: 5751-5754.
129. Köhner WF, Völlm J. (1976). Vitamin. Roche Urban and Schwarzenberg. München. 76.
130. Köse K., Doğan P. (1992). Lipid peroksidasyonu. *Erciyes Tıp Dergisi Ek-1:* 340-350
131. Kremidjian-Schmacher L and Stotzky G (1987). Selenium and immune responses. *Environ. Res.* 42: 277-303.
132. Kumaragrupan R., Subapriya R., Viswanathan P. (2002). Tissue lipid peroxidation and antioxidant status in patients with adenocarcinoma of the breast. *Clin. Chim. Acta.* 325: 165-70.
133. Lachance, P.A., Nakat, Z. and Jeong, W.S. (2001): Antioxidants: An Integrative Approach. *Nutrition*, 17:835-838.
134. Lawrence RA, Burk RF (1976). Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 71 (4), 952-958.
135. Lane DP (1994). p53 and human cancers. *Br Med. Bull.* 50(3): 582-589.
136. Lee BM, Lee SK, Kim HS (1998): Inhibition of oxidative DNA damage, 8-OHdG, and carbonyl contents in smokers treated with antioxidants (vitamin E, vitamin C, β -carotene and red ginseng). *Cancer Letters* 132; 219-227
137. Levy RD, Oosthuizen MM, Degiannis E and et. al (1999). Glutathione-linked enzymes in benign and malignant oesophageal tissue. *Br. J. Cancer.* 80(112): 32-37.

138. Lin WS, Scrimshaw C, Kapoor M. (1984). Selenium suppresses the metabolism of benzo(a)pyrene by rat-liver extracts, and exerts a dual effect on its mutagenicity. *Xenobiotica*. 14 (12): 893-902.
139. Lowy DF, Base R, Simo AA (1997). Evidence for a high free radical state in low-grade astrocytomas. *Neurosurgery*. 41: 146-150.
140. Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL and Randal RJ (1951). Protein measurement with the Folin-Phenol reagent. *J Biol Chem*. 193; 265-275.
141. Lubin BJ and Machlin L (1982). Vitamin E, biochemical, heamatological and clinical aspects. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 393.
142. Lunec J, Blake D. (1990). Oxygen free radicals: their relevance to disease processes. Ed. RD. Cojhen, Blaire Tindall. London
143. Manju V, Sailaja S, Nalini N (2002). Circulating lipid peroxidation and antioxidant status in servical cancer; a case-control study. *Clin. Biochem*. 35: 621-625.
144. Martnez M. (1995). Oxygen free radicals and human disease. *Biochemie*. 77: 147-61.
145. Mates JM, Christina PG, Castro IN (1999). Antioxidant Enzymes and Human Disease. *Clin. Biochem*. 32(8): 595-603.
146. Mc Cord JM (1983). The superoxide free radical: Its biochemistry and pathophysiology. *Surgery*. 94(3): 412-414.
147. Mc Cord JM (1985). Mechanism of disease, oxygen-derived free radicals in post ischemic tissue injury. *The New Eng J Med*. 312: 159-163.
148. McDowell LR (1989): Vitamins in animal nutrition. Academic Press Inc. 365-387.
149. Meister A (1994). Glutathione ascorbate and cell cycle regulation *FEBBS letters*. 47: 1-4.
150. Menkes MS, Comstock GW, Vuilleumier JP, Helsing KJ, Rider AA, Brookmeyer R (1986): Serum Beta-Carotene, Vitamins A and E, Selenium, and The Risk of Lung Cancer. *The New England Journal of Medicine* 1250-1251.
151. Miller JK and Slebodzinska EB (1993): Oxidative Stres, Oxidants and Animal Function. *J.Dairy Sci*. 76: 2812-2823.
152. Morrissey PA, O'Brien NM (1998). Dietary antioxidants in health and disease. *Int. Dairy Journal*, (8): 463-472.
153. Mulder TP, Mani JJ, Roelofs HM, Peters WH, wiersma A (1995). Glutatione peroxidases in human head and neck cancer. *Acta otolaryngol*. 115: 331-333.
154. Murphy ME, Sies H (1991). Reversible conversion of nitroxyl anion to nitric oxide by superoxide dismutase. 88: 10860-10864.
155. Murray RK., Mayes PA., Granner Dk. And Rodwell VW. (1993).Harper'ın Biyokimyası. Barış Kitabevi, İstanbul.
156. Nakazawa H, Genka C, Fujishima M (1996). Pathological Aspects of Actie Oxygens/Free Radicals. *Jpn J Physiol*. 46: 15-32.

157. Nazıroğlu M, Karaoğlu A, Aksoy AO. (2004). Selenium and high dose vitamin E administration protects cisplatin-induced oxidative damage to renal, liver and lens tissues in rats. 195: 221-230.
158. Near RI, Matuka RA, Mann KK (1999). Regulation of preB cell apoptosis by arylhydrocarbon receptor / transcription factor-expressing stromal / adherent cells. Proc Soc Exp Biol Med. 221: 242-252.
159. Nikiforova NV, Khodyreva LA, Kipatovskii VI and et. al (2001). Lipid peroxidation malignant tumors of human kidneys. Bulletin of Experimental Biol. and Med. 5
160. Nishida K, Ohta Y, Koboyashi T (1997). Involvement of xanthine-xanthine oxidase system and neutrophils in the development of acute gastric mucosal lesions in rats with water immersion restraint stres. Digestion. 58: 340-351.
161. Nordberg J and Arner ESJ. (2001). Reactive oxygen species, antioxidants and mammalian thioredoxin system. Free radical biology and medicine., 31,11: 1287-1312.
162. Noyan A (1990). Fizioloji Ders Kitabı. 7. Baskı, Meteksan.
163. Olson B, McDonald J, Noblitt T, Lei Y, Ley M (1995). Modifying role of trace elements on the mutagenecity of benzo(a)pyrene. Mutat Res. 335(1): 21-26.
164. Oriani G, Corino C, Pastorelli G, Pantaleo L, Ritieni A, Salvatori G. (2001). Oxidative status of plasma and muscle in rabbits supplemented with dietary vitamin E. J. Nutr. Biochem. 12: 138-143.
165. Özdemir G (1993). Reaktif oksijen partikülleri (Oksidan moleküller, Serbest radikaller). Roche Bilimsel Eserler Serisi.
166. Pawlowicz Z, Zachara BA, trafikowska U, Maciag A, Marchaluk E, Nowicki A. Blood selenium concentrations and glutayon peroxidase activities in patients with breast cancer and with advanced gastrointestinal cancer. J Trace Elem Electrolytes Health Dis 5: 275-277.
167. Petkau A (1986). Scienific basis fort he clinical use of superoxide dismutase. Cancer treatment Rev. 13: 17-47.
168. Philips DH (1999). Polysiclic aromatic hydrocarbons in the diet. Mutat Res. 443: 139-147.
169. Placer AZ, Linda LC, Johnson B (1966). Estamination Of Product Of Lipid Peroxidation (Malonly Dialdehyde) İn Biochemical Systems. Anal. Biochem. 16: 359-364.
170. Polat MF, Taysi S, Gül M and et.al (2002). Oxidant/antioxidant status in blood of patients with malignant breast tumour and benign disease. Cell Biochem. Funct. 20: 327-333.
171. Portakal O, Özkaya O, İnal ME, Bozan M, Sayek I (2000). Coenzyme Q10 concentrations and antioxidant status in tissues of breast cancer patients. Clin Biochem. 33 : 279-284.
172. Prasad K, Karla J. (1993). Oxygen free radicals and hypercholesterolemic atherposclerosis: effect of vitamin E. Am Heart J. 125: 958-973.
173. Puls R (1994). Vitamin Levels in Animal Health. Diagnostic Data and Bibliographies. 11-18, 31-33, 80, 98-102.

174. Putnam ME, Comben N (1987). Vitamin E (review article). *The Veterinary Record*. Dec (5): 541-545.
175. Rames A, Inyoung F, Hood DB, Archibong AE, Knuckles ME, Nyanda AM (2001). Methabolism, bioavailability, and toxicokinetics of benzo(a)pyrene in F-344 rats following oral administration. *Exp. Toxicol Pathol*. 53: 275-290.
176. Raymond JS. (1986). Selenium metabolism and function. *J. anim. Sci*. 4: 42-49.
177. Ricciarelli R, Zingg JM, Azzi A. (2001). Vitamin E: protective role of a Janus molecule. *Faseb J*. 15: 2314-2325.
178. Rice D and Kendy S (1988). Vitamin E: Function and effects of deficiency. *Br. Vet. J*. 144: 482-496.
179. Richard A. Passwater D. (1996) The trace mineral that can make a life-or-death difference and that many of us lack. *Selenium Against Cancer and Aids* Keats publishing, Inc. New Canan, Connecticut 12-20.
180. Robbins SL, Cotran RS (1990). *Kumar v basic patoloji*. Fourth edition. WB Saunders Company, philadelphia. 236-299.
181. Romero FJ, Bosch-Morel F, Romero MJ, Jareno EJ, Romero B, Mavin N, Roma J (1998). Lipid peroxidation products and antioxidants in human disease. *Environ Health Perspect*. 5: 1229-1234.
182. Rubin P, Bakemeier RF (1981): *Clinical Oncology for Medical Students and Physicans*. Fifth Edition, Çeviri Editörü: Bilge, N.
183. Sabitha KE, Shyamalodev CS (1999). Oxidant and antioxidant activity changes in patients with oral cancer and treated with radiotherapy. *Oral Oncol*. 35: 273-277.
184. Schrauzer GN. (2000). Anticarcinogenic effects of selenium. *Cell. Mol. Life Sci*. 57. 1864-1873.
185. Schrauzer, G.N. (2003): *Biological Trace Element Research*. Inhibition of Benzo(a)pyrene-induced carcinogenesis by vitamin C alone and by vitamin C/vitamin E and selenium/glutathione. 201-210.
186. Sedlak J, Lindsay RHC (1968). Estimation Of Total Protein Bound And Nonprotein Sulfhydryl Groups İn Tissue With Ellmann's Reagent. *Anal. Biochem*. 25:192-205.
187. Seidel D. (1991). *Sensible use of tumor markers*. 2. ed. Editones Roche Switzerland. 10-75.
188. Selvendiran K, Singh JPV, Krishnan KB, Sakthisekaran D (2003): Cytoprotective effect of piperine against benzo(a)pyrene induced lung cancer with reference to lipid peroxidation and antioxidant system in swiss albino mice. *Fitoterapia* 74; 109-115.
189. Seven A, Candan G. (1996). Antioksidan savunma sistemleri. *Cerrahpaşa Medi. Rev*. 27: 41-50.

190. Seven A, Seymen O, Hatemi S, Hatem H, Yiği G, Candan G. (1995). Lipid peroxidation and vitamin E supplementation in experimental hyperthyroid state. *Tr. J. Med. Sci.* 25: 257-259.
191. Shamberger RJ, Rudolf FG. (1966). Protection against cocarcinogenesis by antioxidants. *Experimentia.* 22: 116.
192. Shils ME, Olson JA, Shike M, Ross C. (1999). *Modern Nutrition in health and disease.* Lippincott Williams & Wilkins. ABD.
193. Sies H, Stahl W and Sundquist AR (1992): Antioxidant Functions of Vitamins. *Annals New York Academy of Sciences*, 669; 7-15.
194. Sipahioğlu H (1981): *Medikal Onkolojide Tedavi Prensipleri ve Protokollar.* 1-12.
195. Skrzydlewska E., Stankiewicz A. (2001). Antioxidant status and lipid peroxidation in colorectal cancer. *J. Toxicol and Environ Health.* 64: 213-22.
196. Slaga TJ, Bracken WM. (1977). The effects of antioxidants on skin tumor initiation and aryl hydrocarbon hydroxylase. *37(6):* 1631-1635.
197. Solmaz F, Aktaş D, Kızılay A, okkeser Y, ncel S, zturan O (2001). Baş boyun epidermoid kanserinde dokudaki katalaz ve süperoksit dismutaz aktiviteleri ve malondialdehid düzeyleri. *KBB İhtisas derg.* 8: 397-401.
198. Spallholz JE. (1990). Selenium and glutathione peroxidase: essential nutrient and antioxidant component of the immune system. *Adv. Exp. Med. Biol.* 58: 145-262.
199. Sullivan PD. (1985). Free radicals of benzo(a)pyrene and derivatives. *Environ. Health perspect.* 64: 283-295.
200. Sunde RA (1990). Molecular biology of selenoproteins. *Ann. Rev. Nutr.* 10:451-474.
201. Szczeklik A, Szczeklik J, Galuszka Z (1994). Humoral immunosuppression in man exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons and related carcinogens in polluted environments. *Environ Health Perspect.* 102: 302-304.
202. Ulrey DE (1981). Vitamine E for swine. *J Anim Sci.* 53(4): 1039-1055.
203. Takabe W, Niki E, Uchida K, Yamada S, Satoh K and Noguchi N (2001). Oxidative stress promotes the development of transformation: involvement of a potent mutagenic lipid peroxidation product, acrolein. *Carcinogenesis.* 22(6): 935-941.
204. Teel RW (1984). A comparison of the effect of selenium on the mutagenicity and metabolism of benzo(a)pyrene in rat and hamster liver S9 activation systems. *Cancer Lett.* 24 (3): 281-289.
205. Teel RW, Kain SR (1984). Selenium modified mutagenicity and metabolism of benzo(a)pyrene in an S9 dependent system. *Mutat res.* 127(1): 9-14.
206. Teixeira HD, Meneghini R (1996). Chinese hamster fibroblasts over expressing CuZn-superoxide dismutase undergo a global reduction in antioxidants and an increasing sensitivity of DNA to oxidative damage. *Biochim J.* 315: 821-825.

207. Terzioğlu M, Yiğit G, Onur T. (1993). Fiziyojji Ders Kitabı. Cilt II. İstanbul Üniv. İstanbul.
208. Thomas MJ (2000). The role of free radicals and antioxidants. *Nutrition*. 16(7-8): 716-718.
209. Tietz NW. (1986). Nutrition, vitamins and trace elemnts. In: textbook of clinical chemistry. WB. Saunders Company. Philadelphia
210. Toker NK (1990). Oksijen toksisitesi ve serbest radikaller. İstanbul Tıp Fak. Mecm. 53(2): 157-161.
211. Trueba GP, Sanchez GM, Giuliani A. (2004). Oxygen free radical and antioxidant defense mechanism in cancer. *Front. Biosci*. 9: 2029-2044.
212. Trush MA, Kensler TW (1991). An overview of the relationship between oxidative stres and chemical carcinogenesis. *Free rad Biol Med*. 10:201-209.
213. Turner RJ and Finch JM (1991). Selenium and the immune response. *Proceed Nutr. Soc*. 50: 275-285.
214. Ullery DE. (1992). Basis for regulation of selenium supplements in animal diets. *J. Anim. Sci*. 70: 3922-3927.
215. Underwood EJ (1977). Trace elements in human and animal nutrition. Forth edition. Academic press, London.
216. Urton GW, Inglood KU. (1986). Vitamin E application of the principles of physical organic chemistry to the exploration of its structure and function. *Acta. Chem. Res*. 19: 194-201.
217. Valko M, Izakovic M, Mazur M, Rhodes CJ, Telser J. (2004).role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol. Cell. Biochem*. 266: 37-56.
218. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stres-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions* 160 . 1-40.
219. Vatesery GT (1987). In vitro oxydation of a-tocopherol (vitamin E) in human plateletes upon incubation wiyh unsatured fatty acids, daimide and superoxyde. *Biochemica Biophysica Acta*. 926: 160-169.
220. Wang M, Dhingra K, Hittelman WN, Liehr JG, Undrade M, Lei D (1996). Lipid peroxidation-induced putative malondialdehyde-DNA adducts in human breast tissues. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 5: 705-710.
221. Wang X, Quinn PJ. (1999). Vitamin E and its function in membranes. *Progr. in Lipid Res*. 38: 309-336.
222. Weijl NI, Cleton FJ, Osanto S. (1997). Free radicals and antioxidants in chemothreapy-induced toxicity. *Cancer treat. Rev*. 23: 209-240.
223. WHO (1999). Selected non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environmental Health Criteria*. No.202. World Health Organization: Geneva.
224. Willis MS, Wians Jr FH. (2003). The role of nutrition in preventing prostate cancer: a review of the proposed mechanism of action of various dietary substances. 330: 57-83.

225. Wilson RL (1987). Vitamin, selenium, zinc and copper interactions in free radical protection against ill-placed iron. *Proc. Nutr. Soc.* 46:27.
226. Wiss O, Bunnell RH, Gloor U. (1965). Absorptions and distribution of vitamin E in the tissues. *Vitam. Horm.* 20: 441-445.
227. Wu K, Shan YJ, Zhao Y, Yu JW, Liu BH (2001). Inhibitory effects of RRR-alpha-tocopheryl succinate on benzo(a)pyrene (BaP)-induced forestomach carcinogenesis in female mice. *World J gastroenterol.* 7 (1): 60-65.
228. Yalçın S. (1992): Serbest Radikaller ve Patolojik Etkileri. Marmara Üniversitesi Tıp Fak. Biyokimya A.B.D. Sendrom. 40.
229. Yarıktaş M, Döner F, Doğru H, Aynalı G, Yönden Z, Delibaş N (2003). Baş boyun malign tümörlerinde malondialdehid düzeyleri ve antioksidan enzim aktiviteleri. *SDÜ Tıp Fak derg.* 10(4): 65-67.
230. Yılmaz S, Ozan ST (2003). Meme kanserli hastalarda lipit peroksidasyonu ve bazı enzim aktiviteleri arasındaki ilişki. *Turk J Biochem.* 28 (4): 252-256.
231. Yin GY, Yin YF and He XF (1995). Effect of zhuchun pill on immunity and endocrine function of elderly with kidney-young deficiency. *Chung Kuo C Hung Hsi I Chieh H ota Chih.* 15: 601-603.
232. Yu RA, Lei XY, Lu WO, Mei YH, Zhu JL, Chen XN, Chen XM (2004). Effects of selenium on benzo(a)pyrene induce DNA damage in mouse lung cells. *Zhonghua Lao Dong Weisheng Zhi Ye Bing Za Zhi* 22(6): 445-447.
233. Zima T, Spicka I, Stipek S, Crkovska J, Platenik J, Merta M, Tesar V (1996). Antioxidant enzymes and lipid peroxidation in patients with multiple myeloma. *Neoplasma.* 43(2): 69-73.
234. Zinkl JG (1989). Leucocyte function. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals.* Kaneko JJ (ed). Academic Press. New York, 316-337.

8. ÖZGEÇMİŞ

1977 yılında Elazığ'da doğdum. İlkokulu Elazığ'da ortaokul ve liseyi İzmir'de tamamladım. 1994 yılında Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesine başladım ve 1999 yılında mezun oldum. 2001 yılında Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Programı, Fizyoloji Anabilim Dalının açmış olduğu doktora programını kazandım. Aynı Anabilim Dalına Araştırma Görevlisi olarak atandım. Halen Fizyoloji Anabilim Dalında Araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım. Evli ve bir çocuk annesiyim.