

156833

**T.C.**  
**GAZİ ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİMDALI**

**İNSAN BEYİN TÜMÖRLERİNDE KARNİTİN VE LİPİD  
PEROKSİDASYON DÜZEYLERİ**

**UZMANLIK TEZİ**  
**DR. NİLÜFER BAYRAKTAR**

**TEZ DANIŞMANI**  
**PROF. DR. HATİCE PAŞAOĞLU**

**ANKARA - 2004**

## TEŐEKKÜR

Tez çalıőmam ve uzmanlık eğitimim sırasında ilgisini ve desteğini esirgemeyen, bilgileri ve mesleki tecrübeleriyle eğitimime her konuda katkıda bulunan değerli hocam Prof. Dr. Hatice PAŞAOĞLU'na, tezimde önemli yardımları dokunan Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı Öğretim Üyelerinden sayın hocam Prof. Dr. Aydın PAŞAOĞLU'na ve tüm asistanlarına, tez çalıőmalarımındaki emeğinden ve yakın desteğinden dolayı Pediatri Anabilim Dalı Beslenme ve Metabolizma Bilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Gürsel BİBEROĞLU'na ve yardımlarından dolayı Metabolizma Laboratuvarı çalıőanlarına, asistanlık eğitimim süresince yanımda olmalarından mutluluk duyduğum, sevgilerini ve yardımlarını esirgemeyen tüm asistan arkadaşlarıma ve Dr. Ulaő Bülent GÖKTAŐ ve de Dr Mine YAVUZ'a , ayrıca yakın ilgilerinden dolayı tüm arkadaşlarıma ve hep yanımda oldukları için aileme teőekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

<b>1. GİRİŞ</b>	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	3
<b>2.1. Karnitin</b>	3
2.1.1. Karnitin metabolizması	4
2.1.2. Karnitinin metabolik fonksiyonları	9
2.1.3. Karnitin yetmezliği	12
2.1.3.1. Primer karnitin yetersizliği	13
2.1.3.1.1. Primer miyopatik (kas tipi) karnitin yetersizliği	13
2.1.3.1.2. Primer sistemik karnitin yetersizliği	13
2.1.3.1.3. Familyal kardiyomiyopati	14
2.1.3.2. Sekonder karnitin yetersizliği	14
2.1.4. Sinir sisteminde karnitin	15
2.1.4.1. Serebral hücrelere karnitin transportunun mekanizması	16
2.1.4.2. Beyin mitokondrisinde karnitin mekiği	17
2.1.4.3. Beyinde fonksiyon gösteren karnitin mekiğinin metabolik fonksiyonları	17
2.1.4.4. Beyindeki karnitin ve açilkarnitinlerin metabolik etkileri	19
2.1.5. Karnitin ve karsinogenezis	22
2.1.6. Karnitin ölçümü	24
2.1.7. Kütle spektrometri (Mass Spektrometri : MS)	25
2.1.7.1. Ardışık kütle spektrometresi (Tandem Mass Spectrometry, TMS )	29
<b>2.2. Oksidatif stres ve serbest radikaller</b>	30
2.2.1. Serbest oksijen radikalleri	31
2.2.2. Serbest radikallerle oluşan lipid peroksidasyonu	34
2.2.3. Antioksidan sistemler	36
2.2.4. Serbest radikaller ve karsinogenezis	39
2.2.5. Beyin ve serbest radikaller	42
2.2.6. Yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC)	44
<b>2.3. Beyin tümörleri</b>	47
2.3.1. Glial veya astrositik tümörler	51
2.3.2. Menenjiyom	51
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	52
<b>3.1. Kullanılan Gereçler</b>	52
3.1.1. Kullanılan araçlar	53
3.1.2. Kullanılan kimyasal maddeler	53
<b>3.2. Yöntem</b>	54
3.2.1. Doku MDA düzeylerinin ölçümü	54
3.2.2. Doku serbest karnitin ve açilkarnitin türevlerinin ölçümü	55
<b>3.3. Sonuçların analizi</b>	59
<b>4. BULGULAR</b>	60
<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ</b>	74
<b>6. ÖZET</b>	86
<b>7. KAYNAKLAR</b>	88

## 1. GİRİŞ

Serbest oksijen türleri (ROS), aşırı üretildiklerinde lipidler, proteinler veya DNA gibi hücre makromoleküllerinin hasarına neden olabilirler. Bunlar arasında lipid peroksidasyonu oldukça önemlidir. Çünkü lipid peroksidasyonu serbest radikal reaksiyonlarının kolay yayılmasına yol açarak oksidatif stresi artırır. Bu durumun, başlıca karsinogenezis, nörodejeneratif hastalıklar, yaşlılıkla beraber gelişen dejeneratif hastalıklar, ateroskleroz ve inflamatuvar hastalıklar olmak üzere birçok patogeneizde rol oynayabileceği bildirilmiştir.<sup>24,92</sup>

Beyin dokusu, yüksek miktarlarda oksijen tüketmesi, düşük düzeylerde antioksidan savunma sistemine sahip olması, yüksek konsantrasyonlarda demir (Fe) ve poliansature yağ asidi içermesi nedeniyle oksidatif hasara özellikle duyarlıdır.<sup>74</sup> Dokunun oksidatif strese duyarlılığı ve serbest radikallerin onkogenezis üzerine etkisi, beyin tümörleri ile oksidatif stres arasındaki ilişkiyi incelemek gerektiğini düşündürmektedir.<sup>122</sup>

Günümüzde, tıbbın çeşitli branşlarında tedavide kullanılan, karnitin ve karnitin esterleri, çeşitli spesifik hücre içi enzimler ve membran taşıyıcılarından oluşan karnitin sistemi, hücre içi kısa, orta ve uzun zincirli yağ asit trafiğinde önemli rol oynar. Karnitinin yetişkin beynindeki major rolü ise, asetilkolin sentezi için mitokondriden sitoplazma içine asetil bölümlerinin taşınmasıdır. Asetilkolin sentezi, başlıca enerji kaynağı olarak glukoz kullanan hücrelerde, karnitin ve kolin tarafından stimüle edilir. Asetil-L-karnitin (C2), santral sinir sisteminde karbonhidrat ve lipid metabolizmasının düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı çeşitli çalışmalarda belirtilmektedir.<sup>15-18</sup> Birçok çalışmada da C2 karnitinin nörotrofik ve nöroprotektif aktivitesi olduğu öne sürülmektedir.<sup>127,163,177</sup> Karnitin ve karnitin esterlerinin serbest radikal metabolizmasındaki görevi ise, okside membran fosfolipidlerinin onarımına yardımcı olarak hücreleri oksidatif hasardan korumaktır<sup>14,142</sup>. Bu etki, beyin dokusu hücreleri de dahil olmak üzere birçok hücre tipinde görülebilir.

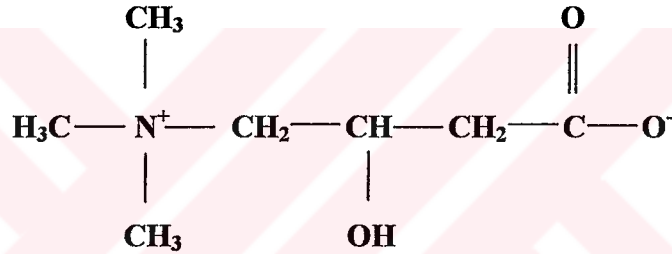
Kanser hastalarında karnitin sentezinin arttığını düşündürecek yeterli veri mevcut değildir. Bununla birlikte karnitin transportunun artmış olduğu düşünülmektedir.<sup>178</sup> Yapılan bir çalışmada, palmitoilkarnitin (C16) düşük konsantrasyonlarının kültürdeki nöroblastoma NB-2a hücrelerinin farklılaşmasını arttırdığı ve C16 karnitin verilmesinin melanoma ve nöroblastomanın proliferasyonunu inhibe ettiği bildirilmiştir.<sup>184</sup> Karnitin ve açilesterlerinin beyin tümör hücrelerindeki etkisine yönelik çalışmaların az olması, bu konuyla ilgili klinik yaklaşımların araştırılması gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Çalışmamızda; glioblastoma multiforme, yüksek ve düşük grade astrositoma, malign, atipik ve klasik menenjiyoma tümör gruplarında ve peritümöral dokuda MDA düzeylerini ve serbest karnitin, C2, C3, C4, C5, C6, C8, C10, C12, C14:1, C14, C16:1, C16, C18:1, C18, C20:4 karnitin düzeylerini inceleyerek; insan beyin tümörlerinde, karnitin-açilkarnitinlerin, karsinogenezisle ve/veya karsinogeneziste etkisi düşünülen lipid peroksidasyonu ile ilişkisi olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Karnitin

Karnitin (3 hidroksi-4 trimetilaminobütirik asid) ilk kez 1905 yılında Gulewitch ve Krimberg tarafından sığır kasında keşfedilmiş, kimyasal yapısı Tamita ve Sendju tarafından 1927 yılında belirlenmiştir<sup>89,182</sup> (Şekil1). Fraenkel 1948 yılında vitamin BT adında yeni bir vitamin gündeme getirdikten 4 yıl sonra, Carter bu maddenin karnitin olduğunu göstermiştir.<sup>40,77</sup>



Şekil 1. L-Karnitinin Kimyasal Yapısı

Karnitinin, karaciğer ve kalp kasında uzun zincirli yağ asitlerinin oksidasyonunu arttırdığı 1959'da Fritz tarafından bildirilmiştir.<sup>80</sup>

Serbest karnitin, molekül ağırlığı 161.2 olan iyonik bir moleküldür. Karnitin hidroklorid olarak sentezlenebilir. Yalnız L-karnitin biyolojik olarak aktiftir. L-karnitin beyaz renkte kokusuz, suda büyük oranda çözünebilen bir moleküldür.<sup>76</sup>

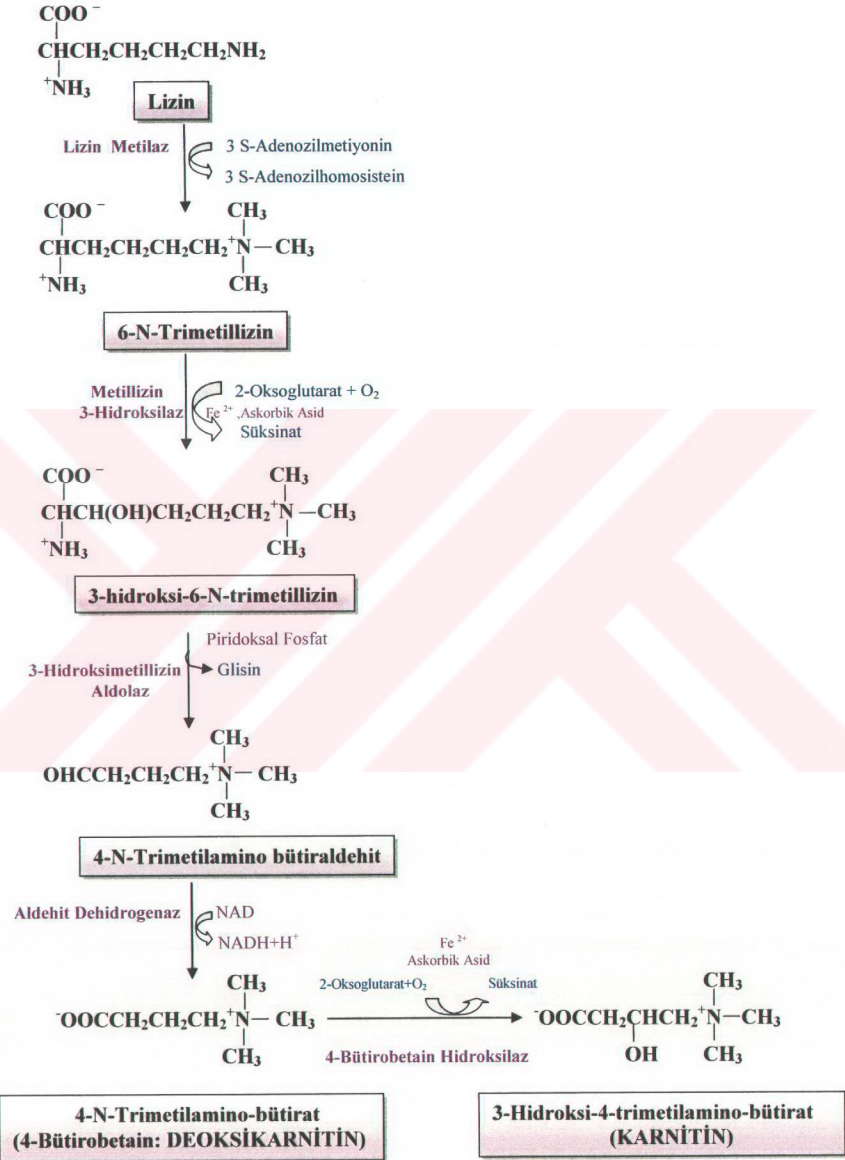
Karnitin, ekzojen olarak besinlerle alınabildiği gibi organizmanın kendisi tarafından da sentez edilebilir. Besinlerdeki karnitin genellikle serbest karnitin halindedir. Çok az bir kısmı da kısa ve uzun zincirli açilkarnitin olarak ester şeklinde bulunur. Diyetle alınan karnitin bağırsaklardan tamamen emildiği kabul edilmektedir. Bağırsaklar yoluyla alınan karnitin miktarı karaciğerdeki sentez düzeyini değiştirebilmektedir. Karnitin bitkisel

kaynaklı besinlerde hayvansal kaynaklı besinlere oranla daha az miktarda bulunur. Günlük oral karnitin ihtiyacı en az 8-11 mg düzeyinde olduğu belirtilmektedir.<sup>8</sup>

### 2.1.1. Karnitin Metabolizması

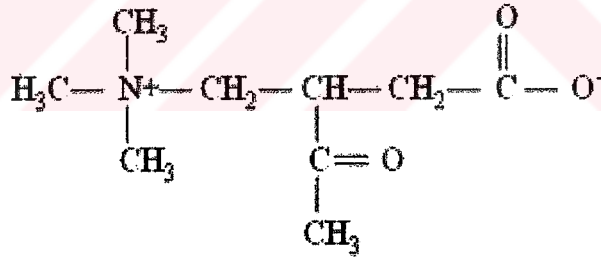
Memeli organizmasında karnitin bir dizi enzimatik reaksiyonla sentez edilir (Şekil 2).<sup>37,179</sup> Karnitin biyosentezinin öncü maddesi diyet ile alınan proteinlerin hidrolizi ile ortaya çıkan lizindir. Lizinin metilaz enzimi aracılığıyla metilasyonu sonucunda trimetillizin oluşur. Trimetillizin bütün dokularda kompleks reaksiyonlar zinciri sonucunda deoksikarnitine (4-bütirobetain) dönüşür. Demir, askorbik asit, piridoksin ve niasin de kofaktör olarak karnitin sentezinde yer almaktadır.<sup>156</sup> Deoksikarnitin hidrosilasyonu ile oluşan karnitin sentezi insanda sadece deoksikarnitin hidrosilaz enzimine sahip karaciğer, beyin, epididimis ve böbrek gibi dokularda gerçekleşir.<sup>155</sup> Diğer dokular sentez ettikleri deoksikarnitini hidrosile edilmek üzere bu enzime sahip dokulara gönderir. Beyin ve epidimiste sentez ettikleri karnitini lokal olarak, karaciğer ve böbrek tarafından sentez edilerek dolaşıma verilen karnitin ise bütün vücut dokuları tarafından kullanılır.

Başta iskelet ve kalp kası olmak üzere birçok dokuda karnitin konsantrasyonu plazmanın birkaç katıdır. Bu durum karnitin hücre içine aktif olarak taşındığını düşündürmektedir. Bunun yanında bu transport dokulara spesifik özelliktedir. Kas liflerine karnitin transportu sodyum bağımlıdır. Çalışmalar plazma ile kas hücresi arasında iki yönlü çalışan transkalemmal karnitin taşıyıcısı adı verilen taşıyıcı proteinin varlığını göstermiştir. Yakın zamanlarda sodyum-bağımlı, yüksek affiniteli karnitin taşıyıcısı belirlenmiştir. OCTN2 olarak adlandırılan bu taşıyıcı organik katyon taşıyıcısı OCTN1 ile büyük oranda benzerlik gösterdiği için bu şekilde adlandırılmıştır.<sup>178</sup>

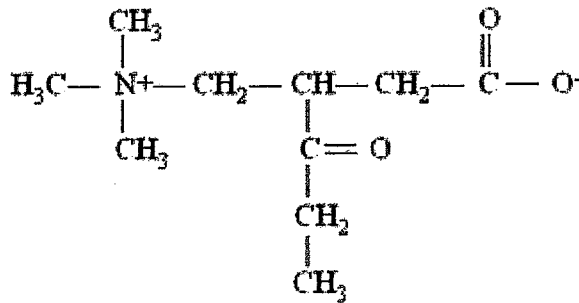
Şekil 2. Karnitin Biyosentezi<sup>32</sup>

Karnitin vücutta serbest karnitin , kısa veya uzun zincirli açilkarnitin şeklinde bulunmaktadır.

L-karnitin metabolizması esnasında bir takım modifikasyonlara uğramaktadır. Bunların en önemlisi değişik karbon uzunluklarındaki (2-22 karbon) açil gruplarıyla esterleşmesidir. İşlem geri dönüşümlü olarak karnitin açil transferaz ailesinden enzimlerle olmaktadır.<sup>25</sup> Açilkarnitinler; asetilkarnitin, propiyonilkarnitin, bütirilkarnitin, isovalerilkarnitin, hekzanoilkarnitin , oktanoilkarnitin şeklinde adlandırılmaktadır.



Şekil 3. Asetil-L -karnitin



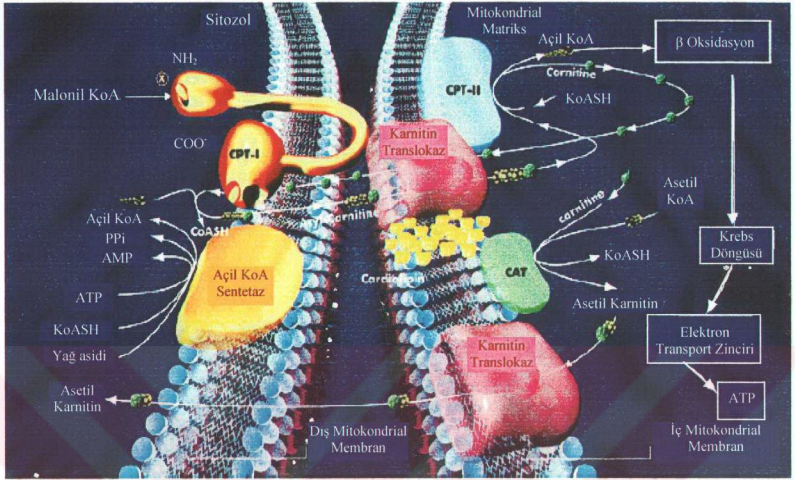
Şekil 4. Propiyonil-L-Karnitin

Karnitinin işlev görmesinde onun kadar önemli bir diğer faktör de karnitin açıl transferazdır (CAT). Kullandıkları substratların farklı olması nedeniyle belirlenmiş 3 tip CAT vardır(Tablo1).<sup>96</sup>

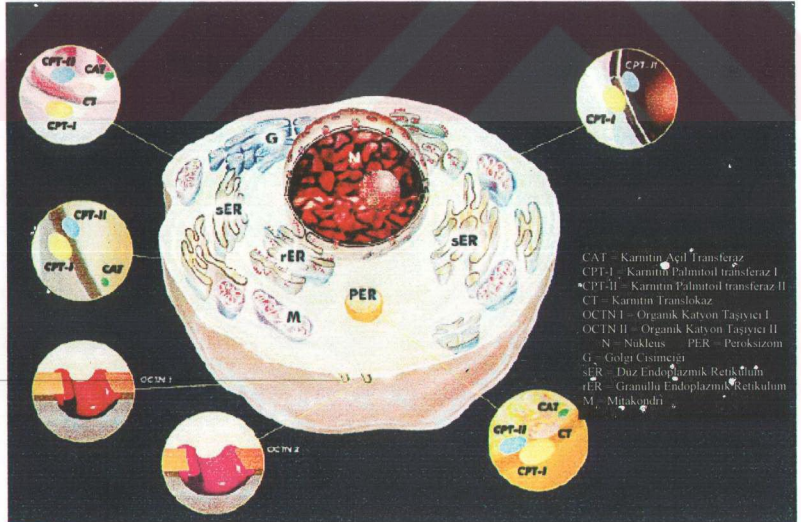
**Tablo 1.** Substratlara spesifik karnitin açıl transferazlar (CAT)<sup>96</sup>

Substratlar	CAT
Kısa zincirli açıl grupları	Karnitin asetil transferaz
Orta zincirli açıl grupları	Karnitin oktanoil transferaz
Uzun zincirli açıl grupları	Karnitin palmitoil transferaz

Karnitin açıl transferazlar buldukları hücre içi organellere göre de farklılıklar gösterirler. Karnitin palmitoil transferaz (CPT I ve II), hücre içinde sadece mitokondride bulunmaktadır. Karnitin oktanoil transferaz ise sadece peroksizom ve mikrozoamlarda bulunmaktadır. Karnitin asetil transferaz ise mitokondride, peroksizomlarda ve mikrozoamlarda bulunmaktadır. Bu üç değişik enzim hem immunolojik olarak hem de molekül ağırlıkları yönünden birbirlerinden farklıdır.<sup>96</sup> CAT I mitokondri iç membranının dış membran tarafındaki membranlar arası boşluğa bakan yüzeyinde lokalizedir. CAT II ise yine mitokondri iç membranında fakat matrikse bakan yüzeyde lokalizedir. Yağ asidlerinin biyosentezinde oluşan ilk ara ürün olan malonoil KoA CPT I i inhibe etmektedir. CPT II üzerinde ise inhibe edici etkisi yoktur<sup>162</sup> (Şekil5,6).



Şekil 5. Mitokondriyal Karnitin Sistemi <sup>147</sup>



Şekil 6. Hüresel Karnitin Sistemi Enzim Ağı <sup>147</sup>

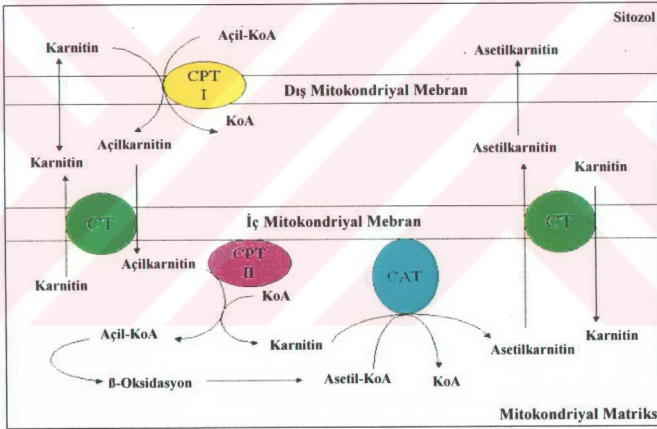
Radyoaktif karnitin kullanılarak karnitinin doku dağılımı incelendiğinde, % 95 oranında iskelet ve kalp kasında, % 1 ekstrasellüler sıvıda, % 4 ise başta karaciğer ve böbrek olmak üzere diğer dokularda bulunduğu gösterilmiştir.

Vücuttaki fonksiyonu bittikten sonra karnitin büyük oranda idrarla atılır. Çok az bir kısmının ise bağırsak bakterileri tarafından degradasyona uğratıldığı sanılmaktadır. Ayrıca böbrekler karnitinin atılımından başka, büyük oranda tubuler reabsorbsiyonundan, açılasyonundan ve deaçılasyonundan da sorumludurlar. Normal koşullarda idrarda açilkarnitin olarak asetilkarnitin bulunur ve idrarda asetilkarnitin/serbest karnitin oranı plazmadan yüksektir. Çünkü proksimal tubuluslar serbest karnitini açilkarnitinden daha yüksek verimle reabsorbe ederler. Pirüvat, asetat, keton cisimleri gibi açılasyonu arttıran moleküllerin varlığında bu oran daha da artar. Bu nedenle ketoasidozlu kişilerin idrarlarında asetilkarnitin/karnitin oranı çok yükselmiştir.<sup>20,88</sup> Ayrıca kalıtsal organik asidürilerde, artan kısa ve orta zincirli organik asitler, kısa ve orta zincirli açilkarnitin atılımı yoluyla uzaklaştırılır.<sup>88,156</sup>

### 2.1.2. Karnitinin Metabolik Fonksiyonları

➤ Karnitinin, karaciğer, iskelet ve kalp kasında yağ asidi oksidasyonunu stimüle etmesi bilinen en önemli fonksiyonudur. Karnitin, mitokondriyal uzun zincirli yağ asidi oksidasyonunda (  $\beta$ -oksidasyonu ) görev almaktadır.<sup>32,96</sup> Kısa ve orta zincirli yağ asitlerinin mitokondri içindeki oksidasyonları karnitine bağımlı olarak veya karnitinden bağımsız olarak da oluşabildiği halde, uzun zincirli yağ asitlerinin mitokondri içindeki oksidasyonları sadece karnitin varlığında gerçekleşebilmektedir. Çünkü mitokondrinin iç membranı, uzun zincirli yağ asitlerine karşı geçirgen olmayan bir bariyerdir. Uzun zincirli yağ asitleri, mitokondri dış zarında aktive olarak Koenzim A esterlerini oluştururlar.

Ancak KoA esterleri mitokondri iç zarından geçemez. Matrikse geçebilmek için açıl gruplarını, karnitin açıl transferaz I (CAT I) aracılığı ile karnitine aktarırlar.<sup>55,191</sup> Açıl karnitin, karnitin translokaz (CT) eşliğinde iç membrandan matrikse geçer ve burada karnitin açıl transferaz II aracılığı (CAT II) ile reaksiyon tersine dönerek karnitin serbest kalırken, açıl grubu tekrar KoA ile birleşir ve açıl KoA matrikste  $\beta$ -oksidasyona girerek katabolize olur.<sup>55,191</sup> Katabolizma sonucu oluşan ATP'ler, dokulara enerji sağlarken, ortaya çıkan bazı metabolik ürünler de hepatik ketogenez ve glikogenezde kullanılır.



Şekil 7. Mitokondriyal  $\beta$ -oksidasyonda Karnitinin Görevi<sup>32</sup>

➤ Karnitin uzun zincirli yağ asitlerinin mitokondri içine transportu yanında kısa zincirli açıl gruplarının hem peroksizomların hem de mitokondrilerin dışına transportunda rol almaktadır.<sup>140,167</sup> Lösin, izölösin, valin gibi aminoasitlerin katabolizmasında oluşan asetil, propiyonil ve dallı zincirli açıl gruplarıyla birleşerek bunların peroksizom ve mitokondri dışına çıkarılmasında da görev alır. Bu açıdan dallı zincirli aminoasitlerin

metabolizmasında önemli bir rol oynar. Karnitin yetmezliği söz konusu olduğunda mitokondri içinde asetil KoA ve isovaleril KoA gibi bileşiklerin birikimi piruvat dehidrogenaz, karnitin asetil transferaz gibi enzimlerin inhibisyonuna yol açmaktadır.<sup>167</sup>

➤ İnsan iskelet kasından izole mitokondrilerde karnitin ile piruvat dehidrogenaz aktivitesinin stimülasyonu gösterilmiştir.<sup>140</sup>

➤ Mitokondrial açıl-KoA / KoA oranının düzenlenmesi yoluyla mitokondri içi glukoz ve aminoasit metabolizmasının düzenlenmesinde rol oynar.

➤ Karnitinin membran stabilizasyonu ve onarımında önemli bir yer alır. Karnitin palmitoil transferazlar eritrosit membranı ve nöronlarda da bulunmaktadır.<sup>10,12,151,190</sup> Karnitin sisteminin hem eritrositlerde hem de nöronlarda fosfolipid ve trigliserit yağ asit döngüsünde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir.

➤ Karnitin ksenobiotiklerin detoksifikasyonunda da rol alabilmektedir. Örnek olarak valproik asidin karnitin esterleri şeklinde idrarla atılımı sayılabilir.<sup>185</sup>

➤ Kardiyomiyopati ve kronik kalp yetmezliği olguları ile miyokard enfarktüsünden ölen hastalarda karnitin düzeyleri normalden düşük bulunmuştur. Yine bazı durumlarda kalp hastalarının karnitin ile tedavisi az sayıda olguda denenmiş olsa da başarılı sonuçlar verdiği görülmüştür. Karnitin verildikten sonra, koroner arter hastalıklarında egzersiz toleransının arttığı, hiperlipidemisinin normale döndüğü gösterilmiştir. Antineoplastik ilaçlardan antrasiklin verilerek oluşturulan deneysel aritmi ve kardiyomiyopatinin, tümörün büyümesi etkilenmeksizin karnitin ile tedavi edilebildiği gözlenmiştir.

➤ Deneysel olarak karnitin, glikokortikoidlerin ve tiroksinin fetal sıçan akciğerlerinde surfaktan oluşumu üzerindeki etkisini arttırdığı gösterilmiştir. Klinikte de karnitin ve betametazon kombinasyonu ile sadece betametazon tedavisinden daha yüksek lesitin/sfingomyelin oranına ulaşılabildiği bildirilmiştir.

➤ Karnitin artan glutamin ve amonyağın beyindeki düzeylerini azaltarak amonyak toksitesinden beyni koruma görevini de üstlenir.<sup>99,139</sup>

➤ Bu fonksiyonlarından başka karnitinin; mitojenik uyarıda insan lenfositleri proliferatif cevabını arttırmada, polimorfonükleer hücrelerin kemotaksisini arttırmada, lipidlerin indüklediği immunosupresyonu nötralize etmede, lusterin, fetuin veya fibrinojen gibi agregan proteinlerin eritrosit agregasyonunu inhibe etmede rolü olduğu belirtilmiştir.<sup>53,54,79</sup>

Ayrıca karnitin sistemi başka fonksiyonlar da içerir:<sup>33</sup>

- Mitokondriyal düzeyde enerji üretimi için substrat kullanımı
- Enerji üretimiyle ilişkili olmayan bir şekilde peroksizomal düzeyde lipid oksidasyonu
- Endoplazmik retikulum düzeyinde düşük dansiteli lipoproteinler gibi proteinlerin açılması ve deaılması
- Membran fosfolipid dönüşümü
- Hücre osmotik dengesinin sağlanması

### 2.1.3. Karnitin Yetmezliği<sup>58</sup>

Keton cisimlerinin karaciğerdeki sentezinde gerekli olan yağ asitlerinin oksidasyonu, kaslarda da enerji üretilmesi için gereklidir. Karnitinin ise, uzun zincirli yağ asitlerinin oksidasyonunda çok önemli görevleri vardır. Dolayısıyla, karnitin yetersizliğinde karaciğer ve kasların fonksiyonlarında bozukluklar olur.

Karnitin yetersizliğinin tanısı klinik bulgulara ve karnitin ölçümlerine dayandırılarak konulmaktadır.

### 2.1.3.1 Primer karnitin yetersizliği:

- a) Primer miyopatik karnitin yetersizliği
- b) Primer sistemik karnitin yetersizliği
- c) Familyal kardiyomiyopati

#### 2.1.3.1.1. Primer Miyopatik (Kas Tipi) Karnitin Yetersizliği

Miyopatik karnitin yetersizliğinde hastalarda kas güçsüzlüğü vardır. Tip I kas liflerinde lipid damlacıkları birikimi vardır. Karnitin düzeyleri sadece iskelet kaslarında düşüktür; plazma karaciğer ve kalp karnitin ve esterlerinin düzeyleri ise normaldir. Defektin karnitinin plazmadan kas hücresi içine transportunu sağlayan taşıyıcı proteinde olduğu sanılmaktadır. İdrarda organik asitlerin ekskresyonları normaldir.

Primer miyopatik tip otozomal resesif geçiş gösterir. Tedavide hastalara 2-6 gr/gün oral L-karnitin verilir, böylece hastaların klinik semptomları düzelir fakat düşük olan kas karnitin seviyeleri değişmez.

#### 2.1.3.1.2. Primer Sistemik Karnitin Yetersizliği

Sistemik karnitin yetersizliğinde hastalarda kas güçsüzlüğü ve hepatik ensefalopati vardır. Lipid depolanması generalizedir. Kas ve karaciğerde lipid depolanması görülür. Karnitin düzeyleri hem plazmada hem de dokularda düşüktür. Karnitin esterleri artmıştır. Karaciğerde karnitin düzeyinin azalmasından dolayı, keton cisimlerinin üretilmesi bozulmuştur. İdrarda dikarboksilik asidüri, hepatik ensefalopati ile birliktedir. Karnitinin üriner ekskresyonu, özellikle esterifiye formlarda olmak üzere artmıştır.

Primer sistemik karnitin eksikliğinin, karnitinin, glomerüler filtrattan geri emilimini sağlayan renal transport proteinin eksikliği sonucu geliştii tespit edilmiştir. Primer

sistemik karnitin eksikliği de otozomal resesif kalıtım göstermekte ve klinikte beyin hasarı haricinde, karnitin tedavisine (100 mg/kg/gün oral) iyi cevap vermektedir.

### 2.1.3.1.3. Familyal Kardiyomyopati

Familyal kardiyomyopati, progresif kardiyomyopati ile birlikte olan sistemik karnitin yetersizliği söz konusudur. Hastalardaki dilate kardiyomyopati tedavisizdir ve ölüme yol açar. Ailevi, otozomal resesif kalıtım gösterir. Plazma, kas, kalp, karaciğer karnitin düzeyleri düşüktür. Hastalarda generalize bir karnitin yetersizliği vardır. Karaciğerdeki karnitin yetersizliği nedeniyle hipoketotik hipoglisemi gözlenirken, kaslardaki karnitin yetersizliği nedeniyle de hipotoni gelişmektedir. Hastalarda, karnitinin transportunda genetik bir defekt vardır. Bu nedenle bu tip karnitin yetersizliği "gerçek karnitin yetersizliği" dir. Normalde kas, böbrek ve bağırsak mukozasında bulunması gereken karnitine yüksek affiniteli reseptörler bu hastalarda yoktur. Tedavide hastalar L-karnitin tedavisine çok iyi yanıt verirler. Karnitin tedavisi sonucu kalp fonksiyonları yeniden normale döner. Tedavi edilmeyenler erken yaşta kalp yetmezliğine girerler.

### 2.1.3.2. Sekonder karnitin yetersizliği

a) Genetik geçişli karnitin yetersizliği

1. Organik asidüriler
2. B-oksidasyon defekti olanlar
3. Solunum zinciri defekti olanlar

b) Sonradan kazanılmış karnitin yetersizliği

1. Diyetteki yetersizlikler

Vejeteryanizm

## Total parenteral nutrisyon

Soya fasülyesinden hazırlanan mama ile beslenme

- 2.Hemodiyalize bağlı
- 3.Pivampisilin kullanımına bağlı
4. Valproat tedavisine bağlı
- 5.Fanconi sendromu

Sekonder karnitin yetersizlikleri içerisinde en sık görülenlerden biri organik asidüriler (propionik, metil malonik, izovalerik asidüri gibi), diğeri  $\beta$ -oksidasyon defektleri (kısa, orta ve uzun zincirli açıl Ko-A dehidrogenaz yetersizlikleri), bir diğeri de glutarik asidüri tip II dir.

### 2.1.4. Sinir Sisteminde Karnitin

Kalp ve iskelet kasları en yüksek karnitin içeriğine sahiptir ve rat beyninin karnitin düzeyi bu dokuların onda biri kadardır. Bununla beraber beyinde karnitin palmitoil transferazın aktivitesi böbrek ve iskelet kasıyla benzerdir.<sup>34</sup> Karnitin sentezinde 4-bütirobetainin karnitine hidroksilasyonunu sağlayan enzim insanlarda sadece karaciğer, böbrek ve beyinde bulunmaktadır.<sup>66,155</sup> Buna rağmen beyinde in vivo olarak karnitin sentezi çok düşük düzeyde bulunmuştur. Bundan dolayı karnitin beyinde normal düzeylerine ulaşabilmesi için kan beyin bariyeri ile taşınması gerektiği ileri sürülmüştür.<sup>36</sup>

İlginç olarak, karnitin veya açıl türevlerinin akümülyasyonunun santral sinir sisteminin çeşitli bölgelerinde çok farklı olduğu bulunmuştur. Özellikle hipotalamusta karnitin akümülyasyonunun yüksek olduğu belirtilmiştir.<sup>34</sup> Böylece beyinde farklı bölgelerde sentez mekanizması ve/veya spesifik karnitin uptake sistemlerinin farklı bir

dağılımının olduğu ileri sürülebilir.

Köpek beyninin değişik bölgelerinde karnitin içeriğinin farklı olduğu, serebellar korteksin en yüksek içeriğe sahip olduğu gösterilmiştir.<sup>171</sup> Rat beyninde ise hipotalamus en yüksek serbest karnitin ve açıl türevlerini içermektedir.<sup>34</sup>

L-[3H]-karnitininin rat beyninde bağlandığı alanların karakterizasyonu ve subsellüler lokalizasyonu ile ilgili yapılan bir çalışmada bunun yüksek oranda spinal kordda, bunu medula oblangata-pons>korpus striatum>serebellum=serebral korteks=hipokampus=hipotalamus=olfaktor bulbus takip etmektedir.<sup>183</sup>

#### 2.1.4.1. Serebral Hücelere Karnitin Transportunun Mekanizması

Beyin dokularında<sup>98</sup> veya sinaptozomal preprasyonlarda<sup>95</sup> karnitin transportunun Na-bağımlı olduğu gösterilmiştir. Endotelyal, nöroblastoma ve izole rat striatum hücre kültürleri ile yapılan deneylerde, L karnitin akümülyasyonunun endotelyal hücelere göre nöral hücelerde daha yüksek olduğu gösterilmiştir.<sup>139</sup> Ayrıca striatum hücelelerindeki Na-bağımlı karnitin alınımı bu bileşiğin akümülyasyonunun % 40-50 sini oluşturmaktadır. Bu durum sinir hücelerinde karnitin alınımının birden fazla transport sistemi olduğunu düşündürmektedir. Bu transport sisteminin beyin dokularında ve sinaptozomal preprasyonlarda ouabain ile inhibe edildiği bulunmuştur. Benzer gözlemler rat kortikal nöronlarında da bulunmuştur.<sup>137</sup> Bu araştırmalar karnitin transportunun enerjiye bağlı olduğunu göstermiştir. Fakat ATP kullanımının indirekt olduğu ve bu transportun Na-K-ATPaz yoluyla Na gradienti sağlanarak yapıldığı belirtilmiştir.

Rat beyninde ve sinaptozomlarında karnitin transportu GABA tarafından yarışmalı olarak inhibe edilir.<sup>98</sup> İzole rat kortikal nöronlarında GABA varlığında asetil karnitin düzeyi 1,6 kez düşmüştür. Karnitin asetil transferazın inhibisyonuyla bu gözlem

koreledir.<sup>188</sup> Bununla beraber kolin ve betainler, yapısal olarak karnitine benzemelerine rağmen bu transportu inhibe etmemektedirler.<sup>138</sup>

#### **2.1.4.2. Beyin Mitokondrisinde Karnitin Mekiği**

Çok uzun yıllardır beyin mitokondrisinde karnitin mekiği olduğu bilinmektedir. Mitokondriyal matrikste yağ asitlerinin oksidasyonunu sağlayan bu mekik diğer dokularda çok daha az bulunmaktadır.<sup>32,168</sup> Erişkin beyninin ana enerji kaynağının glukoz oluşu, karnitin mekiğinin göreceli olarak düşük aktivitesini açıklamaktadır. Bununla beraber postnatal dönemde, beyin yağ asid oksidasyonunun artarak, karaciğerde bulunan düzeylere ulaştığı gösterilmiştir. Bu artış palmitoil-KoA sentetaz ve karnitin palmitoil transferazın artmış aktivitesi ile korelasyon göstermektedir.<sup>187</sup>

Farklı dokulardan izole edilen karnitin taşıyıcılarının farklı substrat spesifitesi gösterdikleri Nalez ve ark. tarafından ifade edilmiştir.<sup>136</sup> Beyin mitokondrisinde karnitin mekiği diğer dokulardan farklı substrat spesifiteleri göstermektedir. Bu sistemin karnitin uzun zincirli derivelerinden çok kısa zincirli açilkarnitinlere daha spesifik olduğu bulunmuştur.<sup>101</sup> İç mitokondrial membran karnitin taşıyıcısının asetilkarnitine yüksek spesifitesi bulunmuş; bu proteinin beyindeki aktivitesinin  $\beta$  oksidasyon için uzun zincirli yağ asitlerinin transportundan çok , mitokondrial asetilin sitoplazmaya transferini gerçekleştirdiği bildirilmiştir.<sup>138</sup>

#### **2.1.4.3. Beyinde Fonksiyon Gösteren Karnitin Mekiğinin Metabolik Fonksiyonları**

Erişkin beyni için glukoz başlıca enerji kaynağıdır. Glukozun glikoliz ile metabolize edilmesiyle oluşan piruvat, piruvat dehidrogenaz ile asetil KoA ya dönüştükten sonra trikarboksilik asit siklusuna girebilir.<sup>138</sup>

Beyindeki yağ asitleri  $\beta$  oksidasyondan çok yapısal lipidlere inkorpore olurlar.<sup>104</sup> Asetil KoA asetilkarnitin şeklinde mitokondriden dışarı verilebilir. Asetilkarnitin, mitokondrinin sitoplazmik kısmında asetilKoA'ya karnitin asetil transferaz tarafından çevrilebilir. Asetil KoA , sitrat şeklinde de transport edilebilir. Bunun sonucunda , sitrat yıkıcı enzimlerin etkisiyle de sitoplazmada asetil KoA havuzunda artış oluşur.<sup>138</sup>

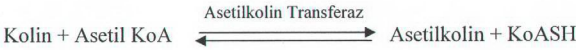
Beyinde triaçilgliseroller keton cisimciklerine dönüştür. Keton cisimcikleri mitokondriye monokarboksilat taşıyıcısı ile taşınır ve asetoasetatın asetoasetil KoA'ya aktivasyonu intramitokondrial asetil CoA havuzunda artışa neden olur.<sup>136</sup>

Asetil KoA sitoplazmada 3 farklı yolda kullanılabilir:

- 1) Yağ asitlerinin sentezi
- 2) Kolesterol sentezi
- 3) Asetilkolin oluşumu

#### Asetilkolin Sentezi:<sup>138</sup>

Asetilkolin kolinerjik sinapslarda nörotransmitter olarak görev yapar. Sentezi sitoplazmadadır ve asetilkolin transferaz tarafından katalize edilir.



Dolezal ve Tucek<sup>64</sup>, asetilkolin sentezi için asetil kısmını sağlayan farklı öncül maddeler denemişlerdir. Asetilkolin sentezi için sitrat ve asetat kullanımının düşük; piruvat, glukoz ve asetilkarnitin daha iyi maddeler olduğu gösterilmiştir.

Beyin dokusunda, mitokondriden sitoplazmaya asetil kısımlarının taşınımında karnitin etkisi göz önüne alınarak, karnitin asetilkolin sentezindeki rolünü tanımlamak için çalışmalar yapılmıştır. Karnitin, kolin ile birlikte aynı ortama konulunca asetilkolin

sentezini yükselttiği gösterilmiştir. Karnitin, hücrelerin sitoplazmalarına asetil kısımlarını salarak asetilkolin sentezini aktive edebilir. Bu durum nörodejeneratif hastalığı olan hastalara karnitin verilmesinin nedenini açıklayabilir.<sup>157</sup>

#### 2.1.4.4. Beyindeki Karnitin ve Açilkarnitinlerin Metabolik Etkileri

Beyinde biriken karnitin % 15-20'si uzun zincirli açil türevleri şeklindedir.<sup>34</sup> Bresolin ve ark.<sup>34</sup>, beyinde farklı aktivitelerde karnitin açil transferazların bulunduğunu ifade etmektedirler. Palmitoil karnitin transferaz, karnitin asetil transferaza göre 100 kat daha aktif olduğu halde uzun zincirli açil karnitin içeriği total karnitin miktarının % 15-20'sini geçmemektedir. Bu gözlem izole kortikal rat nöronlarında da izlenmiştir.<sup>188</sup>

Rat beyinlerinde; asetil-L-karnitin, glukoz metabolizmasını düzenlediği ve glikojen sentezini stimüle ettiği görülmüş.<sup>16</sup>

Karnitin yetişkin beyindeki major rolü ise asetilkolin sentezi için mitokondriden sitoplazma içine asetil bölümlerinin taşınmasıdır. Asetilkolin sentezi, ana enerjetik substrat olarak glukoz kullanan hücrelerde, karnitin ve kolin tarafından stimüle edilir.<sup>188</sup>

Beyinde karnitinin akümüasyonu ve bu bileşiğin nöral hücrelere transportu ve daha ileri metabolizması hakkında çok az bilgi olmasına rağmen serebral dokuda karnitin ve türevlerinin metabolik ilişkilerine dair daha çok veri vardır. Kimyasal olarak kolin ve asetilkoline benzeyen karnitin ve karnitin açil esterlerinin nörotransmisyonunda rol oynadığı iddia edilmektedir.<sup>68</sup> Serebral korteksteki nöronlar yani kolinerjik transmisyon için özelleşmiş olan hücreler asetilkarnitin ile uyarılırlar. Ama bu karnitini nörotransmitter olarak tanımlamak için yeterli değildir. Karnitin ve asetilkarnitin GABA<sup>95</sup>, asetilkolin<sup>180</sup>, serotonin ve noradrenalin reseptörleri<sup>181</sup> ile etkileşime girer. Böylelikle beyin farklı alanlarındaki nörotransmisyonu modüle eder. Buna rağmen karnitin bu etkilerinin in vivo

bir fizyolojik anlamı olup olmadığı bilinmemektedir.

Palmitoil-KoA'nın hücre düzeyleri karnitin, palmitoil-KoA sentetaz ve palmitoilkarnitin transferaz I aktivitesi ile dinamik bir denge içindedir. Palmitoil-KoA golgi cisimciğindeki transport veziküllerinde birleşmeyi başlatır.<sup>149</sup> Bu özelliği nöral hücrelerde önemlidir. Golgi aygıtındaki füzyon fenomeni presinaptik membrandaki nörotransmitterlerin artmış sekresyonuna yol açar.<sup>186</sup> Karnitin bu etkisiyle nörotransmisyonu düzenleyebilir.

Fare beyin sinoptozomlarında L-karnitin etkin olarak GABA reseptörlerine bağlanmakta ve kompetitif olarak GABA alınımını inhibe etmektedir.<sup>95</sup>

Öte yandan karnitin ve esterlerinin yaşlı hastalardaki kronik dejeneratif hastalıklarda faydalı farmakolojik ajanlar olarak kullanılabileceği kanıtlanmıştır.<sup>157</sup> Klinik çalışmalarda asetilkarnitin Alzheimer'li hastalarda mental bozukluğun ilerlemesini yavaşlatmada etkili olduğu gösterilmiştir.<sup>158</sup> Bu etkinin mekanizması bilinmemekle birlikte kolinerjik sinir transmisyonu ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.<sup>157</sup>

L-karnitin ve asetil-L-karnitin (ALCAR) sentez edilerek ve kandan alınarak beyinde bulunmasına rağmen serebral biyokimyasal süreçlerin düzenlenmesinde karnitin sisteminin ilişkisi tam olarak açık değildir.<sup>16</sup> Yaşlı ratların asetil-L-karnitin ile kısa dönem tedavileri üzerine çalışmalarda, asetil-L-karnitin bazı davranışsal ve biyokimyasal parametreleri düzelttiği ve membran fosfolipid metabolizmasındaki yaşla ilişkili hasarları normale döndürdüğü bulunmuştur<sup>18,84</sup> ve yaşlı rat beyinlerinde sfingomyelin ve kolesterol birikimini azalttığı gösterilmiştir<sup>15</sup>. Asetil-L-karnitin tedavisinin beyin enerji metabolizmasını arttırdığı ve geçici serebral iskemiye takiben laktat düzeylerini azalttığı da bildirilmiştir.<sup>17</sup> Bu bulgular ışığında asetil-L-karnitin santral sinir sisteminde karbon hidrat ve lipid metabolizmasının düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı söylenebilir.

Angelucci ve ark.<sup>9</sup>, ALCAR ile uzun dönemli tedavi sonrasında, yaşlı ratların hipokampusundaki piramidal hücrelerin korunduğunu göstermişlerdir. Başka birçok çalışmada da ALCAR'ın nörotrofik ve noroprotektif aktivitesi olduğu öne sürülmektedir.<sup>127,177</sup> ALCAR'ın iskeminin indüklediği nörolojik hasar ve çeşitli organik asidüriler gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde de faydalı olduğu kanıtlanmıştır. ALCAR, postiskemik nörolojik hasarlardan koruma etkisini aerobik enerji metabolizmasını potansiyalize ederek göstermektedir.<sup>163</sup>

Eksternal olarak uygulanan karnitin rat serebral korteks hücrelerinde asetilkolin sentezi üzerine etkisiyle ilgili başka bir çalışmada da; karnitin türevlerinin dağılımı, önemli bir şekilde genç ve yaşlı hücrelerde farklı bulunmuş ve yaşla asetilkarnitin içeriğinin azaldığı buna uygun şekilde serbest karnitin arttığı görülmüştür.<sup>188</sup>

Palmitoilkarnitin ; kalp, beyin, epidermis gibi dokularda protein kinaz C'yi inhibe eder.<sup>103,135</sup> Protein kinaz C hücre içi regülasyonda önemli bir role ve hücre proliferasyon fenomeninde direkt etkiye sahiptir. Bu nedenle beyin metabolizmasının düzenlenmesinde önemli bir rol oynayabilir.<sup>135</sup> Varsayılan bu inhibisyon, melanom hücre proliferasyonunun inhibisyonu veya rat karaciğer epitelindeki gup junctionlarla olan intrasellüler iletişimin engellenmesi gibi başka biyolojik etkilere de yol açar.<sup>102</sup>

Bunun yanında karnitin farklı açıl türevlerinin beyindeki total RNA düzeylerini düşürdüğü gösterilmiştir.<sup>3</sup> Ayrıca çoğalan hücrelerde hücre siklusunu etkilemekte ve gen ekspresyonunda dramatik değişikliğe neden olmaktadır.<sup>174</sup>

Karnitin ve karnitin esterleri, serbest radikal oluşmasını inhibe ederek ve okside membran fosfolipidlerinin onarımına yardımcı olarak hücreleri oksidatif hasardan korumaktadır.<sup>14,144</sup> Bu süreç, beyin de dahil olmak üzere birçok hücre tipinde görülebilir.

Serebral hipokside karnitin güçlü nörotrofik etkili olduğu gösterilmiştir.

Apoptozis gelişimini inhibe ederek, hasarlı alanları sınırladığı ve sinir dokusunun yapısını yenilediği görülmüştür.<sup>115</sup>

### 2.1.5. Karnitin ve Karsinogenezis

Hücre transformasyonunun tetiklediği veya kendisi karsinogenezisi tetikleyebilen hücrel metabolik yol anormallikleri ile ilgili çalışmalar giderek artmaktadır. Birçok çalışmada elde edilen sonuçlar kanserin metabolizma artışına yol açtığını göstermektedir:

1. Artmış glikoliz hızı<sup>81</sup>
2. Artmış glukoz transport oranı<sup>52</sup>
3. Artmış glukoneogenezis<sup>124</sup>
4. Laktik asit üretiminin artması ile piruvat oksidasyonunun azalması<sup>131</sup>
5. Artmış glutaminolitik enzim aktiviteleri<sup>71</sup>
6. Azalmış yağ asidi oksidasyonu<sup>141</sup>
7. Artmış gliserol ve yağ asidi dönüşümü<sup>170</sup>
8. Azalmış gliserol 3-fosfat mekiği ve malat-aspartat mekiği aktiviteleri<sup>131</sup>
9. Modifiye protein ve aminoasit metabolizması<sup>172</sup>
10. Artmış pentoz fosfat enzim aktiviteleri<sup>26</sup>

Enerji homeostazisinde büyük rolü olan yağ asidi transport mekanizmasının neoplastik hücrelerin oluşumundaki etkileri henüz tam açıklanamamıştır. Karnitin ve karnitin esterleri, çeşitli spesifik hücre içi enzimler ve membran taşıyıcılarından oluşan karnitin sistemi hücre içi kısa, orta ve uzun zincirli yağ asit trafiğinde önemli rol oynar. Karnitin sisteminin, kansere eşlik eden dismetabolik sendroma neden olduğu veya daha kötüleştirdiği öne sürülmüştür.<sup>39</sup> Karnitin sistemi farklı deneysel ve klinik modellerde çalışılmıştır. Karnitin sisteminin komponentlerinin modülasyon ve ekspresyonundaki

anormallikler çeşitli tümör tiplerinde farklı şekilde ortaya çıkmaktadır.

Kanser hastalarında karnitin sentezinin arttığını düşündürecek yeterli veri mevcut değildir. Ama karnitin transportunun artmış olduğu düşünülmektedir. Melanoma G361, akciğer karsinoma A549, Kolorektal karsinoma SW480, kronik myelojen lösemi KS62 ve serviks karsinoma HeLa S3 gibi kanser hücrelerinde Na-bağımlı yüksek affiniteli insan karnitin taşıyıcısı OCTN2'nin daha fazla eksprese olduğu gösterilmiştir.<sup>178</sup>

Kanser hastalarında özellikle de ilerlemiş akciğer ve meme kanseri olan hastalarda serum açıl karnitin konsantrasyonlarında azalma aynı zamanda açıl karnitin renal klirensinde artış olduğu tespit edilmiştir.<sup>165</sup>

Hipofiz tümör Mt T-F4 ü olan ratlarda yapılan çalışmalarda karaciğer ve kalp dokusunda ölçülen total karnitin konsantrasyonunun tümörü olmayan ratlara göre daha yüksek olduğu bulunmuştur. Buna karşılık nonesterifiye karnitin konsantrasyonun ise belirgin olarak düşük olduğu gözlenmiştir.<sup>146</sup>

Palmitoilkarnitin, protein kinaz C ile etkileşiminin sonucuna bağlı olarak melanoma proliferasyonunda inhibitör etkisi olduğu gözlenmiştir. Palmitoilkarnitin düşük konsantrasyonları, kültürdeki nöroblastoma NB-2a hücrelerinin hızlı farklılaşmasına yol açmaktadır. Ayrıca palmitoilkarnitin verilmesinin melanoma ve nöroblastomanın proliferasyonunu inhibe ettiği bildirilmiştir.<sup>184</sup> Palmitoilkarnitin beyin tümör hücreleri üzerine potansiyel etkisinin oluşu, bu konuyla ilgili klinik yaklaşımların araştırılması gerekliliğini ortaya koymaktadır.

### 2.1.6. Karnitin Ölçümü <sup>60</sup>

Karnitin ve esterlerinin, radyoimmünassay ile veya fotometrik olarak enzimatik metodlarla tayini mümkündür. Özellikle kas, serum ve idrar düzeylerinin yaşa ve cinse göre değiştiği yenidoğan döneminde en düşük düzeyde olduğu gösterilmiştir.

Karnitin miktarı ölçüleceği zaman, karnitin havuzunun durumunun doğru olarak değerlendirilebilmesi için karnitin ve açilkarnitin birbirinden ayrılmalıdır. Bunun için çeşitli metodlar uygulanmaktadır. En sık kullanılanı perklorik asitle ayırmadır. Perklorik asitle deproteinize edilen biyolojik numunelerin santrifujlenmesiyle total karnitin miktarı, asit solubl ve asit insolubl fraksiyonlara ayrılır. Serbest ve kısa zincirli karnitinler asit solublurlar. Uzun zincirli karnitin ise proteinlerle beraber çöker yani asit insolubldur.

Karnitin ölçümü aşağıdaki reaksiyona dayanır:



Bu reaksiyon karnitin asetil transferaz tarafından katalizlenir. Karnitin ve asetilkarnitin için enzimatik yöntemler serbest KoA (KoASH) ve asetil KoA için CAT aktivitesiyle birlikte birkaç ölçüm sistemini içerir.

Yukarıdaki reaksiyonda CAT ve aşırı asetil KoA içeren sisteme karnitinin eklenmesi sitokiyometrik miktarda KoASH oluşumuna neden olmaktadır ve sistemde KoASH'nun irreversibl herhangi bir ölçümle eşleşmesi L-karnitin ölçümünü sağlamaktadır. Bunlar:<sup>60</sup>

#### ➤ Fotometrik metodlar

- ◆ Disülfid ile reaksiyon
- ◆ Sorboil CoA oluşumu
- ◆ BIPM (N-p-(2 benzimidazolyl)-phenyl)-maleimide) ile fluorometrik ölçüm

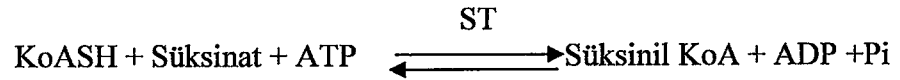
➤ Enzimatik metodlar

- ◆  $\alpha$  Ketoglutarat dehidrogenaz



Bu reaksiyon CAT ile katalize edilen reaksiyonda üretilen KoASH miktarını tayin etmek için kullanılır.

- ◆ Süksinat tiokinaz



➤ Radyoenzimatik yöntem

➤ Karnitin esterlerinin identifikasyonu ve kantitatif ölçümleri

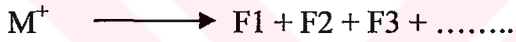
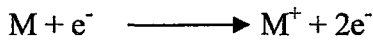
- ◆ Gas kromatografi
- ◆ HPLC
- ◆ Kütle spektrometri

### 2.1.7. Kütle Spektrometri (Mass Spektrometri : MS)

Özel bir düzenek kullanılarak pozitif yüklü parçacıklar meydana getirilmesi, bu parçacıkların kütle/değerlik (m/z) oranlarına göre ayrılmaları, belirlenmeleri ve bunlardan yararlanılarak numunenin teşhis edilmesi üzerine kurulmuş olan metodlar topluluğuna **kütle spektrometrisi** denir. Kütle spektrometrisi, yapısı belli olan maddeleri teşhis etmek

amacıyla kullanıldığı gibi, yapısı belli olmayan yeni maddelerin yapısını aydınlatmak amacıyla da kullanılabilir.<sup>7</sup>

Kütle spektrometrisi yüklü partiküllerin, manyetik ya da elektriksel bir alandan geçerken diğer yüklü partiküllerden m/z oranlarına göre ayrılmaları prensibine dayanır. Moleküller yüksüz olduklarından, kütle spektrometrisinde (MS) öncelikle iyonizasyonla yüklü partiküllere dönüştürülürler. Yüklü partiküller kararlı değildirler ve diğer moleküllerle veya bir yüzey ile temas ettikleri zaman fragmentlerine parçalanır ve yüklerini kaybederler.



M: Molekül

M<sup>+</sup> : Moleküler iyon

F: Fragment

Oluşan her bir iyon spesifik bir moleküler kütle ve yüke sahiptir ve m/z değerlerinin yoğunluğa karşı gösterdiği bir spektrum ile bileşik tanımlanmaktadır. Her bir iyonun yoğunluğu dedektöre ulaşan miktarı ile orantılıdır ve her bileşiğin spektrumu kendine özeldir. Bilinmeyen bir örneğin analizi sonucu elde edilen spektrum referans spektrumu ile karşılaştırılarak tanımlanır.<sup>7,118</sup>

Evrensel bir MS yoktur.Çeşitli dizaynlar ve konfigürasyonlar analiz tiplerine göre ayarlanmıştır. MS in diğer aletlerle kullanılması son zamanlarda yaygınlaşmıştır. Sıvı Kromatografisi-MS (LC-MS), gaz Kromatografi-MS (GC-MS), iki ya da üç kütle analizörünün bir araya gelerek oluşturduğu tandem kütle spektrofotometer analizlerde sıklıkla kullanılmaktadır.

Fonksiyonel olarak tüm MS ler üç esas fonksiyonu gerçekleştirirler:

1. Numuneden gaz halinde iyon fragmentlerini oluşturmak
2. İyonları m/z oranlarına göre ayırmak
3. Her kütledeki iyon fragmentlerinin bulunabilirliğini ölçmek

Kütle spektrometrisi Atomik kütle spektrometri ve moleküler kütle spektrometri olarak ikiye ayrılır. Atomik kütle spektrometri ile maddelerin elemental kompozisyonları belirlenebilir. Moleküler kütle spektrometrisi ile de inorganik, organik ve biyolojik molekülleri yapıları; kompleks karışımların kalitatif ve kantitatif kompozisyonları belirlenebilir. İyonizasyon metodlarının çeşitliliği nedeniyle polipeptidlerin, proteinlerin ve yüksek molekül ağırlıklı biyomoleküllerin analizinde moleküler kütle spektrometrisi kullanılmaktadır.

Genel olarak kütle spektrofotometresi şu kısımlardan meydana gelir:

- Numune enjeksiyon yeri (İnlet)
- İyonizasyon kaynağı
- İyonları hızlandırma kısmı
- Kütle analizörü
- Dedektör
- Vakum sistemi

*Numune girişi*, cihazın en önemli kısımlarından birisidir. Bu kısımda basınç çok düşük, sıcaklık yeterince yüksek olduğundan moleküler yapıları tüm bileşikler buhar haline gelebilmektedir.

*İyonizasyon kaynağında*, iyonizasyon metodları, gaz faz iyonizasyon teknikleri ve desorbsiyon teknikleri olmak üzere ikiye ayrılır. Gaz faz iyonizasyon teknikleri, uçucu olan

ya da spesifik kantitatif derivatizasyon prosedürleriyle uçucu hale getirilen maddelere uygulanır. Desorpsiyon teknikleri, katı ya da sıvı fazdaki numuneyi iyon kaynağında direk olarak gaz halindeki iyonlara dönüştürürler.

<b><u>İyon Kaynağının Tipi</u></b>	<b><u>İyon Kaynağının İsmi</u></b>	<b><u>İyonlaştırıcı Ajan</u></b>
Gaz Faz Teknikleri	Elektron İmpact (EI)	Yüksek enerjili elektronlar
	Kimyasal İyonizasyon (CI)	Reaktif gaz iyonları
	Alan İyonizasyonu	Yüksek potansiyelli elektrod
Desorpsiyon Teknikleri	Alan Desorbsiyon Kaynağı	Yüksek potansiyelli elektrod
	Hızlı Atom Bombardıman Kaynağı (FAB)	Atomik enerji
	Elektrospray İyonizasyon (ESI)	Yüksek elektrik alanı
	Termospray İyonizasyon (TS)	Yüksek ısı
	Matriks Destekli Desorbsiyon/ İyonizasyon (MALDI)	Laser kaynağı

Gaz faz iyon kaynaklarından EI<sup>107</sup> ve CI<sup>65</sup> teknikleri en sık kullanılanlardır. Desorpsiyon tipi iyon kaynaklarından; FAB polar ve çok yüksek molekül ağırlıklı moleküllerin analizinde kullanılmaktadır<sup>57</sup>, ESI iyon kaynaklarının kullanımı oldukça yaygındır ve polipeptitlerin, proteinlerin ve oligonükleotidlerin analizinde sıklıkla kullanılmaktadır.<sup>133</sup> MALDI yeni bir iyonizasyon yöntemidir ve özellikle peptitlerin analizinde kullanılmaktadır.<sup>106</sup>

İyonlaştırma kısmında meydana gelen iyonlar, *iyonları hızlandırma kısmına* geçip düzenli bir hale gelirler.

İyon kaynağında oluşan farklı m/z oranına sahip iyonlar *kütle analizörü* tarafından ayırt edilerek dedektöre gönderilirler. Kütle analizörleri; “Manyetik Sektör Analizörler”, “Quadrupol Analizörler (Q, Elektriksel ayırım)”, Uçuş zamanlı Analizörler (Time of flight, TOF), “İyon Kapanları (Ion traps)” olmak üzere dörde ayrılır.

İyon yolunda tek bir kütle analizörü yer alabildiği gibi birden fazla kütle analizörü ve bunlar arasında da bir çarpışma odası (collision chamber) yer alabilmektedir. Birinci kütle analizöründe seçilen ana iyon (parent) “collision chamber” da argon gibi inert bir gaz etkisiyle fragmentlerine ayrıştırılmakta (yavru iyon, daughter ion) ve bu fragmentler tekrar ikinci kütle analizörde analizlenmektedir.

#### **2.1.7.1. Ardışık Kütle Spektrometresi (Tandem Mass Spectrometry, TMS)**

Kompleks organik ve biyolojik karışımlar önceleri gaz kromatografisi ya da sıvı kromatografisi ve kütle spektrometrisinin kombine olmasıyla analiz ediliyordu. Daha sonra geliştirilen TMS, GC/MS ve LC/MS ile analiz açısından aynı avantajlara sahip olmasının yanında daha hızlıdır. Kromatografik kolonda ayırım saatler sürebilirken, TMS ile dakikalar hatta saniyeler içinde bitmektedir. Ayrıca TMS; örnek başına maliyeti düşürmekte, kompleks karışımlarda dedeksiyon limitlerini arttırmakta, çoğunlukla ön işleme gerek kalmadan kompleks karışımların hızlı, hassas ve selektif olarak analizini yapmaktadır.

TMS, iki veya daha fazla MS'nin ard arda (tandem) bağlanmasıyla oluşur. TMS de karışım birinci MS'nin iyon kaynağına verilir. Burada karışımın iyonizasyonu bileşiğin kendine has karakteristik iyonlarının oluşmasını sağlar, bunlara “parent” iyonlar denir. Bilinmeyen örneğin karakteristik “parent” iyonu böylelikle seçilir ve tanımlanır. Bu incelenecek olan bileşiği karışımı diğer bileşenlerinden ayırır ve GC-MS deki

kromatografik ayrıştırma basamağı gibi düşünülebilir. Böylece ayrılmış olan “parent” iyon ikinci MS analizöre gönderilir ve burada ikincil iyon fragmentlerine ayrışır. Bunlara “daughter” iyon denir. Bunun da GC-MS deki MS aşamasındaki iyonizasyon basamağına karşılık geldiği düşünülür. “Daughter” iyonun ikinci MS analizör tarafından kütle analizi incelenen “parent” iyonun kendine has ve oldukça yüksek spesifiklikte tanımlanmasını sağlar.<sup>118</sup>

Günümüzde TMS nin en yaygın kullanımı metabolik hastalıkların tanısı olmakla birlikte artık proteinler, lipidler, karbonhidratlar ve DNA analizi gibi birçok bileşiğin analizinde kullanılmakta ve bunlara sürekli yenileri eklenmektedir. TMS ile yapılan açilkarnitin ve aminoasit analizi ile metabolik hastalıkların tanımlanması son derece önemlidir. Ülkemizde ve dünyanın birçok ülkesinde TMS ile yenidoğan tarama programları sürdürülmektedir. ESI-TMS ile lizozomal enzimlerin, sülfat ve glukronidlerin tayini de yapılmaktadır. İlaç endüstrisinde de kütle spektrometrisi sıklıkla kullanılmaktadır

## 2.2. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller

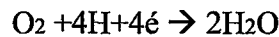
Aerobik yaşam için oksijen gerekli olsa da aynı zamanda oksijen; membranlara, proteinlere ve nükleik asitlere hasar verebilen serbest oksijen radikalleri ve Fe gibi geçiş metallerini içeren toksik reaksiyonlarda rol alabilir.<sup>75</sup> Serbest oksijen radikallerin oluşturduğu pro-oksidan maddeler ile bu moleküllere karşı koruyucu olarak bulunan antioksidan aktivite arasında bir denge söz konusudur. Fakat aşırı miktarda serbest oksijen radikallerinin üretilmesi veya koruma mekanizmalarının bozulması durumunda bu denge de bozular. Bu dengenin pro-oksidan yapılar lehine bozulması “oksidatif stres” olarak tanımlanmaktadır.<sup>49</sup> Oksidatif stres yaşlanma, karsinogenezis ve inme gibi birçok patolojide önemli bir role sahiptir.<sup>75</sup>

### 2.2.1. Serbest Oksijen Radikalleri:

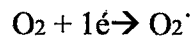
Dış yörüngelerinde bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron bulunduran atom veya moleküllere serbest radikaller adı verilir. Serbest radikaller ortaklanmamış elektronları nedeniyle yarım ya da açık bağa sahip olmalarından dolayı oldukça reaktiftirler. Serbest radikaller daha stabil bir tür oluşturmak amacıyla bu elektron veya elektronları eşleştirmek için diğer moleküllerle reaksiyona girme eğilimindedirler.

Oksijen atomu, toplam sekiz elektron içermektedir. Bunlardan iki tanesi dış yörüngede eşleşmemiş olarak bulunur. Oksijenin bu özelliği diğer serbest radikallerle kolayca reaksiyona girmesini sağlar. Moleküler oksijenin toksik etki göstermesi meydana getirdiği  $O_2^-$  (süperoksit anyonu) ,  $H_2O_2$  (hidrojen peroksit),  $OH^-$  (hidroksil radikali),  $^1O_2$  (singlet oksijen) ve  $HOCl$  (hipokloröz asit) gibi reaktif ürünler nedeniyledir. Biyolojik sistemlerde oksijen metabolizması sonucu oluşan bu ürünlere reaktif oksijen türleri denilmektedir. Reaktif oksijen türleri sürekli olarak normal hücre metabolizması sırasında özellikle UV ve iyonik radyasyona maruz kalma, inflamasyon, ilaçlar ve çeşitli ksenobiyotiklerin biyotransformasyonu, yağ asitlerinin peroksizomlarda degradasyonu, virüs veya bakteri ile enfekte hücrelerin fagositozu gibi ekstrasellüler olayların sonucu olarak mitokondriyal respirasyon süreci sırasında *invivo* olarak üretilir.<sup>6,23</sup>

Fizyolojik durumlarda oksijenin %98'i, mitokondriyal respiratuar zincirde aerobik ATP üretimi sırasında mitokondride bulunan "sitokrom oksidaz" tarafından indirgenir ve 4 elektron alarak suya dönüşür. Bununla beraber %1-2 si  $O_2^-$  oluşturmak için kullanılır.<sup>44</sup>



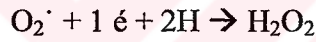
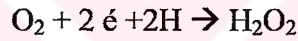
*Süperoksit radikali ( $O_2^-$ )*, oksijenin tek bir elektron alarak indirgenmesi ile oluşan kararsız bir yapıdır.<sup>45</sup>



$O_2^-$  mitokondriyal elektron transfer zinciri sırasında oksijenin otooksidasyonu sonucu oluşur. Ayrıca, sitozolde Ksantin oksidaz, NADPH oksidaz ve Sit P<sub>450</sub> tarafından da oluşturulur. Makrofajlar ve polimorfonükleer lökositler (PMNL) tarafından gerçekleştirilen fagositoz sırasında oksijenin tüketimi artar, bu da plazma membranında bulunan NADPH oksidaz tarafından  $O_2^-$  oluşumunu tetikler.<sup>22</sup>

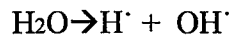
$O_2^-$  çeşitli organik ve inorganik bileşiklerle de reaksiyona girebilir. Nitrik Oksit ile reaksiyona girip peroksinitriti oluşturması da organizma için önemlidir.

$O_2^-$  lipid membranları geçemediği için kimyasal reaktivitesi zayıftır ve hızlıca süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile *hidrojen peroksit* ( $H_2O_2$ )'e dönüştürülür. Oksijenin 2'e alıp redüklenmesi veya  $O_2^-$ 'e 1'e ilave edilmesi sonucu  $H_2O_2$  oluşur.<sup>27</sup>



$H_2O_2$  bir serbest radikal olmamasına karşın yüksüz bir molekül olduğundan hücre içine rahatlıkla girebilir.  $H_2O_2$  özellikle Fe ve Cu gibi geçiş metal iyonlarının varlığında kolaylıkla yıkılır. Bu yıkım sonucu en reaktif radikal olan  $OH^-$  oluşur.<sup>45</sup>

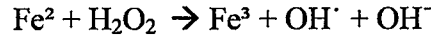
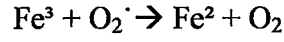
*Hidroksil Radikali* ( $OH^-$ )'nin, yarılanma ömrü çok kısadır. Ancak çok güçlü bir oksidan olduğundan kuvvetli hasarlar oluşturur.  $OH^-$  iyonize radyasyon ile suyun hidrolizi sırasında oluşabilir.<sup>45</sup>



Oldukça reaktif bir radikal olup, tüm biyolojik substratlarla reaksiyona girebilme yeteneğindedir ve oluştuğu yerde büyük hasara neden olur. Bu hasarı başlıca üç yolla oluşturur:

- 1- Protein ve lipidler arası çapraz bağlar oluşturma
- 2- Proton çıkarma
- 3- Elektron transferi

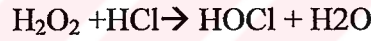
Toksik OH<sup>·</sup> oluşumunda demir, bakır gibi bazı metal iyonları da rol alabilir. Fe<sup>3+</sup> ün O<sub>2</sub><sup>·</sup> ile indirgenmesiyle oluşan Fe<sup>2+</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile reaksiyona girerek OH<sup>·</sup> ni meydana getirebilir. Bu reaksiyon “Fenton Reaksiyonu” olarak adlandırılır.



Demir tarafından katalizlenen diğer bir reaksiyon da “Haber Weis” reaksiyonudur. Bu reaksiyon sonucunda da OH<sup>·</sup> oluşur.<sup>22,45</sup>



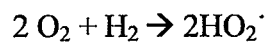
*Hipoklorik Asit (HOCl)*, PMNL tarafından oluşturulan güçlü bir oksidandır.



Bu reaksiyon sitoplazmada bulunan myeloperoksidaz enzimi tarafından katalizlenir.

*Singlet oksijen (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>)*, yapısında ortaklanmamış elektron bulundurmaması sebebiyle serbest oksijen radikali olmayıp reaktif oksijen türleri grubunda yer alan bir moleküldür. <sup>1</sup>O<sub>2</sub> serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına neden olması açısından önem taşımaktadır. <sup>1</sup>O<sub>2</sub>, oksijenin elektronlarının dışardan enerji alması sonucu kendi dönüş yönünün ters yönünde olan farklı bir yörüngeye yer değiştirmesi ile oluşabileceği gibi, O<sub>2</sub><sup>·</sup> radikalinin dismutasyonu ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin HOCl ile reaksiyonu sonucunda da oluşabilir.<sup>90</sup>

O<sub>2</sub><sup>·</sup> düşük pH da daha reaktif olup protonlanarak kendisinden daha kuvvetli bir oksidan olan *perhidroksil radikalini (HO<sub>2</sub>)* oluşturur.<sup>45</sup>



ROS, hücre büyümesini düzenleyen sinyal yollarında ve hücre redoks durumunun kontrolü gibi fizyolojik olaylarda kullanılır. Aşırı üretildiklerinde ise zararlı etkilere neden olurlar ve lipidler, proteinler veya DNA gibi hücre makromoleküllerinin hasarına neden olabilirler. Bunlar arasında özellikle lipidlerin peroksidasyonu daha zararlıdır. Çünkü lipid peroksidasyonu serbest radikal reaksiyonlarının kolay yayılmasına yol açar. Oksidatif stresi arttıran bu yayılımın; karsinogeneze, nörodejeneratif hastalıklara, yaşlılıkla beraber gelişen dejeneratif hastalıklara, ateroskleroza ve inflamatuvar hastalıklara neden olduğu bildirilmiştir.<sup>24,92</sup>

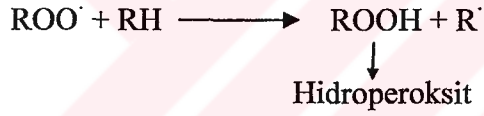
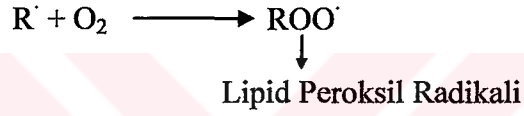
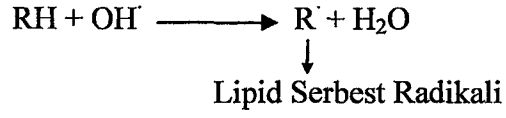
ROS, yüksek intrasellüler düzeylerde hücre ölümünü indüklerken düşük intrasellüler düzeylerde direkt veya indirekt hücre sinyalizasyonuna katılırlar. ROS'lar için intrasellüler hedefler kinazlar ( tirozin kinaz, MAP kinaz), fosfatazlar ( tirozin fosfataz, serin/treonin protein fosfataz) ve transkripsiyon faktörleridir. (NF-kB ve AP-1). ROS tarafından hücre sinyalizasyonu faydalı etkilerle sonuçlanır. Örneğin, çeşitli organların iskemi/reperfüzyonu (I/R) sonrasında oksidan stresin indüksiyonu, 24 saat sonra ikinci defa uygulanan I/R'nin zararlı etkilerine karşı hedef organları daha dirençli hale getirdiği bildirilmiştir.<sup>161</sup>

### **2.2.2. Serbest Radikallerle Oluşan Lipid Peroksidasyonu**

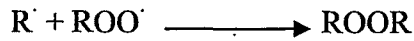
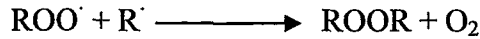
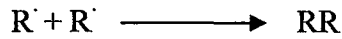
Serbest radikallerin etkilediği en önemli grup lipid peroksidasyonuna neden olan hücre membranındaki poliansature lipidlerdir. Hücre membranındaki yağ asidlerinin çift bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek lipid peroksidasyon ürünlerini oluştururlar.<sup>22,45</sup>

Lipid peroksidasyonu, ışık ve metal iyonlarının da etkisiyle. Hidroksil radikalının lipid molekülünden bir hidrojen iyonu uzaklaştırmasıyla başlar.<sup>93</sup> Oluşan lipid radikali dayanıksız bir bileşiktir ve bir dizi değişikliğe uğrar. Moleküler oksijen ile birleşen lipid

radikali ( $R'$ ), peroksil radikali ( $ROO'$ ) 'ni oluşturur.  $ROO'$ , membran yapısındaki diğer poliansatüre yağ asitlerini etkileyerek yeni  $R'$  oluşumuna neden olur. Bu sırada kendileri de, açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid hidroperoksit ( $ROOH'$ )'e dönüşür. Böylece olay kendi kendine katalizlenerek devam eder.



Lipid peroksidasyonu, iki serbest radikalin birleşerek radikal oluşturmayan bir bileşik oluşturması ile sonlanabilir.



Lipid peroksitlerinin yıkımı, geçiş metalleri iyon katalizini gerektirir. Lipid hidroperoksitleri yıkıldığında çoğu biyolojik olarak aktif olan aldehitler oluşur. Bu bileşikler ya hücre düzeyinde metabolize edilirler veya başlangıçtaki etki alanlarından diffüze olup

hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar. Lipid peroksidasyonu zararlı bir zincir reaksiyonudur. Direkt membran yapısına, indirek olarak da reaktif aldehitler üreterek diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Üç veya daha fazla çift bağ taşıyan yağ asitlerinin peroksidasyonunda, lipid hidroperoksitlerinin yıkımı ile Malondialdehit (MDA) oluşur. MDA, membran komponentlerinin çapraz bağlanmasına ve polimerizasyonuna neden olur. Membran permeabilitesi ve mikroviskositesi ciddi şekilde etkilenir. Bu da deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özelliklerini değiştirir. Bu etkiler MDA'nın niçin mutajenik, genotoksik ve karsinojenik olduğunu açıklar.<sup>2</sup> Lipid peroksidasyonu dercesinin anlaşılmasında MDA iyi bir parametredir.<sup>51</sup>

### 2.2.3. Antioksidan Sistemler

Lipid peroksidasyonunun oluşum hızı “Antioksidanlar” la engellenmektedir. Endojen ve eksojen olmak üzere iki şekilde bulunan antioksidanlar; peroksit radikalleri ile reaksiyona girerek yağ asitlerinden hidrojen çıkarılmasını engellemek, peroksitleri radikal olmayan ürünlere çevirmek, metal iyonlarını bağlayarak lipid peroksidasyonuna katılımlarını engellemek ve lokalize oksijen konsantrasyonlarını azaltmak suretiyle, oksidasyon sürecinin herhangi bir aşamasında devreye girerler. Antioksidanlar etki mekanizmalarına göre 4 gruba ayrılırlar:<sup>30</sup>

#### 1. Süpürücü etki gösterenler:

Oluşturdukları etki ile yeni radikal oluşumunu engeller ve oluşmuş olan radikalleri daha az zararlı hale getirirler. Süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, ferritin ve seruloplazmin gibi metal bağlayıcı proteinler bu tür etkiye örnektir.

## 2. Giderici etki gösterenler:

Oksidan ile etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini inhibe eden bileşiklerdir.  $\beta$  karoten, vitamin C ve vitamin E bu tür etkiye örnektir.

## 3. Zincir kırıcı etki gösterenler:

Bu tip aktivite gösteren antioksidanlar, zincirleme olarak devam eden reaksiyonları belli yerlerinde kırarak, oksidan etkiyi durdururlar. Bunlara örnek olarak, ürik asit, bilirubin ve albumin verilebilir.

## 4. Onarıcı etki gösterenler:

Bu grupta DNA tamir enzimleri ve metiyonin sülfoksit redüktaz sayılabilir.

Endojen ve eksojen olarak bulunan bu antioksidan sistemler enzimatik ve nonenzimatik olarak da sınıflandırılabilirler.<sup>30</sup>

### Enzimatik yapıda olan önemli bazı endojen antioksidanlar:

*Süperoksit Dismutaz (SOD)*: 2 molekül  $O_2^{\cdot -}$ 'nin, 2 molekül proton ile reaksiyonunu katalizleyerek, onları  $H_2O_2$ 'e dönüştürür. Sitozolik SOD'un ve vasküler endotele bağlı olarak bulunan ekstrasellüler SOD'un kofaktörleri bakır ve çinko'dur. Bu enzimlerin aktivitesinden bakır, stabilitesinden ise çinko sorumludur. Mitokondrial SOD'un kofaktörü ise mangandır.

*Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)*: Aktif merkezinde selenosistein bulunan GSH-Px, substrat olarak GSH'ı kullanır ve  $H_2O_2$ 'yi suya redükte eder.

*Katalaz (CAT)*:  $H_2O_2$ 'in oksijen ve suya redüksiyonunu sağlar. Özellikle yüksek konsantrasyonlardaki  $H_2O_2$ 'ye daha fazla etkilidir. Katalaz, GSH-Px'den farklı olarak organik hidroperoksitlere etki etmez.<sup>78</sup>

*Fosfolipid-Hidroperoksit Glutasyon Peroksidaz (PH-GPx):* Lipid peroksidasyonuna karşı korunmada önemlidir. GPx ailesinin bir üyesidir ve primer görevi oluşan lipid peroksitlerini uzaklaştırmaktır. PH-GPx, GSH'ı kullanarak membranlarda fosfolipid hidroperoksitlerini metabolize eder.<sup>50</sup>

#### Nonenzimatik Yapıda Olan Antioksidanlar:

Ekzojen kaynaklı nonenzimatik antioksidanlar:  $\beta$ -karoten, vitamin C ve vitamin E gibi moleküllerdir.

Endojen kaynaklı nonenzimatik antioksidanlar: Hemoglobin, ferritin, miyoglobin, ürik asit, bilirubin, laktoferrin, transferrin, melatonin, askorbik asit, albumin ve glutasyon gibi moleküllerdir.<sup>2</sup>

*Glutasyon:* Hücre içi tioller arasında en sık bulunanıdır. Tripeptit (L-glutamil-L-sisteinil glisin) bir yapıya sahiptir.

Biyolojik sistemlerde direkt ve indirekt fonksiyonları vardır.<sup>132</sup> GSH homeostazisi tiol/disülfid dengesinin korunmasında önemlidir. Glutasyonun okside formu olan GSSG, GSH'dan "glutasyon peroksidaz" ile oluşur. Normalde organizmada GSSG redüktaz, NADP/NADPH ile çiftleşmiş bir sistem oluşturur. Bu sistem ile GSSG, GSH'a göre çok düşük düzeylerini korur. Pek çok hücrede NADPH 'ın major kaynağı pentoz-fosfat yoludur. NADPH'ın ortamda az olması GSSG'yi artırır, GSH'u düşürür. Bu da oksidanlara maruz kalan hücrelerde irreversibl hasara eğilimi artırır.<sup>132</sup> GSH, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 'yi redükleyerek radikal oluşumundaki başlangıç reaksiyonunu engeller.

#### 2.2.4. Serbest Radikaller ve Karsinogenezis

Membran lipid peroksidasyonu membran yapısında değişikliklere yol açar. Bu değişiklikler sonucunda çok daha rijit (sert) bir membran oluşur. Bu da Na/K-ATPaz gibi membran proteinlerinin aktivitelerinde değişikliklere neden olur. Bu önemli fizyolojik sonuçlar membranın iyon pompalama hızında da değişikliklere yol açar. Lipid peroksidasyonunun ürünleri olan malondialdehit ve 4-hidroksinonenal (4-HNE) patolojik durumların gelişiminde anahtar role sahip biyomoleküllerle reaksiyona girerler. Örneğin, MDA gibi birçok aldehit nükleik asitlerle reaksiyona girer.<sup>21</sup> Bu da mutagenез ve karsinogenezis ile sonuçlanabilir. 4-HNE zayıf mutajeniktir ama lipid peroksidasyonunu en toksik ürün olarak ortaya çıkar. 4-HNE; hücre döngüsünün kontrolünde<sup>69</sup>, Alzheimer hastalığının oksidatif değişikliklerinde<sup>105</sup>, etano DNA bazı ürünlerinin oluşumunda<sup>134</sup> rol alır ve hepatokarsinomada p53 mutasyonuna neden olduğu bildirilen bir mutojendir.<sup>97</sup> 4-HNE'nin konsantrasyon bağımlı bir şekilde sinyal mekanizmalarını etkilediği gösterilmiştir. Düşük düzeyleri proliferasyonu devam ettirirken, yüksek düzeyleri ise hücre farklılaşması ve apoptozisi uyandır.<sup>46,62</sup>

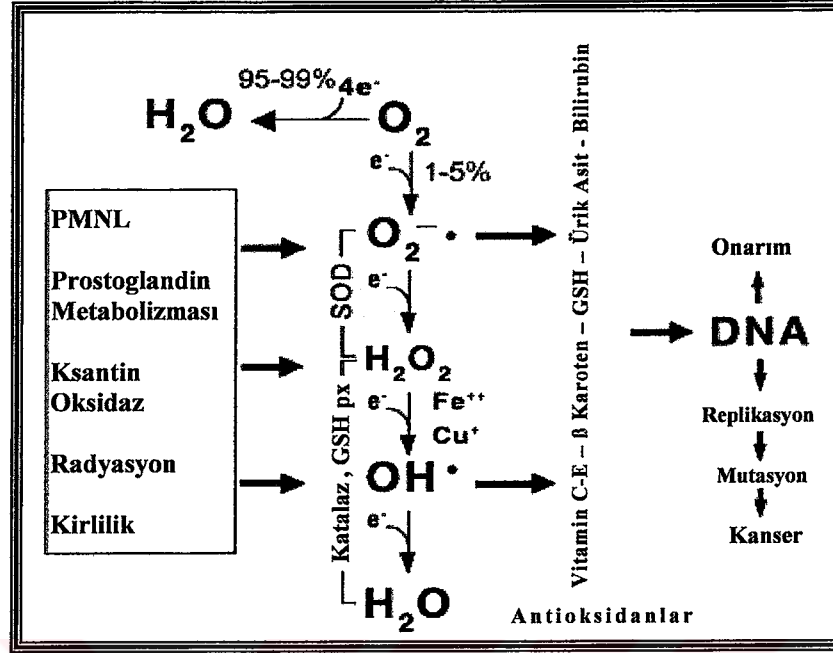
Bununla beraber karsinojene maruz kalma gibi bazı patolojik durumlar mitokondride respiratuvar zincir ile etkileşir ve ROS üretiminin artmasıyla sonuçlanır. ROS üretimindeki bu artışlarda, mitokondri iç membranına bağımlı mitokondriyal DNA (mtDNA); histon proteinlerinin olmamasından, onarıcı mekanizmalarının zayıf olmasından ve elektron transport zincirinden yakınlığından dolayı özellikle oksidatif stresse maruz kalır.<sup>192</sup> mtDNA'nın hasarı mitokondriyal respiratuvar zincirin disfonksiyonuna ve yeniden ROS salınımında bir artışa neden olur. mtDNA, oksidatif fosforilasyon için gerekli olan esansiyel proteinleri kodlar<sup>111</sup> ve bunun hasarı kaskad reaksiyonlar ve pozitif bir amplifikasyon loop ile ilişkilidir.

Bu bakımdan birçok çalışma, karsinogenezde mtDNA'nın mutasyon sıklığının yüksek olduğunu bildirir.<sup>72,160</sup>

Artmış ROS üretimi nitrik oksid (NO) ile de etkileşir ve peroksinitrit anyonu (ONOO<sup>-</sup>) oluşturur. Bu oksijen radikali lipid peroksidasyonuna neden olamada oldukça reaktiftir ve proteinlere, DNA'ya zarar verme potansiyeli vardır. Peroksinitrit anyonu proteinlerin nitrolizasyonuna neden olur ve NF-KB, AP-1, p53, kaspas gibi hücre proliferasyonu ve apoptoziste yer alan birçok önemli sinyalizasyon moleküllerinin fonksiyonunu değiştirir.<sup>193</sup>

Karsinogenezde DNA, ROS'un en önemli hedeflerinden birisidir<sup>4,48,70</sup> (Şekil 8). Serbest oksijen radikalleri çok sayıda farklı lezyona yol açacak şekilde nükleik asitlere zarar verirler. Lezyon tipleri iplik kırıkları ve baz modifikasyonları şeklinde gruplandırılır.<sup>73</sup> Ksantin/ksantin oksidaz sisteminden üretilen süperoksit radikali DNA iplik kırıklarına neden olur.<sup>31</sup> Serbest hidroksil radikalleri de hızlı bir şekilde nükleik asitlerle reaksiyona girerler. İplik kırıkları, serbest hidroksil radikallerinin DNA'nın şeker kısmına özellikle de makromolekülün 3' ve 4' karbonlarına hasar vermesiyle oluşur.<sup>73</sup> İplik kırıkları, patolojik durumların gelişmesinde önemli bir role sahiptirler. Bu nedenle hücre fonksiyonlarının yerine getirilmesi için onarılmaları gerekmektedir.

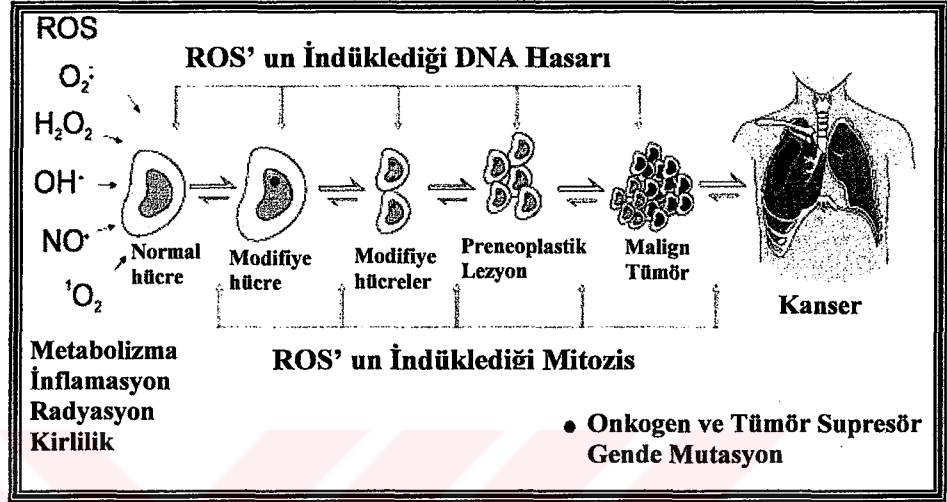
Serbest hidroksil radikallerinin DNA'yı hasarlamasıyla en az üç modifiye baz; 5-hidroksimetilurasil, OH' ile guaninin etkileşmesiyle 8-hidroksiguanin ve OH' ile timinin etkileşmesiyle timin glikol oluşmaktadır.<sup>73</sup> Bu modifiye bazlar mutagenез ve karsinogenezde önemli etkilere sahiptir.



Şekil 8. ROS oluşumu ve DNA üzerine etkisi<sup>120</sup>

ROS, karsinogenezisin birçok basamağında rol oynayabilir<sup>4,41,48</sup> (Şekil 9). Oksidatif mekanizma karsinogenezisin başlangıç, ilerleme maligniteye dönüşüm aşamalarında potansiyel bir role sahip olduğu gösterilmiştir. 40' lı yaşlarda artan kanser riski ve bunun DNA hasar birikimleri ile ilişkisi göz önüne alınarak, kanserde oksidatif DNA hasarı incelenmektedir. ROS, DNA hasarına yol açar ve onarılmamış veya yanlış onarılmış hücrelerin bölünmesinde mutasyona neden olur. Eğer mutasyonlar onkogen veya tümör supresör genler gibi kritik genlerle ilişkili ise kanserin başlaması ve veya ilerlemesiyle sonuçlanabilir. ROS hücre büyümesi ve sinyal iletimine direkt olarak müdahale edebilir<sup>41,42</sup>; ROS tarafından oluşturulan hücre hasar, hasarlanmış DNA'nın mutasyona neden olma riskini ve ROS oluşturan mutajenlere DNA'nın maruz kalmasını artırarak mitozisi indükleyebilir.<sup>5</sup> Mutasyonlar mitoz sırasında rekombinasyon, gen konversiyonu ve nondisjunctionla da indüklenebilir. Bunun dışında mitogenezis tümör supresör inaktivasyonu

ve/veya onkogen aktivasyonu ile transformasyona uğramış hücrelerin klonal artışına olanak sağlar.



Şekil 9. Kanser Oluşumunda ROS'un Rolü<sup>120</sup>

### 2.2.5. Beyin ve Serbest Radikaller

Vücudun diğer organları ile kıyaslandığı zaman sinir sistemi bazı biyokimyasal, fizyolojik ve anatomik nedenlerden dolayı ROS aracılı hasara özellikle hassas olabilir. Bu hassasiyete neden olan özellikler şöyle sıralanabilir: <sup>67,94</sup>

1. Oksidatif metabolik aktivitenin yüksek oranda olması: Yüksek düzeylerde ve sürekli oksijen gereksinimi nedeniyle  $O_2$ 'nin yüksek düzeylerine maruz kalmaktadır.
2. Beyin hücresi membran lipidlerinin, yüksek konsantrasyonlarda poliansature yağ asitleri gibi kolaylıkla okside olabilen substratlar içermesi
3. Hidroksil radikalinin oluşmasında önemli bir rol oynayan  $Fe^{+2}$  iyonundan zengin alanlarının bulunması: Oluşan bu hidroksil radikalleri lipid peroksidasyon zincirini başlatır.

4. Katalaz, glutatyon peroksidaz gibi koruyucu antioksidanların düşük düzeylerde bulunması
5. Dopamin oksidasyonu gibi spesifik nörokimyasal reaksiyonlar tarafından ROS'un endojen üretimi
6. Sitoplazmik hacme oranla membran yüksek oranda olması
7. Periferal hasara eğilimli uzun aksonal morfolojiye sahip olması
8. Bozulmaya meyilli bir nöral anatomik ağa sahip olması
9. Nöronal hücrelerin çoğalamıyor olması

Beyindeki reaktif oksijen türlerini oluşmasındaki mekanizmalar ise şunlardır:<sup>152</sup>

1. Katekolaminlerin ve dopaminin monoaminoksidaz tarafından katalizlenen oksidasyonu
2. Prostaglandin metabolizması
3. Makrofaj tipli mikroglial hücrelerin Fenton-demir aracılı aktivasyonu
4. Nöronlar tarafından nitrik oksit üretimi

Sinir sisteminde antioksidan savunma vitamin C, vitamin E, GSH, Fe şelatörleri olan karnozin ve homokarnozin ile intrasellüler antioksidan enzimler tarafından sağlanır. GSH bağımlı antioksidan enzimler periferik sinir sisteminde göreceli olarak düşüktür. Beyinde SOD ve GSH-Px düşük düzeylerde, katalaz ise çok düşük düzeylerde bulunmaktadır.

Kan beyin bariyerinin artan permeabilitesi, mitokondriyal solunumun inhibisyonu, sinaptik transmitter ve iyon fonksiyonlarında bozulma; nöronal fonksiyonlar üzerinde ROS'un bazı etkileridir. Beyinde yaş ile birlikte ROS üretiminin artışı, antioksidan savunmanın değişmesi, oksidatif olarak hasarlı enzimlerin artışı, nöronların kaybı gibi homeostatik mekanizmayı etkileyen değişiklikler hasar verici olaylara karşı yaşlı beynin artan hassasiyetine katkıda bulunur.<sup>67</sup>

ROS beyne ait çok sayıda patolojik tablonun etiyopatogenezinde yer alabilir. Bu görüşü destekleyen kanıtlar giderek artmaktadır. Beyin travması, iskemi, toksisitede ve Parkinson hastalığı, Alzheimer demansı, multiple skleroz, lipofussinozis gibi nörodejeneratif hastalıklarda serbest radikal oksidatif etkileşimlerinin doku hasarını başlattığı yönündeki görüşler giderek artmaktadır. Serbest radikal oksidanlarının nöral patolojilerdeki rolüyle ilgili bu yeni yaklaşımlara, antioksidan besinler ve farmakolojik ajanların koruyucu ve terapötik yararları ile ilgili temel ve klinik çalışmalarda artış eşlik etmektedir.<sup>67</sup>

#### 2.2.6. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi (HPLC)

Kromatografi, bir karışımda bulunan bileşenlerin birbirinden ayrılmasını gerçekleştiren yöntemlerin genel adıdır. Tüm kromatografik metodlarda prensip aynıdır.<sup>28</sup>

- Analizlenecek karışım sabit faza tatbik edilir. Hareketli faz karışımın içeriklerini sabit faz üzerinde taşır.
- Karışımın her maddesi, iki fazla farklı tarzda etkileşir. Maddelerin sabit faz ile hareketli faza olan ilgileri farklıdır.
- Sonuçta her madde farklı yürüme ve “eluation” örüntüsü gösterir ve karışımdaki maddeler ayrılabilir ve miktarları saptanabilir.

*Sabit (durgun, stationary) faz:* Genellikle kolona doldurulmuş veya düz bir yüzeyin üzerine kaplanmış katı maddedir. Bazen yüzeyi sıvı ile de kaplanmış olabilir.

*Hareketli(mobil) faz:* Sabit fazın üzerinde devamlı akan gaz veya sıvıdır.

Kromatografik metodlar, mobil fazın yapısına göre sıvı ve gaz kromatografisi olarak sınıflandırılırlar.

Sıvı kromatografisi performansına göre de ikiye ayrılır:

1. Düşük Performanslı ( LPLC )
2. Yüksek Performanslı ( HPLC )

HPLC, bütün analitik ayırma teknikleri arasında en yaygın kullanılanıdır.<sup>29</sup> Yöntemin bu kadar yaygın olmasının sebepleri; duyarlılığı, doğru kantitatif tayinlere kolaylıkla uyarlanabilir olması, uçucu olmayan türlerin veya sıcaklıkla kolayca bozunabilen türlerin ayrılmasında uygun olmasıdır.

HPLC yönteminde; kolon çapı küçültülmekte, yüksek basınç uygulanmaktadır. Bu da yöntemin duyarlılığını artırmakta, kullanılan çözücü miktarını azaltmakta, ayırma zamanını kısaltmaktadır.

HPLC genel olarak aşağıdaki bölümlerden oluşur:

- Numuneyi taşıyan mobil faz (Solvent Rezervuarı)
- Enjeksiyon kısmı
- Sabit faz ve ayırma kolonu
- Dedektör
- Grafiğin alındığı bilgisayar

*Solvent Rezervuarı:* Sıvı mobil faz içerir. Sıvı mobil faz, tek olarak ya da 2'li, 3'lü, 4'lü karışımlar şeklinde olabilir. İsokratik uygulamalarda, solvent kompozisyonunda başlangıçta ve sonunda bir değişiklik yoktur, analitik çalışmalarda kullanılır. Gradient uygulamalarında; solvent kompozisyonu run-time sürecinde değişikliğe uğrar, oran kullanıcı tarafından istenen % ye ayarlanır, çözücüler pompaya geçtikten sonra veya önce istenen oranda karıştırılır. Metod kurma ve araştırma için kullanılır. Çözücüler basit bir sistemde olduğu gibi, ısı kontrollü ve sürekli degaze edilen komplike sistemlerde de tutulabilir.

*Pompalar:* Mobil fazın kolonda yürüebilmesi için pompalara ihtiyaç vardır. LPLC de gravite pompa görevi görürken, HPLC de mekanik pompalara ihtiyaç vardır. HPLC’de genellikle iki tip pompa kullanılmaktadır : Şırınga pompalar, karşılıklı hareket eden pompalar (Reciprocating pumps).

*Enjektörler:* HPLC de numune bir septum boyunca şırınga ile enjeksiyon valfi üzerindeki halkaya verilir.

*Kolon:* Sistemin beynidir ve bütün ayrıştırmalar kolonda olmaktadır. 10-50 cm uzunluğunda, 1-5 mm iç çapta olup yüksek basınca dayanıklı paslanmaz çelikten yapılmıştır. Stasyonier faz içerirler. HPLC de kolonda stasyonier faz olarak slika, alumina ve organik polimerler kullanılır. Bağlı-faz partitasyon HPLC de kolonun içindeki silika partiküllerinin yüzeyine maddelerin tutulmasını arttırmak için fonksiyonel gruplar bağlanır. Normal faz HPLC de slikalara bağlı fonksiyonel gruplar polardır (Amino ve nitril grupları), mobil faz nonpolardır. Reverse faz HPLC de ise slikalara bağlı gruplar nonpolardır, mobil faz polardır.

*Dedektörler:* Kolonda mobil faz tarafından taşınan maddelerin tespitini yapan cihazdır.

- Absorbans (UV) Dedektörler
- Floresans Dedektörleri
- Elektrokimyasal Dedektörler
- Konduktivite Dedektörleri

Absorbans Dedektörleri; HPLC de en sık kullanılan dedektör tipidir. UV veya görünen farklı dalga boylarında bileşiklerin ışığı absorbe etmesi prensibine dayanır.

Floresans Dedektörleri; bileşiklerin absorblanma ve ışık çıkarma yeteneklerini ölçer. Moleküllü aktive etmek için ışık yollanır ve molekülün yaydığı ışık ölçülür. İlaç ve

metabolitleri, proteinlerin ölçümünde kullanılır.

Elektrokimyasal Dedektörler; okside veya redükte olabilen bileşikleri ölçer. Çalışan, referans ve yardımcı elektrotlardan oluşur. Redoks reaksiyonu çalışan elektrotta oluşur. Bileşikler elektrotlar arasından geçerken elektrot yüzeyi ile moleküller arasında elektron transferi olur. Bu da bir akım yaratmaktadır ve oluşan akım ölçülmektedir. Katekolamin ve metabolitleri, serotonin, 5 HIAA tayininde kullanılır.

Konduktivite Dedektörleri; Elektrik alanda mobil fazın akımı iletme yeteneği ölçülür ve bu mobil fazdaki iyonik yapıya bağlıdır. İki elektrottan oluşan flow cell vardır. Kolondan iyonik bileşikler çıktıkça oluşan akım ölçülmektedir

Dedektörlerin sinyallerinin, tabandan sapma şeklinde bir yazıcı vasıtasıyla kaydedilmesiyle bir grafik oluşur. Kolondan çıkan bileşenlerin miktarlarını zamana karşı çizen bu grafik *kromatogram* dır.

### 2.3. Beyin Tümörleri

İntrakraniyal tümörler; kafatası, meninks, kan damarları, hipofiz ve pineal bez, kranial sinirler, beyin dokusu ve konjenital kalıntılar ile, beynin metastatik tümörlerini tanımlar.<sup>114</sup>

SSS tümörleri temelde üç grupta incelenebilir;<sup>114</sup>

- SSS parankim hücrelerinden gelişen primer kafa içi tümörleri
- Kökeni kafa boşluğu olmakla beraber beyin parankiminden gelişmeyen primer kafa içi tümörleri
- Metastatik tümörler

Primer parankim tümörleri içinde, sinir sisteminin her tip hücresinden gelişen özel tipte tümörlerin yanı sıra mikst, primitif, mezenkimal tümörler de bulunur. Primer

parankim dışı tümörler ise primer beyin tümörlerinden farklı olarak sıklıkla meninksler ya da hipofiz gibi komşu yapılardan kaynaklanır.<sup>114</sup>

WHO'ya göre SSS tümörlerinin histolojik sınıflandırması aşağıdaki gibidir.

#### A)NÖROEPİTELYAL DOKU TÜMÖRLERİ

##### *Astroitik Tümörler*

1. Ploistik astrositoma (grade I)
2. Pleomorfik ksantoastrositoma (grade I)
3. Subependimal dev hücreli astrositoma (grade I)
4. Diffüz astrositoma (grade II)
5. Anaplastik astrisitoma (grade III)
6. Glioblastoma multiforme (grade IV)

##### *Oligodendrogial Tümörler*

1. Oligodendrioglioma (grade II)
2. Anaplastik oligodendrioglioma (grade III)

##### *Miks Gliomalar*

1. Oligoastrositoma (grade II)
2. Anaplastik oligoastrositoma (grade III)

##### *Ependimal Tümörler*

##### *Koroid Pleksus tümörleri*

##### *Pineal Parankimal Tümörler*

##### *Orjini Bilinmeyen Glial tümörler*

##### *Nöronal ve Miks Nöronal –Glial tümörler*

##### *Nöroblastik Tümörler*

### *Embrional Tümörler*

1. Medullablastoma
2. Primitif nöroektodermal tümörler (PNET)

### B) PERİFERAL SİNİR TÜMÖRLERİ

*Schwannoma (Nörilemmoma, Nörinoma)*

*Nörofibroma*

*Perinörinoma*

*Malign periferel Sinir Kılıfı Tümörleri (MPNST)*

### C) MENİNGS TÜMÖRLERİ

*Meningotelyal Tümörler*

1. Menejyom

*Mezankimal Meningotelyal Olmayan Tümörler*

*Melanositik Doku Tümörleri*

*Histogenezi Bilinmeyen tümörler*

### D) LENFOMALAR VE HOMOPÖETİK NEOPLASMLAR

### E) GERM HÜCRE TÜMÖRLERİ

### F) SELLAR BÖLGE TÜMÖRLERİ

Primer beyin tümörlerinin prognozu; histolojik tip, pre ve postoperatif tümör büyüklüğü, tümörün yerleşim yeri, hastanın yaşı, performans durumu, semptomları süresi ile bağlantılıdır.<sup>86</sup> İntrakranial tümörlerin tedavisinde; 1)Sadece cerrahi, 2)Cerrahi ve poatoperatif radyoterapi, 3)Cerrahi-radyoterapi-kemoterapi 4)Sadece radyoterapi ile tedavi kullanılmaktadır.<sup>175</sup>

Beyin tümörlü kişilerde çeşitli bulgular, semptomlar ve bozukluklar olabilir. Primer beyin tümörlerinin semptomları tümörün lokalizasyona, tipine ve büyüme hızına

bağlıdır.<sup>189</sup> Tümörler, beyin alanlarının birine bası ya da invazyonla direkt olarak veya kafa içi basıncı arttırarak indirekt olarak semptomlara neden olabilirler.<sup>87</sup> Yüzeyde bulunan bir tümörün büyümesi kafatasının her yerinde basınç artışına neden olur. Bunun sonucunda hastaların %65 inde baş ağrısı, %30 unda görme bozuklukları ve %10 unda aşırı miktarda bulantı ve kusma görülür. Uzun periyotlarda beyin dokusuna bası yapan tümörler parsiyel veya jenaralize felçlere neden olabilirler.<sup>117</sup>

Semptomlar tümör tarafından bası yapılan ve istila edilen beyin alanlarıyla da ilgili olabilir. Duyularla ilgili korteks veya pariyetal loblar üzerindeki basınç duyusal bozukluklara kelime tanıma konuşulanları tanıma kaybına yol açabilir. Çünkü pariyetal korteks hem görsel hem de işitsel verileri bütünleştiği yerdir.<sup>112</sup> Frontal lob tümörleri yaygındır; mental durum ve kişilik değişikliklerine neden olur.<sup>117</sup> Motor kortekste lokalize tümörler genellikle güç kaybı, hemiparezi, hemipleji veya jenaralize felçler şeklinde bulgu verebilirler. Temporal lob tümörleri parsiyel kompleks felçlere, bilinç kaybına, kontralateral hemianopsiye neden olabilir.<sup>85</sup> Oksipital lob tümörleri görme alanı ile ilgili veya görme ile ilgili bozukluklara yol açar. Tümörler kraniyal sinirleri ve fonksiyonlarını da etkileyebilirler.<sup>112</sup> Serebellar tümörler dismetri, ataksik yürüyüş, intansiyon tremoru, nistagmus ve disdiadokinezi gibi bozukluklara neden olabilir.<sup>85,117</sup> Hipofiz tümörleri hormonal değişikliklerin yanı sıra optik kiazmaya bası yaparak çeşitli görme bozukluklarına sebep olabilirler.<sup>86</sup>

Intrakraniyal tümörlerde lenfatik yayılım hemen hemen hiç görülmez. Beyin tümörleri kan yoluyla nadiren metastaz yaparlar. Beyin omurilik sıvısı (BOS) ile ilişkili yerleşim gösteren bazı tümörler (medullablastoma, ependimoma, germinoma v.b.) ise implantasyon metastazı yapabilirler.<sup>86</sup> SSS dışından beyne olan metastaz, SSS'de oluşandan çok daha sıktır. En çok akciğer, meme, melanoma ve böbrekten metastazlar oluşur.<sup>108</sup>

### 2.3.1. Glial veya Astrositik Tümörler

Primer beyin tümörlerini %50 sini oluştururlar. Histolojik olarak fibriler, gemiositik, ve protoplazmik astrositler gibi astrosit formlarının karışımından meydana gelmişlerdir. Bu tümörler; histopatolojik incelemelerde nükleer atipi, mitotik aktivite, endotelyal proliferasyon ve nekroz olup olmamasına göre değişik isimlerle anılan gradeleme sistemlerine tabi tutulmuşlardır. WHO sınıflaması astrositik tümörleri iki ana gruba ayırmıştır. Birinci grupta daha iyi sınırlı olan pilositik astrositoma (grade I), pleomorfik ksantoastrositoma (grade I), subependimal dev hücreli astrositoma (grade I) bulunur. İkinci ana grupta ise diffüz infiltrasyon gösteren astrositoma (gradeII), anaplastik astrositoma (grade III) ve glioblastoma multiforme (grade IV) bulunur.

Pilositik astrositoma ve pleomorfik ksantoastrositoma, çocuklarda ve genç erişkinlerde görülür. Subependimal dev hücreli astrositoma ise tipik olarak ilk yirmi yaşta, tüberküloz ile birlikte görülür.

Anaplastik astrositoma, sıklıkla daha düşük gradeli tümörlerden malign transformasyonla, daha nadir olarak da primer ortaya çıkar. Malign astroisitik tümörlerdir.

Glioblastoma multiforme (GBM), tüm intrakraniyal tümörlerin % 15-20 sini, astrositik tümörlerin ise %50 sini oluşturur. GBM en yaygın beyin neoplazmidir ve sıklıkla 50-60 yaşlarında görülür.<sup>85</sup> Hızlı seyirli ve oldukça malign bir tümördür.

### 2.3.2. Menenjiyom

Menenjiyomlar yavaş seyirli, kapsülsüz, oldukça vasküler, benign intrakraniyal tümörlerdir.<sup>85</sup> Yetişkinlerde tüm intrakraniyal tümörlerin %20 sini oluşturur.<sup>117</sup> En sık ileri yaşlarda, özellikle 60-70 yaşlarında görülür. Genellikle benign, total çıkarımı mümkün olan ve nadiren nüks eden tümörler olmasına rağmen bazen malign olabilirler.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında ve Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatri AD. Beslenme ve Metabolizma Bilim Dalı Metabolizma Laboratuvarında yapılmıştır.

#### 3.1. Kullanılan Gereçler

Çalışma gruplarımız, hastanemiz Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalına başvuran hastaların beyin tümörü dokularından ve peritümöral dokularından oluşmuştur (Tablo 2). Peritümöral dokular, GBM tümör grubunun etrafından elde edilmiştir.

**Tablo 2.** Çalışma Grupları

<i>Doku Grupları</i>	<i>n</i>	<i>Kadın</i>	<i>Erkek</i>	<i>Yaş Aralığı</i>
Peritümöral doku	9	4	5	34-70
Glioblastoma multiforme	29	11	18	32-87
Yüksek grade astrositoma	8	3	5	18-75
Düşük grade astrositoma	8	3	5	34-51
Malign menenjiyom	5	5	-	40-70
Atipik menenjiyom	2	1	1	43-74
Klasik menenjiyom	19	14	5	33-78
<b>Toplam</b>	<b>80</b>	<b>41</b>	<b>39</b>	-

Beyin tümör dokuları ve peritümöral doku örnekleri, ameliyat esnasında alınarak çalışılacağı güne kadar -80 °C de dondurularak saklanmıştır.

### 3.1.1. Kullanılan Araçlar

- Doku homojenizatörü (Virtis-Virtisheur)
- Hassas terazi (Schimadzu)
- Shaker (Nüve)
- Soğutmalı Santrifüj (HERMLE Z 323 K)
- Blok ısıtıcılı konsantratör (TECHNE)
- Tandem Kütle Spektrometri (Micromass Quatro II)
- Vorteks (Nüve)
- HPLC ( Waters)

### 3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmamızda kullanılan metanol, n-butanol, etanol, potasyum monobazik fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), potasyum hidroksid (KOH), fosforik asit ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ), tiobarbütirik asit (TBA), potasyum klorid (KCl), asetonitril ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ), butile hidroksitoluen (BHT) Merck firmasından temin edildi. Kullanılan sıvı maddeler HPLC grade seçildi.

Asetil klorid ( $\text{CH}_3\text{COCl}$ ) Aldrich, 1,1,3,3-tetraetoksipropan (TEP) Sigma firmasından temin edildi.

İzotop işaretli açilkarnitin standardı için Cambridge Isotope Laboratories, Inc. Set B kullanıldı.

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Doku MDA Düzeylerinin Ölçümü

Doku MDA düzeyleri, Agarwal ve ark.nın<sup>1</sup> MDA-TBA kompleksinin HPLC de kromatografik olarak ayrıştırılması metoduna göre tayin edilmiştir.

#### Reaktifler

HPLC için Fosfat tamponu: 50 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 5 M KOH, pH=6,8

42 mM TBA

0,44 M  $\text{H}_3\text{PO}_4$

%1,15 lik KCl

%0,05 lik BHT (% 95 lik etanol içinde hazırlandı)

n-butanol

1 mM Stok standart: 25  $\mu\text{l}$  1,1,3,3-tetraetoksipropan (TEP) 100 ml'ye %40 lik etanol ile tamamlandı.

#### Çalışma Prosedürü

50 mg tümör dokusu 0,95 ml % 1,15 lik KCl eklenerek buz banyosunda homojenize edildi. 14000 rpm de 4 °C de santrifüj edildi ve süpernatant ayrıldı. Standart olarak ise stok standarttan 20 $\mu\text{M}$ , 10 $\mu\text{M}$ , 5 $\mu\text{M}$ , 2,5 $\mu\text{M}$  1,1,3,3-tetraetoksipropan (TEP) hazırlandı.

50  $\mu\text{l}$  süpernatant veya standarta 50 $\mu\text{l}$  %0,05 lik BHT, 400  $\mu\text{l}$  0,44 M  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , 100  $\mu\text{l}$  TBA eklenerek kapaklı tüplere kondu, vortekslendi ve ağzı sıkıca kapatıldı. 100 °C de 1 saat inkübe edildi. Buz banyosunda soğutulmuş 250  $\mu\text{l}$  n-butanol eklendi. Tüpler 5 dakika

vortekslendi ve 3 dakika 14000 rpm de santrifüj edildi. n- butanol tabakasından 20 µl alınarak HPLC ye enjekte edildi.

### MDA Düzeylerinin HPLC ile Analizi

Çalışmamız HPLC cihazında aşağıda belirtilen analiz koşulları oluşturularak yapılmıştır.

Mobil faz : (40:60, v/v) metanol/fosfat tamponu

Kolon: 5 µ ODS 100 x 4,6 mm

Dedektör: Floresans dedektör

Akış hızı: 1 ml/dakika

Em: 515 nm

Ex: 553 nm

Kolon ısısı: 37 °C

$$\text{Doku MDA Hesabı: } \frac{\text{Numune Alanı}}{\text{Standart Alanı}} \times \frac{\text{Standart Konsantrasyonu}}{\text{Dilüsyon faktörü (20)}} = \text{nmol MDA/gr. yaş doku}$$

### **3.2.2. Doku Serbest Karnitin ve Açilkarnitin Türevlerinin Ölçümü**

Serbest karnitin ve açilkarnitin türevlerinin ölçümü Chace ve ark.nın Tandem Kütle Spektrofotometri metoduna dayanmaktadır.<sup>43</sup> Doku serbest karnitin açilkarnitin türevlerinin düzeyleri<sup>56</sup>, Micromass Quatro II TMS cihazında ESI iyonizasyon kaynağı kullanılarak ölçüldü. Numuneler sisteme Jasca PU-980 pompa ve Jasca AS-950 otosampler kullanılarak verildi. Analiz sırasında azot ve argon gazları kullanıldı.

Reaktifler

Metanol

Butanolik-HCl (Asetil klorid/n-butanol, 1/10)

Asetonitril/H<sub>2</sub>O (80/20)

İnternal standart (IS) olarak isotop işaretli açilkarnitin standardı kullanıldı.

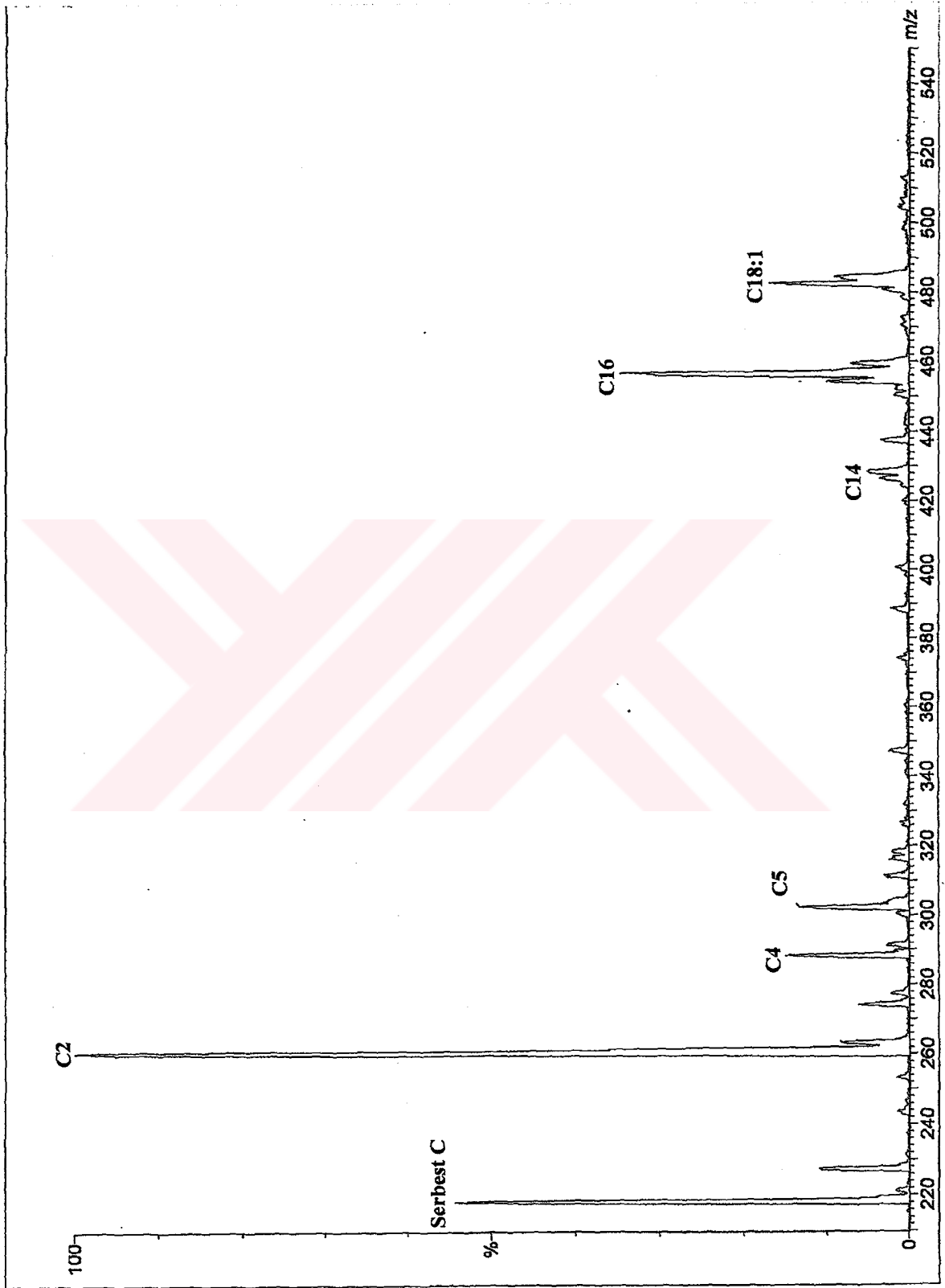
**Tablo 3.** Referans Standarttaki Açilkarnitin Konsantrasyonları

REFERANS STANDART	Konsantrasyon ( nmol/ml)
2H9-karnitin (serbest karnitin, CN)	152,0
2H3-asetilkarnitin (C2)	38,0
2H3-propiyonilkarnitin (C3)	7,6
2H3-bütirilkarnitin (C4)	7,6
2H3-izovalerilkarnitin (C5)	7,6
2H3-oktanoilkarnitin (C8)	7,6
2H9-miristoilkarnitin (C14)	7,6
2H3-palmitoilkarnitin (C16)	15,2

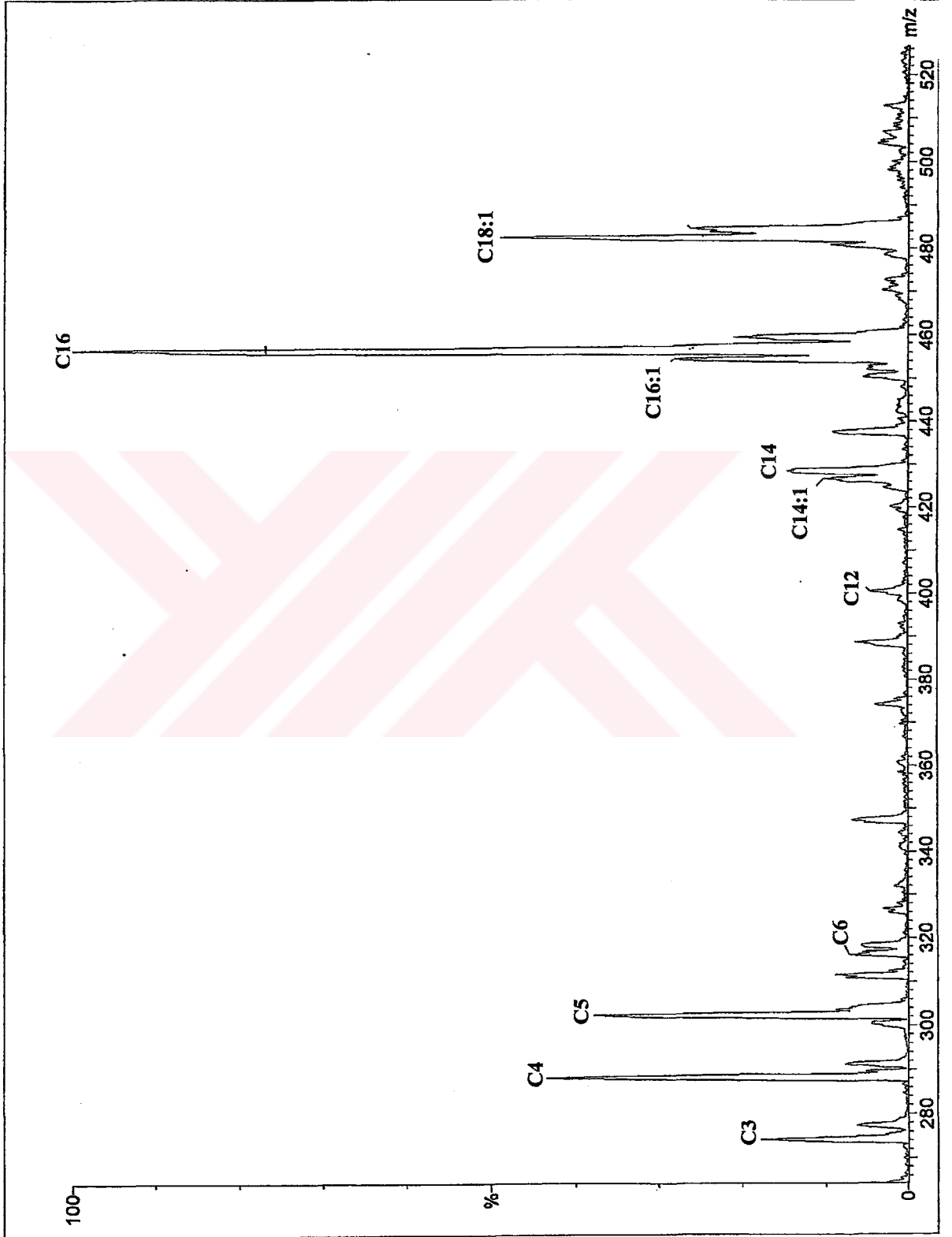
Stok standart hazırlamak için standart viali 1 ml metanol içinde çözüldü. Stok standart 1/245 dilüe edildi ve günlük çalışma standardı hazırlandı.

Çalışma Prosedürü

50 mg doku 2 ml metanol ile buz banyosu içinde homojenize edildi. 30 dakika shakerda çalkalandıktan sonra deproteinizasyon için – 80 °C de 30 dakika bekletildi. 14000 rpm de 5 dakika santrifüjlendikten sonra süpernatantlardan 100 µl elisa kuyucuklarına alındı. Üzerlerine 1/245 dilüe IS dan 100 µl eklendi. Sıcak hava akımında uçuruldu. Türevlendirme için üzerlerine 60 µl butanolik-HCl eklenerek elisa kuyucuklarının üstü alüminyum folyo ile kapatıldı ve 20 dakika 65 °C de inkübe edildi. Sıcak hava akımında uçurulduktan sonra numunelere 100 µl asetonitril/H<sub>2</sub>O eklendi ve 10 µl alınarak TMS de analizlendi.



Şekil 10. TMS'de Tümör Dokusunda Karnitin Spektrumu



Şekil 11. TMS'de Tümör Dokusunda Karnitin Spektrumu

### 3.3. Sonuçların Analizi

Beyin tümörlerinin ve peritümöral dokuların MDA ve açilkarnitin düzeylerine ait verilerin değerlendirmesinde; gruplara ait istatistiksel hesaplamalar, standart sapma ( $\pm$  SD) hesaplamaları ve grupların ortalama değerleri arasındaki farklılıklarını önemliliğinin belirlenmesinde, SPSS 11.0 for Windows programı kullanıldı. Gruplar arasındaki farklılığın tespiti için de Mann Whitney-U Testi kullanıldı. Grupların MDA ve karnitin düzeyleri arasında anlamlı bir iliŐki olup olmadığına da Spearman korelesyon testi ile bakıldı.  $p < 0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



#### 4. BULGULAR

Peritümöral doku; GBM, yüksek ve düşük grade astrositoma, malign, atipik ve klasik menenjiyomdan oluşan tümör gruplarının MDA düzeyleri Tablo 2 de özetlendi. Elde edilen sonuçlar, gram yaş doku başına nmol miktar olarak hesaplandı. Grupların MDA düzeyleri de Tablo 4' de karşılaştırıldı.

**Tablo 4.** Peritümöral Doku ve Tümör Gruplarının MDA Değerleri ( Ortalama  $\pm$  SD)

<b>GRUPLAR</b>	<b>n</b>	<b>MDA Düzeyleri ( nmol / gr. yaş doku )</b>
Peritümöral Doku	9	29,8 $\pm$ 2,9
Glioblastoma Multiforme	29	29,9 $\pm$ 8,1
Yüksek Grade Astrositoma	8	27,6 $\pm$ 4,5
Düşük Grade Astrositoma	8	26,5 $\pm$ 4,3
Malign Menenjiyom	5	23,2 $\pm$ 4,8 <sup>a</sup>
Atipik Menenjiyom	2	21,6 $\pm$ 5,4
Klasik Menenjiyom	19	23,6 $\pm$ 6,5 <sup>a,b</sup>

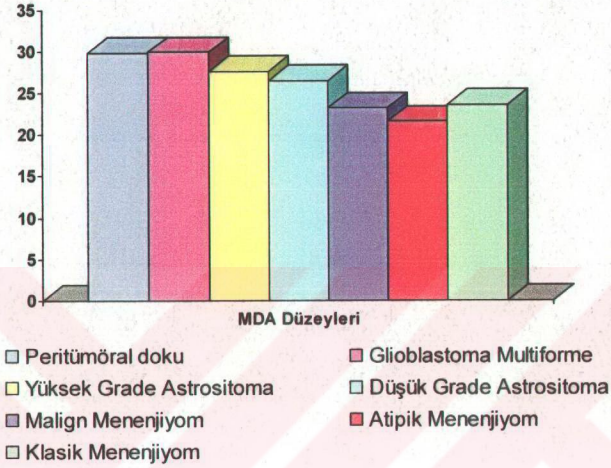
\* Peritümöral doku ile diğer tümör Gruplarının MDA değerlerinin karşılaştırılması

<sup>a</sup> p<0,05

\* Glioblastoma Multiforme ile diğer tümör gruplarının MDA değerlerinin karşılaştırılması

<sup>b</sup> p<0,05

Peritümöral doku grubu ile tümör grupları kıyaslandığında; malign menenjiyom ve klasik menenjiyom tümör gruplarının MDA düzeylerinin peritümöral doku grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu görüldü. Ayrıca GBM ile menenjiyomlar karşılaştırıldığında, klasik menenjiyom tümör grubunda GBM ye göre daha düşük MDA düzeyleri tespit edildi.



Şekil 12. Peritümöral Doku ve Tümör Gruplarının MDA Düzeyleri

Genel olarak peritümöral doku; GBM, astrositoma ve menejyomdan oluşan tümör gruplarının MDA düzeyleri ise Tablo 5'te verildi.

**Tablo 5.** Peritümoral Doku ve GBM, Astrositoma, Menenjiyoma Tümör Gruplarının MDA Değerleri ( Ortalama  $\pm$  SD )

<b>GRUPLAR</b>	<b>n</b>	<b>MDA Düzeyleri (nmol/gr.yaşdoku)</b>
Peritümöral Doku	9	29,8 $\pm$ 2,9
Glioblastoma Multiforme	29	29,9 $\pm$ 8,1
Astrositoma	16	27,1 $\pm$ 4,3
Menenjiyoma	27	23,3 $\pm$ 5,9 <sup>a,b,c</sup>

\* Peritümöral doku grubu ile diğer grupların karşılaştırılması <sup>a</sup> p<0,01

\* Glioblastoma Multiforme ile diğer tümör gruplarının karşılaştırılması <sup>b</sup> p<0,01

\* Astrositoma ile tümör gruplarının karşılaştırılması <sup>c</sup> p<0,05

Peritümöral doku grubunun, GBM, yüksek ve düşük grade astrositoma tümör gruplarının; serbest karnitin, asetikarnitin(C2), propiyonikarnitin (C3), bütirikarnitin (C4), izovalerikarnitin (C5), hekzanoikarnitin (C6), oktanoikarnitin (C8), dekanolikarnitin (C10), dodekanoikarnitin (C12), tetradekanoikarnitin (C14:1), miristoikarnitin (C14), palmitoleikarnitin (C16:1), palmitoikarnitin (C16), oleikarnitin (C18:1), stearikarnitin (C18), araşidonolikarnitin (C20:4) düzeyleri Tablo 6'da verildi ve karşılaştırıldı.

**Tablo 6.** Peritümöral Doku Grubu İle Glioblastoma Multiforme, Yüksek Grade Astrozitoma, Düşük Grade Astrozitoma Tümör Gruplarının Karnitin Değerleri ( Ortalama  $\pm$  SD )

<i>Açıkarnitin Deriveleri</i>	<i>Peritümöral Doku (nmol/gr.yaş doku)</i>	<i>Glioblastoma Multiforme (nmol/gr.yaş doku)</i>	<i>Yüksek Grade Astrozitoma (nmol/gr.yaş doku)</i>	<i>Düşük Grade Astrozitoma (nmol/gr.yaş doku)</i>
Serbest Karnitin	125,4 $\pm$ 34,6	152,0 $\pm$ 82,0	67,1 $\pm$ 31,0 <sup>b,d</sup>	52,0 $\pm$ 19,0 <sup>b,d</sup>
C2	70,2 $\pm$ 17,6	65,7 $\pm$ 26,8	56,7 $\pm$ 16,9 <sup>a</sup>	37,5 $\pm$ 9,4 <sup>b,d,e</sup>
C3	2,0 $\pm$ 0,9	6,5 $\pm$ 2,9 <sup>b</sup>	1,1 $\pm$ 0,5 <sup>b,d</sup>	1,1 $\pm$ 0,4 <sup>b,d</sup>
C4	5,0 $\pm$ 1,5	8,1 $\pm$ 3,7 <sup>a</sup>	4,1 $\pm$ 1,8 <sup>d</sup>	2,8 $\pm$ 0,9 <sup>b,d</sup>
C5	2,2 $\pm$ 0,7	3,3 $\pm$ 1,2 <sup>a</sup>	1,3 $\pm$ 0,8 <sup>d</sup>	1,0 $\pm$ 0,3 <sup>b,d</sup>
C6	1,3 $\pm$ 0,4	1,5 $\pm$ 0,6	0,8 $\pm$ 0,2 <sup>b,d</sup>	0,8 $\pm$ 0,4 <sup>b,d</sup>
C8	0,15 $\pm$ 0,07	0,13 $\pm$ 0,05	0,08 $\pm$ 0,03 <sup>a,d</sup>	0,08 $\pm$ 0,04 <sup>c</sup>
C10	0,36 $\pm$ 0,10	0,19 $\pm$ 0,08 <sup>b</sup>	0,11 $\pm$ 0,05 <sup>b,c</sup>	0,10 $\pm$ 0,03 <sup>b,d</sup>
C12	1,02 $\pm$ 0,50	0,95 $\pm$ 0,50	0,39 $\pm$ 0,18 <sup>b,d</sup>	0,36 $\pm$ 0,09 <sup>b,d</sup>
C14:1	0,35 $\pm$ 0,16	0,51 $\pm$ 0,20	0,43 $\pm$ 0,24 <sup>d</sup>	0,35 $\pm$ 0,10 <sup>c</sup>
C14	2,1 $\pm$ 1,0	1,5 $\pm$ 0,6	1,4 $\pm$ 0,8	0,9 $\pm$ 0,3 <sup>b,d</sup>
C16:1	0,65 $\pm$ 0,37	1,15 $\pm$ 0,58 <sup>a</sup>	1,60 $\pm$ 0,86 <sup>b</sup>	0,73 $\pm$ 0,28 <sup>c</sup>
C16	4,2 $\pm$ 1,9	11,6 $\pm$ 5,5 <sup>b</sup>	8,5 $\pm$ 4,0 <sup>a</sup>	5,9 $\pm$ 1,4 <sup>d</sup>
C18:1	2,5 $\pm$ 1,3	5,4 $\pm$ 1,7 <sup>b</sup>	4,8 $\pm$ 1,3 <sup>a</sup>	2,9 $\pm$ 0,5 <sup>d,f</sup>
C18	2,3 $\pm$ 0,9	9,7 $\pm$ 3,1 <sup>b</sup>	4,3 $\pm$ 1,3 <sup>b,d</sup>	1,6 $\pm$ 0,4 <sup>d,f</sup>
C20:4	0,35 $\pm$ 0,15	0,34 $\pm$ 0,09	0,10 $\pm$ 0,05 <sup>b,d</sup>	0,10 $\pm$ 0,04 <sup>b,d</sup>

\* Peritümöral doku grubu ile diğer grupların karşılaştırılması <sup>a</sup> p < 0,05 - <sup>b</sup> p < 0,01

\* Glioblastoma Multiforme tümör grubu ile Yüksek Grade Astrozitoma, Düşük Grade Astrozitoma tümör gruplarının karşılaştırılması <sup>c</sup> p < 0,05 - <sup>d</sup> p < 0,01

\* Yüksek Grade Astrozitoma ve Düşük Grade Astrozitoma tümör gruplarının karşılaştırılması <sup>e</sup> p < 0,05 - <sup>f</sup> p < 0,01

Peritümöral dokuya göre GBM grubu, serbest karnitin düzeyi açısından istatistiksel olarak önemsiz bir yükselme gösterirken C3, C4, C5, C14:1, C16:1, C16, C18:1, C18 karnitin düzeylerinde önemli artışlar gösterdi.

Yüksek grade astrositomlarda, C16:1, C16, C18:1, C18 karnitin düzeyleri peritümöral dokuya göre artış gösterirken, genelde diğer karnitin düzeyleri düşme gösterdi.

Düşük grade astrositomlarda genel olarak kısa ve orta zincirli karnitin düzeylerinde peritümöral dokuya göre azalmalar görüldü. C14:1, C16:1, C16, C18:1 karnitin düzeylerinde önemli değişimler görülmedi.

Yüksek grade astrositomlarla düşük grade astrositomlar arasındaki fark incelendiğinde ise düşük grade astrositomlarda C2, C18 ve C18:1 karnitin düzeyleri anlamlı derecede düşme gösterdi, C16:1 karnitin düzeyi arttı, diğerlerinde önemli bir fark yoktu.

GBM ve astrositom grubu karşılaştırıldığında, astrositomlarda GBM'ye göre (yüksek grade astrositomalarda C16:1 hariç) çoğu karnitin düzeyinde azalma görüldü.

Peritümöral doku grubunun ve malign, atipik, klasik menenjiyom tümör gruplarının; serbest karnitin, C2, C3, C4, C5, C6, C8, C10, C12, C14:1, C14, C16:1, C16, C18:1, C18, C20:4 karnitin düzeyleri ise Tablo 7'de verildi ve karşılaştırıldı.

**Tablo 7.** Peritümöral Doku Grubu ve Menenjiyom Tümör Gruplarının Karnitin Değerleri  
( Ortalama  $\pm$  SD )

<i>Açilkarnitin Deriveleri</i>	<i>Peritümöral Doku (nmol/gr.yaş doku)</i>	<i>Malign Menenjiyom (nmol/gr.yaş doku)</i>	<i>Atipik Menenjiyom (nmol/gr.yaş doku)</i>	<i>Klasik Menenjiyom (nmol/gr.yaş doku)</i>
Serbest Karnitin	125,4 $\pm$ 34,6	66,5 $\pm$ 12,7 <sup>b</sup>	69,8 $\pm$ 22,3 <sup>a</sup>	75,9 $\pm$ 19,6 <sup>b</sup>
C2	70,2 $\pm$ 17,6	52,0 $\pm$ 13,2 <sup>a</sup>	57,4 $\pm$ 21,7	89,2 $\pm$ 24,3 <sup>d</sup>
C3	2,0 $\pm$ 0,9	1,1 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	2,5 $\pm$ 0,5 <sup>c</sup>	2,1 $\pm$ 0,5 <sup>d</sup>
C4	5,0 $\pm$ 1,5	4,2 $\pm$ 1,6	2,5 $\pm$ 1,7	5,1 $\pm$ 1,3
C5	2,2 $\pm$ 0,7	0,31 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>	0,28 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>	0,52 $\pm$ 0,12 <sup>b,d,e</sup>
C6	1,3 $\pm$ 0,4	0,87 $\pm$ 0,09 <sup>b</sup>	1,03 $\pm$ 0,6	1,03 $\pm$ 0,28 <sup>a</sup>
C8	0,15 $\pm$ 0,07	0,10 $\pm$ 0,02	0,16 $\pm$ 0,08	0,11 $\pm$ 0,3
C10	0,36 $\pm$ 0,10	0,13 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>	0,11 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	0,10 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>
C12	1,02 $\pm$ 0,50	0,31 $\pm$ 0,13 <sup>b</sup>	0,40 $\pm$ 0,19 <sup>a</sup>	0,34 $\pm$ 0,14 <sup>b</sup>
C14:1	0,35 $\pm$ 0,16	0,18 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	0,16 $\pm$ 0,09	0,13 $\pm$ 0,03 <sup>b,d</sup>
C14	2,1 $\pm$ 1,0	0,48 $\pm$ 0,21 <sup>b</sup>	0,48 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	0,54 $\pm$ 0,20 <sup>b</sup>
C16:1	0,65 $\pm$ 0,37	0,19 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>	0,22 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,27 $\pm$ 0,11 <sup>b</sup>
C16	4,2 $\pm$ 1,9	1,6 $\pm$ 0,7 <sup>b</sup>	3,4 $\pm$ 0,6 <sup>c</sup>	2,7 $\pm$ 1,1 <sup>d</sup>
C18:1	2,5 $\pm$ 1,3	1,3 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>	1,9 $\pm$ 0,07	1,9 $\pm$ 0,8
C18	2,3 $\pm$ 0,9	1,3 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	2,6 $\pm$ 0,1 <sup>c</sup>	2,8 $\pm$ 1,0 <sup>d</sup>
C20:4	0,35 $\pm$ 0,15	0,07 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>	0,10 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	0,10 $\pm$ 0,03 <sup>b,c</sup>

\* Peritümöral doku grubu ile Menenjiyom tümör gruplarının karşılaştırılması

<sup>a</sup> p < 0,05 - <sup>b</sup> p < 0,01

\* Malign Menenjiyom tümör grubu ile Atipik Menenjiyom ve Klasik Menenjiyom tümör gruplarının karşılaştırılması <sup>c</sup> p < 0,05 - <sup>d</sup> p < 0,01

\* Atipik Menenjiyom ve Klasik Menenjiyom tümör gruplarının karşılaştırılması

<sup>e</sup> p < 0,05

Menenjiyomlar peritümöral dokularla karşılaştırıldığında karnitin düzeyleri daha düşük tespit edildi. Malign menenjiyomalar ve klasik menenjiyomalar arasında C2, C3, C5, C16, C18, C20:4 karnitin düzeylerinin malign menenjiyomalarda klasik menenjiyomalara göre azaldığı görüldü ve bu da daha benign karakterde olan klasik menenjiyomalarda kısa ve uzun zincirli karnitin düzeylerinin yükseldiğini göstermektedir.

GBM, malign, atipik ve klasik menenjiyom tümör gruplarının; serbest karnitin, C2, C3, C4, C5, C6, C8, C10, C12, C14:1, C14, C16:1, C16, C18:1, C18, C20:4 karnitin düzeyleri ise Tablo 8'de karşılaştırıldı.

**Tablo 8.** Glioblastoma Multiforme Tümör Grubu İle Menenjiyom Tümör Gruplarının Karnitin Değerleri ( Ortalama  $\pm$  SD )

<i>Açilkarnitin Deriveleri</i>	<i>Glioblastoma Multiforme (nmol/gr.yaş doku)</i>	<i>Malign Menenjiyom (nmol/gr.yaş doku)</i>	<i>Atipik Menenjiyom (nmol/gr.yaş doku)</i>	<i>Klasik Menenjiyom (nmol/gr.yaş doku)</i>
Serbest Karnitin	152,0 $\pm$ 82,0	66,5 $\pm$ 12,7 <sup>a</sup>	69,8 $\pm$ 22,3	75,9 $\pm$ 19,6 <sup>b</sup>
C2	65,7 $\pm$ 26,8	52,0 $\pm$ 13,2	57,4 $\pm$ 21,7	89,2 $\pm$ 24,3 <sup>b</sup>
C3	6,5 $\pm$ 2,9	1,1 $\pm$ 0,4 <sup>b</sup>	2,5 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>	2,1 $\pm$ 0,5 <sup>b</sup>
C4	8,1 $\pm$ 3,7	4,2 $\pm$ 1,6 <sup>b</sup>	2,5 $\pm$ 1,7 <sup>a</sup>	5,1 $\pm$ 1,3 <sup>b</sup>
C5	3,3 $\pm$ 1,2	0,31 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>	0,28 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>	0,52 $\pm$ 0,12 <sup>b</sup>
C6	1,5 $\pm$ 0,6	0,87 $\pm$ 0,09 <sup>b</sup>	1,03 $\pm$ 0,6	1,03 $\pm$ 0,28 <sup>b</sup>
C8	0,13 $\pm$ 0,05	0,10 $\pm$ 0,02	0,16 $\pm$ 0,08	0,11 $\pm$ 0,3
C10	0,19 $\pm$ 0,08	0,13 $\pm$ 0,05	0,11 $\pm$ 0,04	0,10 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>
C12	0,95 $\pm$ 0,50	0,31 $\pm$ 0,13 <sup>b</sup>	0,40 $\pm$ 0,19	0,34 $\pm$ 0,14 <sup>b</sup>
C14:1	0,51 $\pm$ 0,20	0,18 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>	0,16 $\pm$ 0,09 <sup>a</sup>	0,13 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>
C14	1,5 $\pm$ 0,6	0,48 $\pm$ 0,21 <sup>b</sup>	0,48 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	0,54 $\pm$ 0,20 <sup>b</sup>
C16:1	1,15 $\pm$ 0,58	0,19 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>	0,22 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,27 $\pm$ 0,11 <sup>b</sup>
C16	11,6 $\pm$ 5,5	1,6 $\pm$ 0,7 <sup>b</sup>	3,4 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>	2,7 $\pm$ 1,1 <sup>b</sup>
C18:1	5,4 $\pm$ 1,7	1,3 $\pm$ 0,5 <sup>b</sup>	1,9 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>	1,9 $\pm$ 0,8 <sup>b</sup>
C18	9,7 $\pm$ 3,1	1,3 $\pm$ 0,4 <sup>b</sup>	2,6 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	2,8 $\pm$ 1,0 <sup>b</sup>
C20:4	0,34 $\pm$ 0,09	0,07 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>	0,10 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	0,10 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>

\* Glioblastoma Multiforme tümör grubu ile Menenjiyom tümör gruplarının karşılaştırılması

<sup>a</sup> p < 0,05 - <sup>b</sup> p < 0,01

GBM ve menenjiyomalar karşılaştırıldığında, menenjiyomalarda (klasik menenjiyomlarda C2 karnitin düzeyi hariç) daha düşük karnitin düzeyleri tespit edildi.

Yüksek grade astrositoma, malign, atipik ve klasik menenjiyom tümör gruplarının; serbest karnitin, C2, C3, C4, C5, C6, C8, C10, C12, C14:1, C14, C16:1, C16, C18:1, C18, C20:4 karnitin düzeyleri ise Tablo 9'da karşılaştırıldı.

**Tablo 9.** Yüksek Grade Astrositoma Tümör Grubu İle Menenjiyom Tümör Gruplarının Karnitin Değerleri ( Ortalama  $\pm$  SD )

<i>Açilkarnitin Deriveleri</i>	<i>Yüksek Grade Astrositoma (nmol/gr.yaş doku)</i>	<i>Malign Menenjiyom (nmol/gr.yaş doku)</i>	<i>Atipik Menenjiyom (nmol/gr.yaş doku)</i>	<i>Klasik Menenjiyom (nmol/gr.yaş doku)</i>
Serbest Karnitin	67,1 $\pm$ 31,0	66,5 $\pm$ 12,7	69,8 $\pm$ 22,3	75,9 $\pm$ 19,6
C2	56,7 $\pm$ 16,9	52,0 $\pm$ 13,2	57,4 $\pm$ 21,7	89,2 $\pm$ 24,3 <sup>b</sup>
C3	1,1 $\pm$ 0,5	1,1 $\pm$ 0,4	2,5 $\pm$ 0,5	2,1 $\pm$ 0,5 <sup>b</sup>
C4	4,1 $\pm$ 1,8	4,2 $\pm$ 1,6	2,5 $\pm$ 1,7	5,1 $\pm$ 1,3
C5	1,3 $\pm$ 0,8	0,31 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>	0,28 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>	0,52 $\pm$ 0,12 <sup>b</sup>
C6	0,8 $\pm$ 0,2	0,87 $\pm$ 0,09	1,03 $\pm$ 0,6	1,03 $\pm$ 0,28
C8	0,08 $\pm$ 0,03	0,10 $\pm$ 0,02	0,16 $\pm$ 0,08	0,11 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>
C10	0,11 $\pm$ 0,05	0,13 $\pm$ 0,05	0,11 $\pm$ 0,04	0,10 $\pm$ 0,03
C12	0,39 $\pm$ 0,18	0,31 $\pm$ 0,13	0,40 $\pm$ 0,19	0,34 $\pm$ 0,14
C14:1	0,43 $\pm$ 0,24	0,18 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>	0,16 $\pm$ 0,09	0,13 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>
C14	1,4 $\pm$ 0,8	0,48 $\pm$ 0,21 <sup>a</sup>	0,48 $\pm$ 0,05	0,54 $\pm$ 0,20 <sup>b</sup>
C16:1	1,60 $\pm$ 0,86	0,19 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>	0,22 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,27 $\pm$ 0,11 <sup>b</sup>
C16	8,5 $\pm$ 4,0	1,6 $\pm$ 0,7 <sup>b</sup>	3,4 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>	2,7 $\pm$ 1,1 <sup>b</sup>
C18:1	4,8 $\pm$ 1,3	1,3 $\pm$ 0,5 <sup>b</sup>	1,9 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>	1,9 $\pm$ 0,8 <sup>b</sup>
C18	4,3 $\pm$ 1,3	1,3 $\pm$ 0,4 <sup>b</sup>	2,6 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	2,8 $\pm$ 1,0 <sup>a</sup>
C20:4	0,10 $\pm$ 0,05	0,07 $\pm$ 0,02	0,10 $\pm$ 0,03	0,10 $\pm$ 0,03

\* Yüksek Grade Astrositoma tümör grubu ile Menenjiyom tümör gruplarının karşılaştırılması

<sup>a</sup> p < 0,05 - <sup>b</sup> p < 0,01

Yüksek grade astrositomalar ile klasik – malign menenjiyomalar karşılaştırıldığında klasik menenjiyomalarda C2, C3 karnitinlerde önemli yükselmeler, uzun zincirlielerde (C14:1, C14, C16:1, C16, C18:1, C18) ise düşme görüldü.

Düşük grade astrositoma, malign, atipik ve klasik menenjiyom tümör gruplarının; serbest karnitin, C2, C3, C4, C5, C6, C8, C10, C12, C14:1, C14, C16:1, C16, C18:1, C18, C20:4 karnitin düzeyleri ise Tablo 10'da karşılaştırıldı.

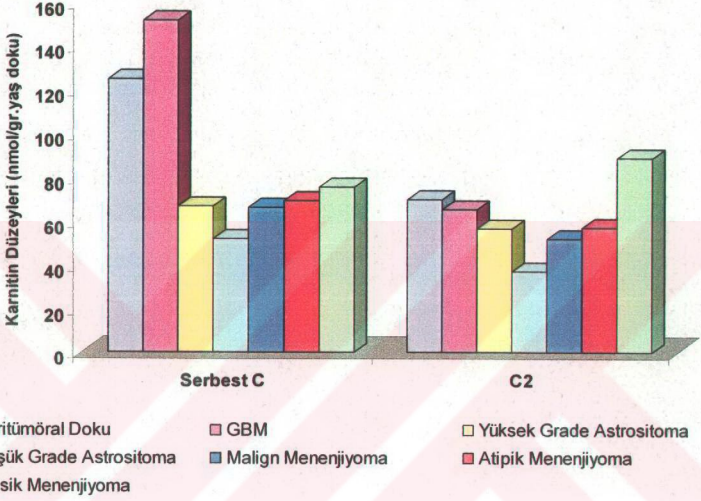
**Tablo 10.** Düşük Grade Astrozitoma Tümör Grubu İle Menenjiyom Tümör Gruplarının Karnitin Değerleri ( Ortalama  $\pm$  SD )

<i>Açilkarnitin Deriveleri</i>	<i>Düşük Grade Astrozitoma (nmol/gr.yaş doku)</i>	<i>Malign Menenjiyom (nmol/gr.yaş doku)</i>	<i>Atipik Menenjiyom (nmol/gr.yaş doku)</i>	<i>Klasik Menenjiyom (nmol/gr.yaş doku)</i>
Serbest Karnitin	52,0 $\pm$ 19,0	66,5 $\pm$ 12,7	69,8 $\pm$ 22,3	75,9 $\pm$ 19,6 <sup>b</sup>
C2	37,5 $\pm$ 9,4	52,0 $\pm$ 13,2	57,4 $\pm$ 21,7 <sup>a</sup>	89,2 $\pm$ 24,3 <sup>b</sup>
C3	1,1 $\pm$ 0,4	1,1 $\pm$ 0,4	2,5 $\pm$ 0,5	2,1 $\pm$ 0,5 <sup>b</sup>
C4	2,8 $\pm$ 0,9	4,2 $\pm$ 1,6	2,5 $\pm$ 1,7	5,1 $\pm$ 1,3 <sup>b</sup>
C5	1,0 $\pm$ 0,3	0,31 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>	0,28 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>	0,52 $\pm$ 0,12 <sup>b</sup>
C6	0,8 $\pm$ 0,4	0,87 $\pm$ 0,09	1,03 $\pm$ 0,6	1,03 $\pm$ 0,28
C8	0,08 $\pm$ 0,04	0,10 $\pm$ 0,02	0,16 $\pm$ 0,08	0,11 $\pm$ 0,3
C10	0,10 $\pm$ 0,03	0,13 $\pm$ 0,05	0,11 $\pm$ 0,04	0,10 $\pm$ 0,03
C12	0,36 $\pm$ 0,09	0,31 $\pm$ 0,13	0,40 $\pm$ 0,19	0,34 $\pm$ 0,14
C14:1	0,35 $\pm$ 0,10	0,18 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>	0,16 $\pm$ 0,09 <sup>a</sup>	0,13 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>
C14	0,9 $\pm$ 0,3	0,48 $\pm$ 0,21 <sup>a</sup>	0,48 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	0,54 $\pm$ 0,20 <sup>b</sup>
C16:1	0,73 $\pm$ 0,28	0,19 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>	0,22 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,27 $\pm$ 0,11 <sup>b</sup>
C16	5,9 $\pm$ 1,4	1,6 $\pm$ 0,7 <sup>b</sup>	3,4 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>	2,7 $\pm$ 1,1 <sup>b</sup>
C18:1	2,9 $\pm$ 0,5	1,3 $\pm$ 0,5 <sup>b</sup>	1,9 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>	1,9 $\pm$ 0,8 <sup>a</sup>
C18	1,6 $\pm$ 0,4	1,3 $\pm$ 0,4	2,6 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	2,8 $\pm$ 1,0 <sup>b</sup>
C20:4	0,10 $\pm$ 0,04	0,07 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	0,10 $\pm$ 0,03	0,10 $\pm$ 0,03

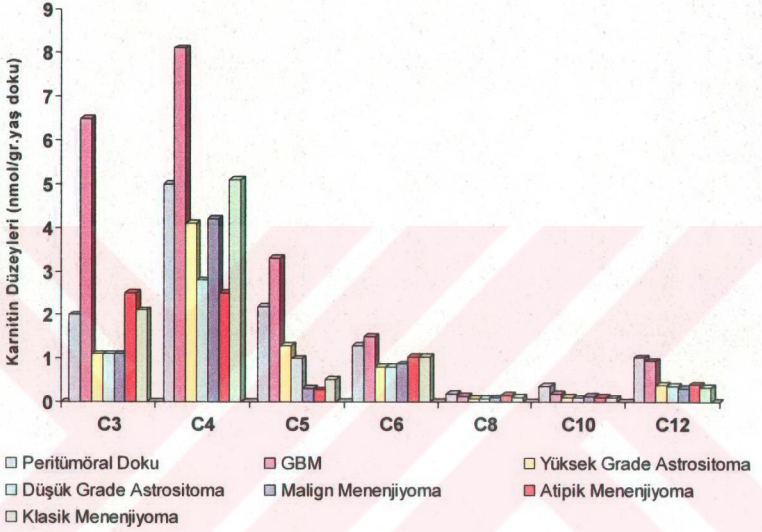
\* Düşük Grade Astrozitoma tümör grubu ile Menenjiyom tümör gruplarının karşılaştırılması

<sup>a</sup> p < 0,05 - <sup>b</sup> p < 0,01

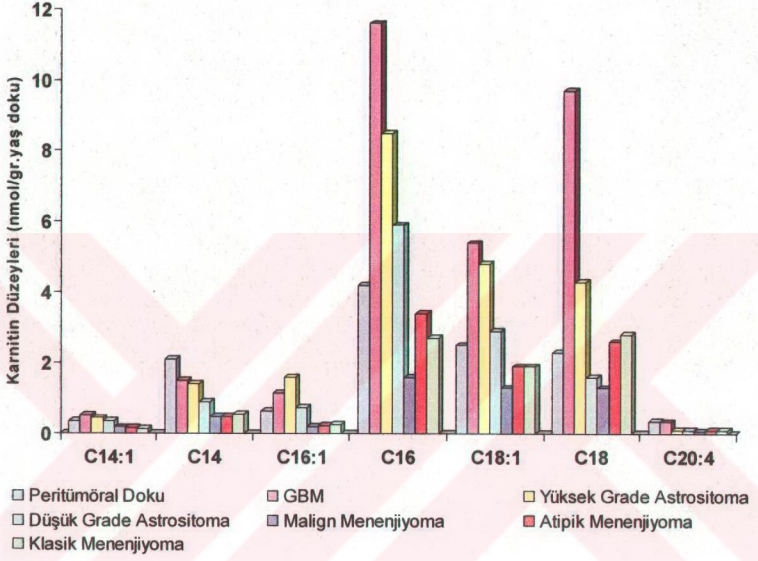
Düşük grade astrositomalar ile menenjiyomalar karşılaştırıldığında ise özellikle uzun zincirli karnitinlerin (C14:1, C14, C16:1, C16, C18:1) tüm menenjiyomalarda düşme gösterdiği bulundu. Klasik menenjiyomlarda ise serbest karnitin, C2, C3, C4 karnitin düzeyleri. düşük grade astrositomalara göre artarken, orta zincirli karnitin düzeylerinde önemli bir farka rastlanmamıştır.



Şekil 13. Peritümöral Doku ve Tümör Gruplarının Serbest Karnitin ve C2 Karnitin Düzeyleri

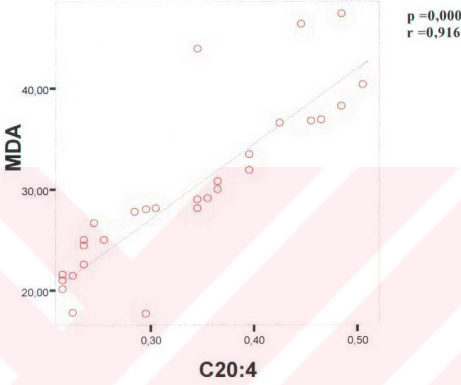


Şekil 14. Peritümöral Doku ve Tümör Gruplarının Serbest Karnitin ve C3, C4, C5, C6, C8, C10, C12 Karnitin Düzeyleri

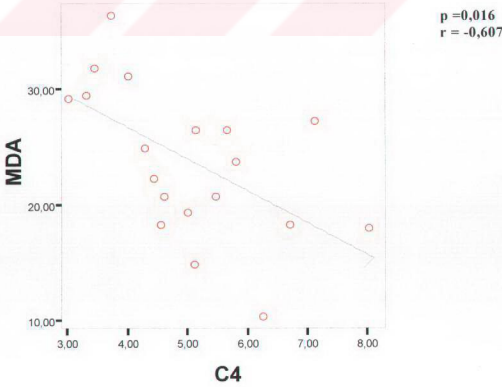


**Şekil 15.** Peritümöral Doku ve Tümör Gruplarının Serbest Karnitin ve C14:1, C14, C16:1, C16, C18:1, C18, C20:4 Karnitin Düzeyleri

Veriler arasındaki korelasyonu incelemek için yaptığımız Spearman Korelasyon analizinde GBM’de MDA düzeyleri ile C20:4 düzeyleri korele bir şekilde artmıştır. Klasik menenjiyomalarda, C4 düzeyi azalırken MDA düzeyleri artmıştır. Diğer parametreler arasında korelasyon bulunmamıştır.



Şekil 16. GBM’de MDA ile C20:4 karnitin arasındaki korelasyon



Şekil 17. Klasik menenjiyomalarda MDA ile C4 karnitin arasındaki korelasyon

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Beyin dokusu, yüksek miktarlarda oksijen tüketmesi, düşük düzeylerde antioksidan savunma sistemine sahip olması, yüksek konsantrasyonlarda Fe ve poliansature yağ asidi içermesi gibi nedenlerle oksidatif hasara özellikle duyarlıdır. Ayrıca, beyin vücudun en aktif organlarından birisidir ve vücuda giren total oksijen miktarının %20'sinden fazlasını tüketmektedir. Bu nedenle beyinde diğer organlardan daha fazla miktarlarda ROS üretimi gerçekleşmektedir.<sup>74</sup>

Beyin dokusunun, serbest radikal hasarına duyarlı olması bu organı kritik bir hedef haline getirmiştir. ROS, bu organın patolojik durumlarının bir kısmının etyopatogenezinden sorumlu tutulmaktadır. Alzheimer demansı, Parkinson hastalığı, Multiple Skleroz gibi nörodejeneratif hastalıklarda ve beyin travması, iskemisi, toksisitesi gibi durumların ilerleyen doku hasarında serbest radikallerin rolü olduğu konusunda kanıtlar artmaktadır.<sup>67</sup> Dokunun oksidatif strese duyarlılığı ve serbest radikallerin onkogenezis üzerine etkisi, beyin tümörleri ile oksidatif stres arasındaki ilişkiyi incelemek gerektiğini düşündürmektedir.<sup>122</sup>

Malign hastalıklarda çoğunlukla cerrahi olarak tümörün çıkarılması ve histopatolojik evreleme ile hastalığın tanı ve takibi yapılmaktadır. Serbest oksijen radikallerinin de neoplastik hastalıkların tanı ve takibinde, tümörün malignite derecesini belirlemede tümör markırı olarak kullanılıp kullanılmayacağı araştırmalara konu olmuştur.<sup>47</sup>

Serbest oksijen radikallerinin ve lipid peroksidasyonun hücre membran hasarına yol açtığı ve onkogenesisde rol oynadığı düşünülmektedir.<sup>109</sup> Reaktif oksijen türlerinin akciğer kanseri, hepatosellüler karsinoma ve prostat kanseri gibi çeşitli patolojilerde yer aldığı bilinmektedir.<sup>148</sup> Beyin oksidatif strese yatkın olan bir organ olduğuna göre serbest oksijen radikallerinin beyin tümörlerinin patogenezinde de rol oynayabileceği

düşünülmektedir. Bugüne kadar çeşitli beyin tümörlerinde yapılan çalışmalarda, MDA düzeyleri ve antioksidan yapılarla ilgili farklı sonuçlar elde edilmiştir.<sup>47,100,109,113,116,129,150,153</sup>

Pu ve ark.<sup>150</sup>; Cu,Zn-SOD , Mn-SOD, katalaz (CAT), GSH-Px aktivitelerini inceledikleri çalışmalarında : Cu,Zn-SOD , Mn-SOD düzeylerinde menenjiyoma, düşük ve yüksek grade astrositomalar ve medullablastomada normal beyin dokusuna göre azalma; yüksek ve düşük grade astrositomalarda ve menenjiomalarda ise CAT değerlerinde artma görmüşlerdir. GSH-Px düzeyleri ise menenjiomalarda artarken gliomalarda değişmemiştir. Landolt ve ark.<sup>116</sup>; nonneoplastiklerle neoplastik örnekleri karşılaştırdıklarında askorbik asit, glutatyon ve sistein düzeylerinin belirgin olarak azaldığını bulmuşlardır. Matsumoto ve ark.<sup>129</sup>; glioblastoma ve menenjiyomalar, grade II veya III astrositomalar ve menenjiyomalar, normal beyin dokusu ve menenjiyomalar arasında glutatyon (GSH) miktarlarında istatistiksel olarak önemli farklılıklar bulmuşlardır. Kökoğlu ve ark.<sup>109</sup>, tümör tiplerinin farklılaşmasında önemli rolü olan ksantin oksidaz aktivitesinin tümöral beyin dokusunda daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Kudo ve arkadaşları<sup>113</sup>, glioblastoma ve astrositomalarda GSH konsantrasyonunun normal beyne göre azaldığını belirtmişlerdir. Menenjiomalarda ise GSH konsantrasyonlarını kontrol dokusuna göre daha yüksek bulmuşlardır. Multiple myelom, germinom ve küçük hücreli karsinom gibi radyosensitiv tümörlerde düşük GSH konsantrasyonları göstermişlerdir. Ikeda ve Long<sup>100</sup>, serbest oksijen radikallerinin peritümoral beyin ödemine neden olan major faktör olup olmadığını inceledikleri çalışmalarında net sonuçlar elde edememişler ve beyin tümör hücrelerinde serbest oksijen radikallerinin gösterilmesinde daha ileri çalışmalara ihtiyaç olduğunu belirtmişlerdir.

Cirak ve ark.<sup>47</sup> serebral tümörlerde yaptıkları bir çalışmada; oksidatif stres ve lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA düzeylerini, hem tümör dokusunda hem de tümörlü hastaların serumunda sağlıklı kontrollere ve epilepsili kontrol hastalarına göre arttığını belirtmişler ve serbest radikallerin beyin tümörlerinin onkogeneziinde rol oynadığını ileri sürmüşlerdir.

Rao ve ark.<sup>153</sup>, beyin tümörlü hastalarda serum lipid peroksidasyonunu inceledikleri çalışmalarında, benign ve malign tümör hastalarında lipid peroksidatif hasarda çok farklılık bulamamışlardır. Bununla beraber tedavi sonrası eritrosit TBARS düzeyleri iyi prognoz gösteren benign vakalarda (menenjiyom) belirgin bir şekilde azalırken gliomalı hastalarda böyle bir azalma görülmemiştir.

Bizim çalışmamızda ise peritümöral doku grubu ile tümör grupları kıyaslandığında; malign menenjiyom ve klasik menenjiyom tümör gruplarının MDA düzeyleri, peritümöral doku grubuna göre düşüktü. Ayrıca GBM ile menenjiyomlar karşılaştırıldığında, klasik menenjiyom tümör grubunda GBM ye göre daha düşük MDA düzeyleri tespit edildi. Bunun dışındaki grupların MDA düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar görülmedi (Tablo 4).

MDA içeren çeşitli aldehitlerin, nükleik asitlerle reaksiyona girdiğine ve mutogenez ve karsinogenezise katkıda bulunduğuna dair çalışmalar içinde; Petruzelli ve ark.<sup>148</sup>, akciğer kanseri doku örneklerinde MDA konsantrasyonunun belirgin bir şekilde arttığını göstermişlerdir. Özkan ve ark.<sup>143</sup>, akciğer kanserinde serum MDA konsantrasyonlarını kontrol grubuna göre daha fazla bulmuşlardır.

Louw ve ark.<sup>122</sup>, düşük grade ve yüksek grade astrositomalarda TBARS total GSH düzeylerini ölçmüşler ve düşük grade'li astrositomalarda yüksek grade'li olanlara ve epileptik beyin dokularına göre belirgin olarak yüksek bulmuşlardır. Bu farklılığın

nedenini şöyle açıklamışlardır: Yüksek grade'li lezyonlardaki zayıf oksidatif metabolizma agonal hücrel aktivitenin bir kanıtı olabilir. Yüksek grade'li astrositomalar enerji metabolizmalarında, oksidatif fosforilyondan ziyade glikolizi tercih etmektedirler ve böylelikle oksijen kullanımı ve serbest oksijen radikal oluşumu azalmaktadır. Bu da oksijenden zayıf ortamda tümör hücresinin varlığını sürdürme yeteneğini güçlendirmektedir. Yüksek grade'li tümörlerde belirgin şekilde az mitokondri olması, hücrenin major fizyolojik serbest radikal kaynağını sınırlamaktadır.<sup>128</sup> Tüm bu faktörler yüksek grade'li tümör hücrelerindeki oksidatif stresi en aza indirmektedir. Bunların tersine, düşük gradeli astrositoma hücreleri bilinen enerji ve substrat metabolizmalarına dayanmaktadır ve bu da serbest radikal üretimini artırmaktadır. Hücreler onkogenesinin metabolik yüküne oldukça kuvvetli oksijen radikal oluşumuyla cevap vermektedirler. Oksidatif stresteeki artış, lipid peroksidasyonundaki artışı ve GSH ve peroksizomal katalaz gibi mekanizmaların harekete geçmesini yansıtmaktadır. Matute ve ark.<sup>130</sup>, düşük gradeli astrositoma hücrelerinin glioblastoma hücrelerinin tersine anlamlı sayıda fonksiyonel glutamat reseptörleri içerdiğini bildirmişlerdir. Glutamat reseptör aktivasyonu serbest radikal kaskadlarının başlangıcı için sinyal kanalları oluşturmaktadır.<sup>91</sup> Özellikle yavaş seyirli düşük gradeli astrositoma vakalarında malign transformasyonu inhibe eden yüksek düzeyde antioksidan aktivitenin olduğunu bildirmişlerdir.<sup>122</sup> Yüksek düzeylerdeki serbest radikallerin mutajenik etkisi hızlı bir antioksidan cevapla engellenmektedir. Yüksek grade'li astrositomalarda gözleendiği gibi antioksidan düzeylerdeki azalmanın malign progresyonu ilerletebildiği öne sürülmüştür. Karsinogenezis süreci ile ilgili daha birçok bilinmeyen ve çözülmemiş nokta mevcuttur.

Louw ve arkadaşları<sup>122</sup>, serbest radikallerin karsinogenezis için gerekli olduğunu fakat astrositoma gelişiminde tek başına bir neden olarak yeterli olmadıklarını

belirtmişlerdir. Bu araştırmacıların çalışmalarında TBARS düzeylerinin, düşük grade astrositomalarda tümörün yüzeyinde tümörün merkezinden daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bizim alışmamızda da peritümöral dokunun MDA düzeyleri, GBM ve yüksek grade astrositomanın MDA düzeylerine yakındır. Glial tümör grubunda istatistiksel olarak anlamlı olmasa da malignite azaldıkça MDA düzeyleri de azalmıştır. Menenjiomlarda ise peritümöral dokuya, GBM ye ve astrositomalara göre MDA düzeyi daha düşük bulunmuştur (Tablo 5).

Sonuçlarımız MDA düzeyleri açısından aynı tip tümör dokularında malign benign farkının pek olmadığını desteklerken, malignitesi yüksek GBM ile daha az malign kabul edilen klasik menenjiyomaların daha düşük MDA değerlerine sahip olması malignite ile MDA düzeyleri arasında bir ilişki olabileceğini düşündürmektedir. Diğer tümör tiplerinde hasta sayısının artmasıyla istatistiksel açıdan anlamlı değerler çıkabileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca literatürdeki çalışmalarda, MDA düzeylerindeki farklı sonuç ve yorumlarda hasta sayısının, kullanılan MDA lm yöntemlerinin de etkisi olabileceği görülmektedir.

Son yıllarda tıbbın çeşitli tedavi alanlarında yer alan karnitin ve karnitin ailesterlerinin serbest radikal toksitesine karşı korumada, biyokimyasal defans mekanizmalarının bir parçası olarak öne sürülmesi ilgi çekmektedir. Atletik performansın arttırılmasında, vejeteryanizmin neden olduğu eksiklikde, kalp hastalıklarında, hemodiyalizde, kalıtsal karnitin eksikliğinde, tümörlerde kan glutasyon seviyesinin arttırılmasında, kilo kaybında, erkek infertilitesi, periferel arter hastalıkları, valproat toksisitesi, septik çok, kronik yetmezlik sendromu, Alzheimer demansı, yaşlılarda depresyon, HIV enfeksiyonu, diyabetik nöropati ve katarakt, beynin iskemi ve reperfüzyonu gibi durumların tedavisinde ve alkolizmin bilişsel bozukluklarında yararlı

olabileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur.<sup>17,38,59,61,82,123,126,163,164,176</sup> Karnitin ve bazı açıl esterlerinin, hücrel hasara neden olan serbest radikallerin yer aldığı patolojik durumlarda da yararlı etkilerinin olduğu belirtilmektedir. Kalbin iskemik ve reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkileri olduğu hayvan ve insan çalışmalarında gösterilmiştir.<sup>119</sup> Ayrıca invitro kanıtlar da asid insolubl açilkarnitin (AICAR, uzun zincirli açilkarnitinler)'in direkt antioksidan aktivite sağladığı düşüncesini desteklemektedir.<sup>83</sup>

Antioksidan biyokimyasal ağ, iki farklı düzeyde çalışan bir sistem olarak tarif edilebilir. Primer defans sistemi, başlangıç oksijen radikal türlerini ortadan kaldırarak ve radikal çoğalma reaksiyonlarını sonlandırarak oksidatif hasardan korur. Sekonder defans sistemi, oksidatif saldırıdan sonra ortaya çıkan hasarı onarır. Çeşitli antioksidan bileşikler (vitamin E, β-karoten, askorbik asit ve ürik asit) ve antioksidan enzimler (SOD, katalaz ve GPx) serbest radikallere karşı ilk bariyer olarak değerlendirilirler. Bu sistemin başarısızlığı, okside ürünlerin oluşumuyla son bulmaktadır. Bu aşamada sekonder antioksidan ağın veya onarım sisteminin ekspresyonu, oksidatif olarak modifiye olan bu molekülleri ortadan kaldırarak, uygun hücrel bütünlüğün tekrar kazanılmasını sağlar. Arduini ve arkadaşları<sup>11,13,151</sup>, yaptıkları çalışmalardan elde ettikleri verilere dayanarak, karnitin ve esterlerinin rolünün, membran fosfolipidlerinin oksidatif hasarı sırasındaki onarım mekanizmaları içinde aranması gerektiğini belirtmişlerdir. Membran fosfolipidlerinde esterleşmiş poliansatüre yağ asitlerinin peroksidasyonunun ardından fosfolipid-yag asidi döngüsünde artış olduğu gösterilmiştir<sup>169</sup> Bunun iki aşamalı bir prosesle gerçekleştiği bildirilmiştir: 1)Spesifik bir fosfolipaz ile okside yağ asidinin uzaklaştırılması 2)AçilKoA-lizofosfolipid açiltransferazla taşınan lizofosfolipid üzerine bir yağ asidi birleştirilmesi. Reaçilasyon sırasında (2. aşama) açiltransferaz açilKoA yı substrat olarak kullanır. Bu açil-KoA, ATP-bağımlı reaksiyon sırasında açilKoA ligaz ile oluşur.

Deaçilasyon–reaçilasyon aktivitesi sekonder antioksidan defans sisteminin major komponenti olarak değerlendirilir. Primer antioksidan defans sistemi, membran bileşiklerinin oksidatif hasarından sorumlu olan oksidanların tamamını ortadan kaldıramazsa bu sekonder sistem tetiklenir.<sup>14</sup>

Arduini ve ark.<sup>13</sup> son çalışmalarında, palmitoil-L-karnitin (C16) ve diğer uzun zincirli açilkarnitinlerin, eritrosit membran fosfolipidlerinin reaçilasyon yolunda metabolik araçlar olduğunu göstermişlerdir. Bu proses ATP yokluğunda devreye girer. Bu da uzun zincirli açilkarnitinlerin lizofosfolipidlerin reaçilasyonu için gereken intrasellüler yağ asitlerinin önemli bir havuzu olduğunu düşündürmektedir. Karnitin palmitoil transferaz (CPT) da açil akışını düzenler. Kırmızı kan hücrelerinin ATP içeriğinde, kontrol değerlerine göre %20lik düşüş palmitik asidin fosfotidilkolinle ve fosfotidiletanolaminle birleşmesini etkilemezken, C16 karnitin içeriğinde çok dramatik bir azalma gerçekleştirir.<sup>11</sup> Bu sonuç, C16 karnitin reaçilasyon prosesleri için ek bir yağ asit havuzu olarak görev yaptığını akla getirmektedir. Eritrosit CPT'nin substrat spesifikliğı, mikrozomal veya dış mitokondriyal spesifiteden farklıdır. Eritrosit membranında yaygın olarak bulunan uzun zincirli ansature yağ asitlerine artmış aktivite gösterir.<sup>151</sup>

Membran fosfolipidlerine serbest radikal saldırısı lizofosfolipidlerin birikimine yol açar. Fizyolojik membran yapısı ve fonksiyonlarının korunabilmesi için deaçilasyon ve reaçilasyon aktiviteleri arasında uygun bir denge sağlanması kritik önem taşır. CPT'nin açil akışını düzenlemesiyle ilişkili olan karnitin ve uzun zincirli esterleri, oksidatif hasar sırasında hücre yaşamı için mutlaka gereklidir.<sup>14</sup>

Karnitinin koruyucu etkileri lipid metabolizmasındaki rolüyle ilişkilidir. Karnitin ve türevlerinin miyokardiyal iskeminin seyrinde veya iskemi-reperfüzyon hasarı sırasında metabolik parametrelerin ve miyokardiyal fonksiyonun düzelmesini sağladığı

bilinmektedir.<sup>35,38,121,142</sup> Reznick ve ark.<sup>159</sup>, L-propiyonil karnitinin (C3) ikili bir mekanizma ile kalbi koruduğunu ileri sürmektedirler: 1)Hidroksil radikallerinin üretimi için gerekli demiri bağlama 2)Etkin bir enerji kaynağı gibi görev yapma. Karnitinin doksorubusin–uyarımlı kalp lipid peroksidasyonunu<sup>125</sup> ve C3 karnitinin de iskemi-reperfüzyon hasarı sırasında rat kalbinde lipoperoksit oluşumunu azaltması<sup>145,159</sup>, bunları desteklemektedir. Karnitinin beyin üzerine de koruyucu etkisi gösterilmiştir, fakat koruyucu etkisinin niteliği tam olarak aydınlatılamamıştır. Koudelová ve ark.<sup>110</sup>, karnitinin rat beyin lipid peroksidasyonu üzerine koruyucu etkisi olduğunu ve düşük basınçlı hipoksiye maruziyetten sonra nöron eksitabilitesinin kısmen iyileşmesine neden olduğunu bulmuşlardır. Karnitinin, hücre membran fosfolipidleri üzerine stabilizasyon etkisi ve hücre enerji metabolizması üzerine düzenleyici etkisinden dolayı serbest radikal oluşumunu baskılamaya yardım ettiğini düşünmektedirler. Karnitinin, oksijen serbest radikallerine karşı hem nöronların korunmasında önemli bir rol oynayan enerji metabolizmasının düzenleyerek, hem de endojen temizleyici bir sistem olarak etki ettiğini belirtmişlerdir.<sup>154</sup>

Kanser hastalarında özellikle de ilerlemiş akciğer ve meme kanseri olan hastalarda serum açil karnitin konsantrasyonlarında azalma aynı zamanda açil karnitin renal klirensinde artış olduğu tespit edilmiştir.<sup>165</sup> Serum ve idrar karnitin düzeyinin metabolik değişikliklerden etkilendiğinin tespit edilmesinden bu yana; yüksek açilkarnitin klirensi ve AICAR ekskresyonunun, kanser hastalarının metabolik durumu hakkında bilgi verebileceğini düşündürmektedir.<sup>63</sup> Serum karnitin profilinin araştırıldığı kanser hastalarında asid solubl açilkarnitin (ASCAR, kısa zincirli açilkarnitinler) düzeyi kontrol hastalarına göre anlamlı ölçüde düşük bulunurken, nonesterifiye karnitin ve asid insolubl açilkarnitin düzeyleri ise kanser olmayan hastalarla benzer bulunmuştur.<sup>165</sup>

Konsantrasyonların azalmasının lipidlerin artmış kullanımına, azalmış üretimine, asid solubl açilkarnitinin artmış ekskresyonuna ya da bunların tümüne bağlı olabileceği belirtilmiştir.<sup>63,165</sup> Bununla birlikte serum karnitin düzeyindeki değişiklikler doku karnitin konsantrasyonları için her zaman belirleyici olmayabilir. Hipofiz tümör Mt T-F4 ü olan ratlarda yapılan çalışmalarda karaciğer ve kalp dokusunda ölçülen total karnitin konsantrasyonunun tümörü olmayan ratlara göre daha yüksek olduğu bulunmuştur. Buna karşılık nonesterifiye karnitin konsantrasyonun ise belirgin olarak düşük olduğu görülmüştür.<sup>146</sup>

Biz de çalışmamızda karnitin ve açilkarnitinlerin, karsinogenezisle veya karsinogeneziste etkisi düşünülen lipid peroksidasyonu ile ilişkisi olup olmadığını araştırmak için, insan beyin tümörlerinde (glial tümörler n=45 , menenjiyomalar n=26) serbest karnitin ve C2, C3, C4, C5, C6, C8, C10, C12, C14:1, C14, C16:1, C16, C18:1, C18, C20:4 karnitin düzeylerini inceledik. Peritümöral dokuya göre GBM grubu, serbest karnitin düzeyi açısından istatistiksel olarak önemsiz bir yükselme gösterirken C3, C4, C5, C14:1, C16:1, C16, C18:1, C18 karnitin düzeylerinde önemli artışlar gösterdi (Tablo 6). Bu durum bazı çalışmalardaki karnitin düzeyleriyle ilgili bulguları kısmen desteklemektedir. Sandıkcı ve ark.<sup>166</sup> çalışmalarında (glial tümörler n=22, menenjiyomalar n=19), ASCAR düzeylerini gliomalarda otopsi sırasında elde edilen normal beyin dokusuna göre belirgin olarak yüksek bulmuşlardır.

Yüksek grade astrositomlarda, C16:1, C16, C18:1, C18 karnitin düzeyleri peritümöral dokuya göre artış gösterirken, genelde diğer karnitin düzeyleri düşme gösterdi (Tablo 6).

Düşük grade astrositomlarda genel olarak kısa ve orta zincirli karnitin düzeylerinde peritümöral dokuya göre azalmalar görüldü. C14:1, C16:1, C16, C18:1 karnitin düzeylerinde önemli değişimler görülmedi (Tablo 6).

Yüksek grade astrositomlarla düşük grade astrositomlar arasındaki fark incelendiğinde ise düşük grade astrositomlarda C2, C18 ve C18:1 karnitin düzeyleri anlamlı derecede düşme gösterdi, C16:1 karnitin düzeyi arttı, diğerlerinde önemli bir fark yoktu (Tablo 6).

GBM ve astrositom grubu karşılaştırıldığında, astrositomlarda GBM'ye göre (yüksek grade astrositomalarda C16:1 hariç) çoğu karnitin düzeyinde azalma görüldü (Tablo 6). Sandıkcı ve ark.nın<sup>166</sup> çalışmalarında da grade II ve grade III astrositomalarda ASCAR düzeyleri glioblastomalardan belirgin olarak düşüktür. AICAR düzeyleri de astrositomlarda glioblastomalardan daha düşük bulunmuştur. Bu açıdan çalışmamızı desteklemektedir.

Çalışmamızda menenjiyomlarda peritümöral dokuya göre genel olarak daha düşük karnitin düzeyleri tespit edildi. Malign menenjiyomalar ve klasik menenjiyomalar arasında C2, C3, C5, C16, C18, C20:4 karnitin düzeylerinin malign menenjiyomalarda klasik menenjiyomalara göre azaldığı görüldü ve bu da daha benign karakterde olan klasik menenjiyomalarda kısa ve uzun zincirli karnitin düzeylerinin yükseldiğini göstermektedir (Tablo 7). Katarzyna ve ark.a<sup>102</sup> göre, C16 karnitininin düşük konsantrasyonları kültürdeki nöroblastom NB-2a hücrelerinin hızlı farklılaşmasına neden olmaktadır. Bu yüzden AICAR düzeylerindeki azalma tümörlerdeki hızlı farklılaşmayı yansıtabilir. Bu da malign menenjiyomlardaki uzun zincirli karnitinlerin düşüklüğünü açıklayabilir. Ayrıca klasik menenjiyomalardaki C2 ve C3 karnitin yükseklikleri C2 ve C3 karnitinlerin antioksidan etkilerinin olduğunu belirten çalışmaları desteklemektedir.<sup>9,159</sup>

GBM ve menenjiyomalar karşılaştırıldığında, menenjiyomalarda (klasik menenjiyomalarda C2 karnitin düzeyi hariç) daha düşük karnitin düzeyleri tespit edildi (Tablo 8). Sandıkcı ve ark.nın<sup>166</sup> çalışmalarında da, menenjiyomalarda AICAR düzeyleri gliomalardan belirgin olarak düşük bulunmuştur. ASCAR düzeylerini ise yüksek bulmuşlardır.

Yüksek grade astrositomalar ile klasik– malign menenjiyomalar karşılaştırıldığında, klasik menenjiyomalarda C2, C3 karnitinlerde önemli yükselmeler, uzun zincirli (C14:1, C14, C16:1, C16, C18:1, C18) ise düşme görüldü (Tablo 9).

Düşük grade astrositomalar ile menenjiyomalar karşılaştırıldığında ise özellikle uzun zincirli karnitinlerin (C14:1, C14, C16:1, C16, C18:1) tüm menenjiyomalarda düşme gösterdiği bulundu. Klasik menenjiyomalarda ise serbest karnitin, C2, C3, C4 karnitin düzeyleri. düşük grade astrositomalara göre artarken, orta zincirli karnitin düzeylerinde önemli bir farka rastlanmamıştır (Tablo10). Sandıkcı ve ark.nın<sup>166</sup> çalışmalarında da, menenjiyomalarda ASCAR düzeyleri astrositomalara göre belirgin olarak yüksekken, AICAR düzeyleri daha düşüktür.

Membran sentezi için gerekli fosfolipidler ile eikasonoidler ve diaçil gliserol gibi önemli regülatör metabolitler, neoplastik hücreler tarafından, yağ asidlerinin kompleks lipidlere inkorporasyonu ile oluşturulur. Çeşitli yapılar çok farklı yollarla karsinojenik süreci etkileyebilirler. Tümör gelişimini stimüle edebilir, promoter gibi davranabilir, tümör gelişimini inhibe edebilir veya tümör migrasyonunu ve metastatik potansiyeli etkileyebilir.<sup>173</sup> Tümör hücreleri ile yapılan çalışmalarda, kolesterol sentezinde artış tespit edilmiştir. Bu durumun sonucu olarak hücrel membranlarda progresif bir kolesterol birikimi meydana gelmekte ve bu da önemli fizyolojik değişikliklere yol açmaktadır. Kolesterolün karbon iskeletinin herbirinin asetil KoA dan kaynaklandığı bilinmektedir.<sup>19</sup>

Azalmış AICAR seviyelerinin, lipidlerin kullanımındaki artışa veya membran sentezi ya da eikosanoidlerin oluşumu için gereken fosfolipid ve kolesterolün neoplastik hücrelerce sentezinin artmasına bağlı olabileceği düşünülmüştür. AICAR konsantrasyonlarındaki azalma fizyolojik membran yapı ve fonksiyonlarını oksidatif hasardan koruyan karnitin ve açilkarnitin esterlerinin durumu ile ilgili bilgi verebileceği öne sürülmüştür.<sup>166</sup>

Çalışmamızda dokuların karnitin ve MDA düzeylerinin korelesyonu incelendiğinde: GBM'de MDA düzeyleri ile C20:4 karnitin düzeyleri korele bir şekilde artmıştır (Şekil 16). Bu da lipid peroksidasyonunda en çok membranların yapısında bulunan doymamış yağ asitlerinin etkilendiğini desteklemektedir. Reznick ve ark.<sup>159</sup>, C3 karnitin hidrosil radikallerinin üretimi için gerekli demiri bağlayarak ve etkin bir enerji kaynağı gibi görev yaparak serbest radikal hasarına karşı koruyucu bir faktör olabileceğini belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda da klasik menenjiyomalarda, C4 karnitin düzeyi azalırken MDA düzeylerinin artmış olması (Şekil 17), C4 karnitin de bu tümörlerde bir koruyucu etkisinin olabileceğini düşündürmektedir.

Bu çalışmanın sonuçlarında, aynı tip tümör dokularında MDA düzeylerinde belli bir farklılık görülmemiştir. Ancak değişik tip tümörler arasında anlamlı farklar bulunmuştur. Karnitin yönünden değerlendirildiğinde ise tümör tiplerine göre serbest karnitin ve C2, C3, C4, C6, C8, C10, C12, C14:1, C14, C16:1, C16, C18:1, C18, C20:4 karnitinlerin (uzun, orta ve kısa zincirli karnitinler), farklı tümörlerde farklı değerler gösterdiği tespit edilmiştir. Karnitin-MDA ilişkisinin, her tümör tipinde tek başına bir anlam ifade etmediği görülmüştür. Antioksidan yapılar ve tümör hücre metabolizmasını gösteren parametreleri de içeren daha ileri ve daha kapsamlı çalışmalarla konunun incelenmesi gerekmektedir.

## 6. ÖZET

Çalışmamızda beyin tümör dokularında, lipid peroksidasyonu ve çeşitli karnitin yapılarının değişimini incelemeyi amaçladık. Peritümöral doku, glioblastoma multiforme tümörlerde, yüksek ve düşük grade astrositomalarda, malign, atipik ve klasik menenjiyomalarda doku MDA, serbest karnitin, C2, C3, C4, C5, C6, C8, C10, C12, C14:1, C14, C16:1, C16, C18:1, C18, C20:4 karnitin değerlerini ölçtük.

Peritümöral doku grubu ile tümör grupları kıyaslandığında; malign menenjiyom ve klasik menenjiyom tümör gruplarının MDA düzeyleri, peritümöral doku grubuna göre düşüktü. Ayrıca GBM ile menenjiyomlar karşılaştırıldığında, MDA düzeylerinin klasik menenjiyom tümör grubunda GBM ye göre daha düşük olduğu gözlemlendi. Bunun dışındaki grupların MDA düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar görülmedi.

Karnitin düzeylerinde ise; peritümöral dokuya göre GBM grubu, serbest karnitin düzeyi açısından istatistiksel olarak önemsiz bir yükselme gösterirken C3, C4, C5, C14:1, C16:1, C16, C18:1, C18 karnitin düzeylerinde önemli artışlar gösterdi.

Yüksek grade astrositomalarda, C16:1, C16, C18:1, C18 karnitin düzeyleri peritümöral dokuya göre artış gösterirken, genelde diğer karnitin düzeyleri düşme gösterdi.

Düşük grade astrositomalarda genel olarak kısa ve orta zincirli karnitin düzeylerinde peritümöral dokuya göre azalmalar görüldü. C14:1, C16:1, C16, C18:1 karnitin düzeylerinde önemli değişimler görülmedi.

Yüksek grade astrositomlarla düşük grade astrositomlar arasındaki fark incelendiğinde ise düşük grade astrositomalarda C2, C18 ve C18:1 karnitin düzeyleri anlamlı derecede düşme gösterdi, C16:1 karnitin düzeyi arttı, diğerlerinde önemli bir fark yoktu.

GBM ve astrositom grubu karşılaştırıldığında, astrositomlarda GBM'ye göre (yüksek grade astrositomalarda C16:1 hariç) çoğu karnitin düzeyinde azalma görüldü

Çalışmamızda menenjiyomlarda peritümöral dokuya göre daha düşük karnitin düzeyleri tespit edildi. Malign menenjiyomalar ve klasik menenjiyomalar arasında C2, C3, C5, C16, C18, C20:4 karnitin düzeylerinin malign menenjiyomalarda klasik menenjiyomalara göre azaldığı görüldü.

GBM ve menenjiyomalar karşılaştırıldığında, menenjiyomalarda (klasik menenjiyomlarda C2 karnitin düzeyi hariç) daha düşük karnitin düzeyleri tespit edildi.

Yüksek grade astrositomalar ile klasik-malign menenjiyomalar karşılaştırıldığında, klasik menenjiyomalarda C2, C3 karnitinlerde önemli ve önemsiz yükselmeler, uzun zincirli karnitinlerde (C14:1, C14, C16:1, C16, C18:1, C18) ise düşme görüldü.

Düşük grade astrositomalar ile menenjiyomalar karşılaştırıldığında ise özellikle uzun zincirli karnitinlerin (C14:1, C14, C16:1, C16, C18:1) tüm menenjiyomalarda düşme gösterdiği bulundu. Klasik menenjiyomalarda ise serbest karnitin, C2, C3, C4 karnitin düzeyleri, düşük grade astrositomalara göre artarken, orta zincirli karnitin düzeylerinde önemli bir farka rastlanmadı.

Dokuların karnitin ve MDA düzeylerinin korelesyonu incelendiğinde: GBM'de MDA düzeyleri ile C20:4 karnitin düzeyleri korele bir şekilde artma gösterdi. Klasik menenjiyomalarda da C4 karnitin düzeyi azalırken, MDA düzeyleri arttı.

Sonuç olarak, aynı tip tümör dokularında MDA düzeylerinde belli bir farklılık görülmezken değişik tip tümörler arasında anlamlı farklar bulunmuştur. Karnitin yönünden değerlendirildiğinde ise tümör tiplerine göre uzun.orta ve kısa zincirli karnitin değerlerinde glial tümörlerde ve menenjiyomalarda farklı değerler elde edilmiştir. Karnitin-MDA ilişkisinin, her tümör tipinde tek başına bir anlam ifade etmediği görülmüştür.

## 7. KAYNAKLAR

1. Agarwal R, Chase SW: Rapid, fluorimetric-liquid chromatographic determination of malondialdehyde in biological samples. *J. Chromatography B*, 775:121-126, 2002.
2. Akkuş İ: Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. (Mimozo Yayınları, Konya). 1995. S:40-41
3. Albertini P, Amenta F, Bronzetti E, Cavallotti C, Gaviraghi G: Effect of acetyl-L-carnitine treatment on brain ribonucleic acid levels in methylazoxymethanol-microencephalic rats. *Drugs Exptl. Clin. Res.* 15: 429-439.
4. Ames BN, Gold LS, Willett WC: The causes and prevention of cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 92:5258–5265, 1995.
5. Ames BN, Shigenaga MK, Gold LS: DNA lesions, inducible DNA repair, and cell division: three key factors in mutagenesis and carcinogenesis. *Environ Health Perspec* 101 [Suppl 5]:35–44, 1993.
6. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90: 7915, 1993.
7. Andersen BD, Wise BL, Textbook of clinical chemistry. Philadelphia: WB Saunders Company, 1986; 197-208.
8. Angelini C, Lücke S, Cantarutti F: Carnitine deficiency of skeletal muscle: report of a treated case. *Neurology*. 26:663-664. 1988.
9. Angelucci L, Ramacci MT, Amenta F, Lorentz G, Maccari F: acetyl-L-carnitine in the rats hippocampus aging : Morphological, endocrine and behavioral correlates. In Gorio A, Perez-Polo JR, de Vellis J, Haber V (eds): *Neuronal*

Development and Regeneration. Cellular Molecular Aspects. Heidelberg: Springer, 1988 pp 57-66.

10. Arduini A, Denisova N, Vermani A, Avrova N, Federici G, Arrigoni Martelli E: Evidence for the involvement of carnitine-dependent long -chain acyltransferases in neuronal triglyceride and phospholipid fatty acid turnover. *J. Neurochem.* 62(4): 1530-1538, 1994.
11. Arduini A, Mancinelli G, Belfiglio M, et al: Membrane phospholipids fatty acid turnover in human erythrocytes. *Ital Biochem Soc Trans* 1:181,1990.
12. Arduini A, Mancinelli G, Radatti GL, Dottori S, Molajoni F, Ramsay RR. Role of carnitine and carnitine palmitoyltransferase as integral components of the pathway for membrane phospholipid fatty acid turnover in intact human erythrocytes. *J. Biol. Chem.* 267(18):12673-12681, 1992.
13. Arduini A, Mancinelli G, Ramsay RR,: Palmitoyl-L-carnitine, a metabolic intermediate of the fatty acids incorporation pathway in erythrocyte membrane phospholipids. *Biochem Biophys res Commun* 173: 212-7, 1990.
14. Arduini A: Carnitine and its acyl esters as secondary antioxidants? *Am. Heart J.* 123:1726-1727, 1992.
15. Aureli T, Capuani G, Di Cocco ME, Ricciolini R, Ghirardi O, Ramacci MT, Miccheli A: Changes in brain lipid composition during aging.: effect of long-term acetyl-L-carnitine treatment, *Quart. Magn Reson. Biol. Med.* 1:47-52, 1994.
16. Aureli T, Di Cocco ME, Puccetti C, Ricciolini R, Scalibastri M, Miccheli A, Manetti C, Conti F: Acetyl-L-carnitine modulates glucose metabolism and stimulates glycogen synthesis in rat brain. *Brain Res.* 796:75-81, 1998.

17. Aureli T, Miccheli A, Di Cocco ME, Ghirardi O, Giuliani A, Ramacci MT, Conti F: Effect of acetyl-L-carnitine on recovery of brain phosphorus metabolites and lactic acid level during reperfusion after cerebral ischemia in the rat. Study by  $^{31}\text{P}$  and  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy. *Brain Res.* 643:92-99, 1994.
18. Aureli T, Miccheli A, Ricciolini R, Di Cocco ME, Ramacci MT, Angelucci L, Ghirardi O, Conti F: Aging brain: effect of acetyl-L-carnitine treatment on rat brain energy and phospholipid metabolism. A study by  $^{31}\text{P}$  and  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy. *Brain Res.* 526:112-118, 1990.
19. Baggetto LG: Deviant energetic metabolism of glycolytic cancer cells. *Biochimie.* 74:959-974, 1992.
20. Bahl JJ, Bressler R: The pharmacology of carnitine. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 27:257, 1987.
21. Basu AK, Marnett LJ: Molecular requirements for the mutagenicity of malondialdehyde and related acroleins. *Cancer res.* 44: 2848-2854, 1984.
22. Başıağ HS: Biochemical aspects of free radicals. *Biochem Cell Biol.* 68: 989-998, 1990.
23. Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. *Am J Physiol* 271: C1424, 1996.
24. Berliner JA, Heinecke JW: The role of oxidized lipoproteins in atherogenesis. *Free Radic Biol Med* 20: 707, 1996.
25. Bieber LL: Carnitine. *Annu Rev Biochem.* 57:261-83,1988.
26. Boros LG, Lee PW, Brandes JL, Cascante M, Muscarella P, Schirmer WJ, Melvin WS, Ellison EC: Nonoxidative pentose phosphate pathways and their

- direct role in ribose synthesis in tumors: is cancer a disease of cellular glucose metabolism? *Med Hypotheses* 50(1):55-5, 1998.
27. Boveris A, Cadenas E: Mitochondrial production of superoxide anions and its relationship to the antimycin insensitive respiration. *FEBS Lett* 54: 311, 1975.
  28. Bowers LD, Ullman MD, Burtis CA: *Chromatography: Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. Burtis CA, Ashwood ER (eds) USA 1994, S:206-222
  29. Bowers LD, Ullman MD, Burtis CA: *High performance liquid chromatography: Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. Burtis CA, Ashwood ER (eds) USA 1994, S:242-254
  30. Boyunağa H, Çelik C: Serbest radikaller ve hücre sel denge. *Bilim Teknik Dergisi* 347: 98-100, 1996.
  31. Brawn K, Fridovich I: DNA strand scission by enzymically generated oxygen radicals. *Arch. Biochem. Biophys.* 262: 266-272, 1981.
  32. Bremer J: Carnitine metabolism and functions. *Physiol Rev* 63/4:1420-80, 1983.
  33. Bremer J: The role of carnitine in cell metabolism. In: de Simone C, Famularo G, editors. *Carnitine today*. Heidelberg: Springer-Verlag 1997, p 1-37.
  34. Bresolin N, Freddo L, Vergani L, Angelini C: Carnitine, carnitine acyltransferases, and rat brain function. *Expl. Neurol.* 78:285-292, 1982.
  35. Broderick TL, Quinney HA, Barker CC, and Lopaschuk GD: Beneficial effect of carnitine on mechanical recovery of rat hearts reperfused after a transient period of global ischemia is accompanied by a stimulation of glucose oxidation. *Circulation* 87:972-981, 1993.
  36. Brooks DE, McIntosh JEA: Turnover of carnitine by rat tissues. *Biochem. J.* 148:439-445, 1975.

37. Broquist HP, Borum P: Carnitine biosynthesis nutritional implications. *Adv. Nutr Res*: 4:181-204, 1982.
38. Calvani M, Arrigoni-Martelli E: Attenuation by acetyl-L-carnitine of neurological damage and biochemical derangement following brain ischemia and reperfusion. *Int. J. Tissue React*. 21:1-6, 1999.
39. Calvani M, Nicolai R, Barbarisi A, Reda E, Benatti P, Peluso G: Carnitine system and cancer. In: *Advances in nutrition and cancer*, vol 2. New York: Plenum (in press), 1999.
40. Carter HE, Bhattacharya PK, Wiedman KR, et al.: chemical studies on vitamin Bt: Isolation and characterization as carnitine. *Arch Biochem. Biophys*. 38:405-409,1952.
41. Cerutti P, Ghosh R, Oya Y, Amstad P: The role of the cellular antioxidant defense in oxidant carcinogenesis. *Environ Health Perspect* 102 Suppl 10:123-129, 1994.
42. Cerutti P, Shah G, Peskin A, Amstad P: Oxidant carcinogenesis and antioxidant defense. *Ann N Y Acad Sci* 663:158-166, 1992.
43. Chace DH, DiPerna JC, Mitchell BL, Sgroi B, Hofman LF, and Naylor EW: Electrospray tandem mass spectrometry for analysis of acylcarnitines in dried postmortem blood specimens collected at autopsy from infants with unexplained cause of death. *Clin Chem*. 47(7): 1166-1182, 2001.
44. Chance B, Williams GR. The respiratory chain and oxidative phosphorylation. *Adv Enzymol* 17: 65-134, 1956.
45. Cheeseman KH, Slater TF: An introduction to free radical biochemistry. *British Med Bulletin*. 149:481-493, 1993.

46. Cheng JZ, Singhal SS, Saini M, et al: Effects of mGST A4 transfection on 4-hydroxynonenal-mediated apoptosis and differentiation of K562 human erythroleukemia cells. *Arch Biochem Biophys* 372: 29, 1999.
47. Cirak B, Inci S, Palaoglu S, Bertan V: Lipid peroxidation in cerebral tumors. *Clin Chim Acta* 327: 103-107, 2003.
48. Clayson DB, Mehta R, Iverson F: Oxidative DNA damage – the effects of certain genotoxic and operationally nongenotoxic carcinogens. *Mutation Res* 317:25–42, 1994.
49. Cooper CE, Vollaard NBJ, Choueiri T, Wilson MT: Exercise, free radicals and oxidative stress. *Biochem Soc Trans.* 30:280-285, 2001.
50. Craven PA, Pfanstiel J, DeRubertis FR: Role of reactive oxygen in bile salt stimulation of colonic epithelial proliferation. *J Clin Invest* 77: 850, 1986.
51. Cross C, Halliwell B, Borish E, Prior W: Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med.* 107: 526-545, 1987.
52. Dang CV, Lewis BC, Dolde C, Dang G, Shim H: Oncogenes in tumor metabolism, tumorigenesis, and apoptosis. *J Bioenerg Biomembr* 29(4):345–354, 1997.
53. De Simone C, Ferrari M, Lozzi A, et al. Vitamins and immunity, II. Influence of L-carnitine on immune system. *Acta Vitaminol*:135-140, 1982.
54. De Simone C, Ferrari M, Melli D, et al: Reversibility by L-carnitine of immunosuppression induced by an emulsion of soya bean oil, glycerol and egglecithin. *Arzneim Forsch/Drug Res.* 32:1485-1488, 1982.

55. Declercq PE, Falck JR, Kuwajima M, Tyminski H, Foster DW, Mc-Garry JD: Characterization of the mitochondrial carnitine palmitoyltransferase enzyme system. I. Use of inhibitors. *J Biol Chem* 262(20):9812–9821, 1987.
56. Deutsch J, Kalderon B, Purdon AD, Rapoport SI: Evaluation of brain long-chain acylcarnitines during cerebral ischemia. *Lipids*. 35(6):693-6, 2000.
57. Di Donato GC, Busch KL: Derivatization of ketosteroids for fast atom bombardment mass spectrometry. *Biomed Mass Spectrom*. 12:364-6, 1985.
58. Di Donato S, Garavaglia B, Rimoldi M, Carrara F: Clinical and biomedical phenotypes of carnitine deficiencies: L-carnitine and its role in medicine: From function to therapy. Ferrari R, Dimauro S, Sherwood G (eds) Academic Pres, London 1992, S: 37-61
59. Di Giacomo C, Latteri F, Fichera C, et al: Effect of acetyl-L-carnitine on lipid peroxidation and xanthine oxidase activity in rat skeletal muscle. *Neurochem Res* 18: 1157-1162, 1993.
60. Di Lisa F, Bieber LL, Kerner J, Menabò R, Barbato R, Siliprandi N: Methods for carnitine assay: L-carnitine and its role in medicine: From function to therapy. Ferrari R, Dimauro S, Sherwood G (eds) Academic Pres, London 1992, S: 37-61
61. Di Marzio L, Moreti S, D'Alo S, et al: Acetyl-L-carnitine administration increases insulin-like growth factor I levels in asymptomatic HIV-I infected subjects: correlation with its suppressive effect on lymphocyte apoptosis and ceramide generation. *Clin Immunol* 92:103-110, 1999.
62. Dianzani MU, Barrera G, Parola M: 4-Hydroxy-2,3- nonenal as a signal for cell function and differentiation. *Acta Biochim Pol* 46: 61, 1999.

63. Dodson WL, Sachan DS, Krauss S, Hanna W: Alterations of serum and urinary carnitine profiles in cancer patients: Hypothesis of possible significance. *J. Am. Coll. Nutr.* 8: 133-142, 1989.
64. Doležal V, Tuček S: Utilization of citrate, acetylcarnitine, acetate, pyruvate and glucose for the synthesis of acetylcholine in rat brain slices. *J. Neurochem.* 36:1323-1330, 1981.
65. Dougherty RC, Roberts JD, Biros FJ: Positive and negative chemical ionization mass spectra of some aromatic chlorinated pesticides. *Anal Chem.* 47:54-9, 1975.
66. Englard S: Hydroxylation of  $\beta$ -butyrobutyrate to carnitine in human and monkey tissues. *FEBS Lett.* 102:297-300, 1979.
67. Evans PH: Free radicals in brain metabolism and pathology. *British Medical Bulletin.* 49(3):577-587, 1993.
68. Falchetto S, Kato G, Provini L: The action of carnitines on cortical neurones. *Can. J. Physiol. Pharmacology.* 49:1-7, 1971.
69. Fazio VM, Rinaldi M, Ciafre S, Barrera G, Farace MG: Control of neoplastic cell proliferation and differentiation by restoration of 4-hydroxynonenal physiological concentrations. *Mol Aspects Med* 14: 217, 1993.
70. Feig DI, Reid TM, Loeb LA: Reactive oxygen species in tumorigenesis. *Cancer Res suppl.* 54:1890s-1894s, 1994.
71. Fischer CP, Bode BP, Souba WW: Adaptive alterations in cellular metabolism with malignant transformation. *Ann Surg* 227(5):627-636, 1998.
72. Fliss MS, Usadel H, Caballero OL, et al. Facile detection of mitochondrial DNA mutations in tumors and bodily fluids. *Science* 287: 2017, 2000.

73. Floyd RA, Schneider JE (1990): Hydroxy free radical damage to DNA. In Membrane Lipid Oxidation, vol 1 (Vigo-Pelfrey C, ed) C.R.C. Press, Boca Raton, Florida
74. Floyd RA: Antioxidants, oxidative stress, and degenerative neurological disorders, Proc Soc Exper Biol Med 222: 236-245, 1999.
75. Floyd RA: Role of oxygen free radicals in carcinogenesis and brain ischemi. FASEB J. 4: 2587-2597, 1990.
76. Fraenkel G, Friedmen S: Carnitine. Vitam. Horm. 15:73-78,1957.
77. Fraenkel G: BT, anew vitamin of the B-group and its relation to the folic asid group, and other anti-anemia factors. Nature 161:981-984,1948.
78. Frei B: Reactive oxygen species and antioxidant vitamins: mechanism action. Am J med 97: 5-13, 1994.
79. Fritz HB, Burdzy K. Novel action of carnitine: inhibition of aggregation of dispersed cells elicited by clustering in vitro. J Cell Physiol. 140:18-28, 1989.
80. Fritz HB: Action of carnitine on long chain fatty acid oxidation by liver. Am. J. Physiol. 197:297-304,1959
81. Fujibayashi Y, Waki A, Sakahara H, Konishi J, Yonekura Y, Ishii Y, Yokoyama A: Transient increase in glycolytic metabolism in cultured tumor cells immediately after exposure to ionizing radiation: from gene expression to deoxyglucose uptake. Radiat Res 147(6):729-734, 1997.
82. Garzya G, Corallo D, Fiore A, et al: Evaluation of the effects of L-acetylcarnitine on senile patients suffering from depression. Drugs Exp Clin Res 16: 101-106, 1990.

83. Geremia E, Santoro C, Barata D, Scalia M, et al: Antioxidant action acetyl-L-carnitine: in vitro study. *Med Sci Res* 699-700, 1988.
84. Ghirardi O, Milano S, Ramacci MT, Angelucci L: Effect of acetyl-L-carnitine chronic treatment on discrimination models in aged rats. *Physiol. Behav.* 44:769-773, 1988.
85. Gilroy J, Holliday PL. *Basic Neurology*. New York, NY: Macmillan Publishing Co; 200–213, 1982.
86. Gonzales MF: Classification and pathogenesis of brain tumors in “Brain Tumors”, (Kaye AHK, Laws JRE, ed) (Second ed), 29-50, London, (2001) Ğ47)
87. Gronefeld D, Koscielicki T: Pathological conditions demonstrated by computed tomography. *Semin Radiol Technol.* 6:19–36, 1998.
88. Guder WG, Wagner S: The role of kidney carnitine metabolism. *J: Clin Chem Clin biochem.* 28:347-350, 1990.
89. Gulewitsch WI, Krimberg R: Zur Kenntnis der Extrativstoffe der Muskeln. II: Mitilung Über das carnitin. *Hoppe Seyler’s Z. Physiol. Chem.* 45:326-330,1905.
90. Gutteridge JMC: Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem.* 41: 1819-1828, 1995.
91. Hall ZW: *An Introduction to Molecular Neurobiology*. Sunderland. Sinauer Associates, 1992, p 236.
92. Halliwell B: Oxidants and the central nervous system: some fundamental questions. Is oxidant damage relevant to Parkinson’s disease, Alzheimer’s disease, traumatic injury or stroke? *Acta Neurol Scand Suppl* 126: 23, 1989.

93. Halliwell B: Role of free radicals and catalytic metalions in human disease an overview. *Methods in Anzymol.* 105: 1-85, 1990.
94. Halliwell, B: Reactive oxygen species and the central nervous system. *J. Neurochem.* 59:1609–1623, 1992.
95. Hannuniemi R, Kontro P: L- carnitine uptake by mause brain synaptosomal preparations: Competitive inhibition by GABA. *Neurochem. Res.* 13:317-323,1988.
96. Hoppel C: The physiological role of carnitine. In: Ferrari R, Di Mauro S, Sherwood G (eds), *L-carnitine and its role in medicine: from function to therapy.* Academic Pres, London 1992, pp 5-19.
97. Hu W, Feng Z, Eveleigh J, et al: The major lipid peroxidation product, trans-4-hydroxy-2-nonenal, preferentially forms DNA adducts at codon 249 of human p53 gene, a unique mutational hotspot in hepatocellular carcinoma. *Carcinogenesis* 23: 1781, 2002.
98. Huth PJ, Schimidt MJ, Hall PV, Fariello RG, Shug AL: The uptake of carnitine slices of rat cerebral cortex. *J. Neurochem.* 36:715-723, 1981.
99. Igisu H, Matsuoka M, Iryo Y: Protection of the brain by carnitine. *Sangyo Eiseigaku Zasshie.* 37/2:75-82, 1995.
100. Ikeda Y, Long DM: Oxygen free radicals in the genesis of peritumoural brain oedema in experimental malignant brain tumours. *Acta Neurochir, Suppl (Wien)* 51:142– 4, 1990.
101. Kamińska J, Nalecz KA, Azzi A, Nalecz MJ: Purification of carnitine carrier from rat brain mitochondria. *Biochem. Mol. Biol. Int.* 29:999-1008, 1993.

102. Katarzyna A, Nalecz MJ, Nalecz KA: Transport and metabolic effects of carnitine and acylcarnitines in brain. *Acta Biochem Pol.* 40:337-343, 1993.
103. Kato N, Wise BC, Kuo JF: Phosphorylation of cardiac troponin inhibitory subunit (troponin I) and tropomyosin-binding subunit (troponin T) by cardiac phospholipid -sensitive  $Ca^{2+}$ - dependent protein kinase. *Biochem. J.* 209:189-195, 1983.
104. Kawamura N: Regulation of fatty acid oxidation in rat brain mitochondria: inhibition of high rates of palmitate oxidation by ADP. *Arch Biochem Biophys.* 264(2):546-52, 1988.
105. Keller JN, Mattson MP: Roles of lipid peroxidation in modulation of cellular signaling pathways, cell dysfunction, and death in the nervous system. *Rev Neurosci* 9: 105, 1998.
106. Kirpekar F, Nordhoff E, Larsen LK, Kristiansen K, Roepstorff P, Hillenkamp F: DNA sequence analysis by MALDI mass spectrometry. *Nucleic Acids Res.* 26:2554-9, 1998.
107. Kiser RW, Sullivan RE: Mass spectrometry. *Anal Chem.* 40:273, 1968.
108. Kleihues P, Burger PC, Scheithauer BW: Histological typing of tumors of the central nervous system, Springer-Verlag (2nd ed), Berlin, 1993
109. Kokoglu E, Belce A, Ozyurt E, Tepeler Z: Xanthine oxidase concentrations in human brain tumors. *Cancer Lett* 30 (50):179-81, 1990.
110. Koudelová J, Mourek J, Drahotka Z, and Rauchová H: Protective effect of carnitine on lipoperoxide formation in rat brain. *Physiol. Res.* 43:387-9, 1994.
111. Kowaltowski AJ, Vercesi AE: Mitochondrial damage induced by conditions of oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 26: 463, 1999.

112. Kraemer DL, Bullard DE: Clinical presentation of the brain tumor patient. In: Morantz RA, Walsh JW, eds. *Brain Tumors: A Comprehensive Text*. New York, NY: Marcel Dekker Inc; 183–211, 1994
113. Kudo H, Mio T, Kokunai T, Tamaki N, Sumino K, Matsumoto S: Quantitative analysis of glutathione in human brain tumors. *J Neurosurg* 72:610–5, 1990.
114. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL: *Tümörler: Temel Patoloji*. Beşinci baskı. Çevikbaş U (ed) W.B. Saunders, Philadelphia 1992, S: 720-725
115. Kuzi BM, Kolesnikova TI: The neurotropic effect of carnitine in cerebral hipoxia. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsokova*. 99(7): 27-32, 1999
116. Landolt H, Langemann H, Probst A, Gratzl O: Concentrations of water-soluble antioxidants in astrocytoma and in adjacent tumor-free tissue. *J Neuro-Oncol* 21:127–33, 1994.
117. Laws ER Jr, Thapar K: Brain tumors. *CA Cancer J Clin*. 43:263–271, 1993. H1)
118. Lehrer M, In kaplan LA. *Mass spectrometry*. St. Louis: Mosby Company, 1996; 167-84.
119. Liedtke AJ, Demaison L, Nellis SH: Effects of propionyl-L-carnitine on mechanical recovery during reflow in intact hearts. *Am J Physiol* 255: 169-76, 1988.
120. Loft S, Poulsen HE: Cancer risk and oxidative DNA damage in man. *J Mol Med* 74:297–312, 1996. Şekil 7,8
121. Loster, H. and Punzel, M: Effects of L-carnitine on mechanical recovery of isolated rat hearts in relation to the reperfusion with glucose and palmitate. *Mol. Cell Biochem*. 185: 65–75, 1998.

122. Louw DF, Bose R, Sima AA, Sutherland GR: Evidence for a high free radical state in low-grade astrocytomas. *Neurosurgery*. 41:1146-50 [discussion 1151], 1997.
123. Lowitt S, Malone JJ, Salem AF, et al : Acetyl-L-carnitine corrects the altered peripheral nerve function of experimental diabetes. *Metabolism* 44:677-80, 1995.
124. Lundholm K, Edstrom S, Karlberg I, Ekman L, Schersten T: Glucose turnover, gluconeogenesis from glycerol, and estimation of net glucose cycling in cancer patients. *Cancer* 50(6):1142-1150, 1982.
125. Luo, X., Reichetzer, B., Trines, J., Benson, L. N., and Lehotay, D. C: L-Carnitine attenuates doxorubicin-induced lipid peroxidation in rats. *Free Radic. Biol. Med.* 26:1158-1165, 1999.
126. Maher TJ: L-carnitine: Naturel Healing Track 1-8, 2001.
127. Manfredi A, Forloni GL, Arrigoni-Martelli E, Mancina M: Culture of dorsal root ganglion neurons from aged rats: effects of acetyl-L-carnitine and NGF. *Int J Dev Neurosci.* 10(4):321-9,1992.
128. Mangiardi JR, Yodice P: Metabolism of the malignant astrocytoma. *Neurosurgery* 26: 1-19, 1990.
129. Matsumoto Y, Sasaoka N, Tsuchida T, Fujiwara T, Nagao S: Quantitative analysis of glutathione and glutathione S-transferase in human brain tumors, C6 rat glioma cells and drug resistant C6 cells. *No Shinkei Geka* 20:1069-74, 1992.
130. Matute C, Arellano RO, Conde-Guerri B, Miledi R: mRNA coding for neurotransmitter receptors in human astrocytoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 89: 3399-3403, 1992.

131. Mazurek S, Grimm H, Wilker S, Leib S, Eigenbrodt E: Metabolic characteristics of different malignant cancer cell lines. *Anticancer Res* 18 (5A):3275–82,1998.
132. Meister A, Anderson M: Glutathione. *Ann Rev Biochem* 52: 711-760,1983.
133. Mora JF, Van Berkel GJ, Enke CG, Cole RB, Martinez Sanchez M, Fenn JB: Electrochemical processes in electrospray ionization mass spectrometry. *J Mass Spectrom.* 35:939-52, 2000.
134. Nair J, Barbin A, Velic I, Bartsch H: Etheno DNA-base adducts from endogenous reactive species. *Mutat Res* 424: 59, 1999.
135. Nakadate T, Blumberg PM: Modulation by palmitoylcarnitine of protein kinase C activation. *Cancer Res.* 47:6537-6542, 1987.
136. Nalecz KA, Kamińska J, Nalecz MJ, Azzi A: The activity of pyruvate carrier in a reconstituted system: substrate specificity and inhibitor sensitivity. *Arch. Biochem. Biophys.* 297:162-168, 1992.
137. Nalecz KA, Korzon D, Wawrzenczyk A, Nalecz MJ: Transport of carnitine in neuroblastoma NB-2a cells. *Arch Biochem Biophys.* 322(1):214-20, 1995.
138. Nalecz KA, Nalecz MJ: Carnitine-a known compound, a novel function in neural cells. *Acta Neurobiol. Exp.* 56:597-609, 1996.
139. Nalecz KA, Nalecz MJ: Transport and matabolic effects of carnitine and acylcarnitines in brain. *Acta Biochim Pol.* 40/3:337-343, 1993.
140. Noel H, Pande SV: An essansial requirement of cardiolipin for mitochondrial carnitine acylcarnitine translocase. *Eur. J. Biochem.* 155:99-102, 1986
141. Ockner RK, Kaikaus RM, Bass NM: Fatty-acid metabolism and the pathogenesis of hepatocellular carcinoma: review and hypothesis. *Hepatology* 18(3):669–676, 1993.

142. Opie LH: Role of carnitine in fatty acid metabolism of normal and ischemic myocardium. *Am. Heart J.* 97:375–388,1987.
143. Ozkan Y, Torun M, Simsek B: Serum Malondialdehyde (MDA) concentrations in lung cancer. *International Congress on Free Radicals in Health and Disease.* Istanbul, Turkiye; 1995.
144. Packer L, Reznick AZ, Kagan VE, Ramsey R, Tsuchiya M, Khwaja S, Serbinova EA, Valenza M: L-Propionyl carnitine, dual mechanism of protection in cardiac ischemia-reperfusion injury. *FASEB J.* 6: A1369 (abstr), 1992.
145. Packer L, Valenza E, Serbinova P, Starke-Reed P, Frost K, and Kagan VE: Free radical scavenging is involved in the protective effect of L-propionyl-carnitine against ischemiareperfusion injury of the heart. *Arch. Biochem. Biophys.* 288: 533–537, 1991.
146. Parvin R, Gianoulakis C, Pande SV, Chretien M: Effect of pituitary tumor MtT-F4 on carnitine levels in the serum, liver, heart of rats. *Life Sci.* 10:1047-9,1981.
147. Peluso G, Nicolai R, Reda E, Benatti P, Barbarisi A, Calvani M: Cancer and anticancer therapy-induced modifications on metabolism mediated by carnitine system. *J Cell Phys* 182:339–350, 2000.
148. Petruzelli S, Hietanen E, Bartsch H, Camus AM, Mussi A, Angeletti CA, et al: Lipid peroxidation in cigarette smokers and lung cancer patients. *Crit Care Med* 98:930– 5, 1990.
149. Pfanner N, Glick BS, Arden Sa, Rothman Je: Fatty acylation promotes fusion of transport vesicles with Golgi cistrnae. *J. Cell. Biol.* 110:955-961, 1990.
150. Pu PY, Lan J, Shan SB, Huang EQ, Bai Y, Guo Y, et al. Study of the antioxidant enzymes in human brain tumors. *Neurooncology* 29:121– 8, 1996.

151. Ramsay RR, Mancinelli G, Arduini A: Carnitine palmitoyltransferase in human erythrocyte membrane. Properties and malonyl-CoA sensitivity. *Biochem. J.* 275(Pt3):685-688, 1991.
152. Rani PJA, Panneerselvam C: Carnitine as free radical scavenger in aging. *Exp Geront.* 36: 1713-1726, 2001.
153. Rao GM , Rao AV, Raja A, Rao S , Rao A: Lipid peroxidation in brain tumours. *Clin Chim Acta* 302: 205–211, 2000.
154. Rauchová H, Koudelová J, Drahotka Z , Mourek J: Hypoxia-induced lipid peroxidation in rat brain and protective effect of carnitine and phosphocreatine. *Neurochem Res* 27(9): 899–904, 2002.
155. Rebouche CJ, Engel AG: Tissue distribution of carnitine biosynthetic enzymes in man. *Biochim. Biophys. Acta.* 630:22-29, 1980.
156. Rebouche CJ, Paulson DJ: Carnitine metabolism and function in humans. *Annu. Rev. Nutr.* 6:41-66, 1986.
157. Rebouche CJ: Carnitine function and requirements during the life cycle. *FASEB J.* 6:3379-3386, 1992.
158. Research Resources Information Center (1991) Program Highlights 1991, National Center for Research Resources, National Institutes of Health Publication No. 92-2309, pp. 13-14.
159. Reznick AZ, Kagan VE, Ramsey R, Tsuchiya M, Khwaja S, Serbinova EA, and Packer L: Antiradical effects in L-propionyl carnitine protection of the heart against ischemia-reperfusion injury: The possible role of iron chelation. *Arch. Biochem. Biophys.* 296:394–401, 1992.

160. Richard SM, Bailliet G, Paez GL, Bianchi MS, Peltomaki P, Bianchi NO: Nuclear and mitochondrial genome instability in human breast cancer. *Cancer Res* 60: 4231, 2000.
161. Robinson KH, Gabbita SP, Salsman S, Floyd RA: Reactive oxygen species, cell signaling and cell injury. *Free Radic Biol Med* 28: 1456-1462, 2000.
162. Rodnick KJ, Sidell BD: Cold acclimation increases carnitine palmitoyltransferase I in oxidative muscle of striped bass. *Am. J Physiol.* 266:405-412, 1992.
163. Rosenthal RE, Williams R, Bogaert Y, et al: Prevention of postischemic canine of neurological injury through potentiation of brain energy metabolism by acetyl-L-carnitine: *Stroke.* 21: 1-6, 1992.
164. Sachan DS, Cha YS: Acetylcarnitine-mediated inhibition of ethanol oxidation in hepatocytes. *Alcohol* 12:289-294, 1995.
165. Sachan DS, Datson WL. The serum carnitine status of cancer patients. *J. Am. Coll. Nutr.* 6: 145-150, 1987.
166. Sandıkcı KS, Gumustas MK, Tuter Y, Kokogku E, Ozyurt E, Sozer V: Total acid soluble and insoluble carnitine levels in human brain tumors. *Cancer Biochem Biophys* 17: 49-57, 1999.
167. Sartorelli L, Ciman M, Mantovani G, Siliprandi N: Carnitine transport in rat heart slices: II. The carnitine/deoxycarnitine antiport. *Ital J. Biochem.* 34: 282-287, 1985.
168. Series of articles by various authors (1990) Special issue from the "Workshop Conference on Carnitine". *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 28

169. Sevenian A: Phospholipase A<sub>2</sub>: a secondary membrane antioxidant. In: Sevenian A; ed. Lipid peroxidation in biological systems. Champaign, Ill.:American Oil Chemists' Society, 1988: 84-99.
170. Shaw JHF, Wolfe RR: Glucose and urea kinetics in patients with early and advanced gastrointestinal cancer: the response to glucose infusion, parenteral feeding, and surgical resection. *Surgery* 101(2):181-191, 1987.
171. Shug AL, Schmidt MJ, Golden GT, Fariello RG: The distribution and role of carnitine in the mammalian brain. *Life Sci.* 31(25):2869-74,1982.
172. Souba WW: Glutamine and cancer. *Ann Surg* 218(6):715-728, 1993.
173. Spector AA, Burns CP: Biological and therapeutic potential of membrane lipid modification in tumor. *Cancer Res* 47: 4529-4537, 1987.
174. Sudo Y, Valenzuela D, Beck-Sickinger AG, Fishman MC, Strittmatter SM: Palmitoylation alters protein activity: blockade of G(o) stimulation by GAP-43. *EMBO J.* 11(6):2095-102, 1992.
175. Surawicz TS, Davis F, Freels S: Brain tumor survival; result from national cancer data base. *J Neuro-Oncology.* 40(2): 151-160, 1998.
176. Swamy-Mruthinti S, Carter AL: Acetyl-L-carnitine decreases glycation of lens proteins: in vitro studies. *Exp Eye Res* 69:109-115, 1999.
177. Tagliatela G, Angelucci L, Ramacci MT, Werrbach-Perez K, Jackson GR, Perez-Polo JR: Stimulation of nerve growth factor receptors in PC12 by acetyl-L-carnitine. *Biochem Pharmacol.* 44(3):577-85,1992.
178. Tamai I, Ohashi R, Nezu J, Yabuuchi H, Oku A, Shimane M, Sai Y, Tsuji A: Molecular and functional identification of sodium ion-dependent, high affinity human carnitine transporter OCTN2. *J. Biol. Chem.* 273(32): 20378-82, 1998.

179. Tanphaichitr V, Home DW, Broquist HP: Lysine: a precursor carnitine in the rat. *J. Biol Chem* 246: 6364-66, 1971.
180. Tempesta E, Janiri L, Pirrogelli C. Stereospecific effects of acetylcarnitine on the spontaneous activity of stem neurones and their responses to acetylcholine and serotonin. *Neuropharmacology*. 24:43-50,1985.
181. Tempesta E, Janiri L, Salera P: The effects of microiontophoretically applied D-L-acetylcarnitine on single neurons in the rat brain stem. *Neuropharmacology*. 21:1207-1210, 1982.
182. Tmita M, Sendu Y: über Die Oxyaminverbindungen welche die Biuretreaktion zeigen. III: Spaltung der  $\alpha$ -Amino- $\beta$ -Amino-oxibuttersäure in die optisch aktiven komponenten. *Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem.* 169:263-277,1927.
183. Vesci L, Tobia P, Corsico N, Martelli EA, Arduini A: Characterization and subcellular localization of L-[3H] carnitine binding sites in rat brain. *J Neurochem*. 64(6):2783-91, 1995.
184. Vescovi G, Weber B, Matrat M, Ramacci C, Nabet P, Kremer B: Modulation by palmitoylcarnitine of calcium activated, phospholipid-dependent protein kinase activity, and inhibition of melanoma cell growth. *Br. J. Dermatol*. 19:171-8,1988
185. Wander RJA, Van Roemound CWT, Van Wijland MJA, Schutgens RBH, Schram AW and et al: Studies on the peroxisomal oxidation of palmitate and lignocerate in rat liver. *Biochim. Biophys. Acta*. 919:21-25, 1987.
186. Warren G. Bridging the gap. *Nature (London)* . 362: 297-298, 1993.
187. Warshaw JB, Terry ML: Cellular energy metabolism during fetal development. *Dev. Biol*. 52:161-166, 1976.

188. Wawrzencyk A, Nalecz KA, Nalecz MJ. Effect of externally added carnitine on the synthesis of acetylcholine in rat cerebra cortex cells. *Neurochem Int.* 26(6):635-41, 1995.
189. Werner MH, Schold SC Jr: Primary intracranial neoplasms in the elderly. *Clin Geriatr Med.* 3:765-779, 1987.
190. Wittels B and Hochstein P. The identification of carnitine palmitoyltransferase in erythrocyte membranes. *J. Biol. Chem.* 242(1):126-130, 1967.
191. Woeltje KF, Kuwajima M, Foster DW, McGarry JD: Characterization of the mitochondrial carnitine palmitoyltransferase enzyme system. II. Use of detergents and antibodies. *J Biol Chem* 262:9822-9827, 1987.
192. Yakes FM, Van Houten B: Mitochondrial DNA damage is more extensive and persists longer than nuclear DNA damage in human cells following oxidative stress. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94: 514, 1997.
193. Zouki C, Jozsef L, Ouellet S, Paquette Y, Filep JG: Peroxynitrite mediates cytokine-induced IL-8 gene expression and production by human leukocytes. *J Leukoc Biol* 69: 815, 2001.