

T.C.
GENELKURMAY BAŐKANLIĐI
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ
ASKERİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ ONKOLOJİ BİLİM DALI BAŐKANLIĐI

**TESTİS KANSERLİ HASTALARDA PLAZMA VE ERİTROSİT
LİPİD PEROKSİDASYON DÜZEYLERİ**

YANDAL UZMANLIK TEZİ

A.Bekir ÖZTÜRK
Tbp.Bnb.

ANKARA - 1997

ÖNSÖZ

Bu tez Prof.Tbp.Tuğg. Atilla YALÇIN tarafından Kasım 1995 tarihinde verildi. Testis kanserleri, uygun cerrahi, radyoterapi ve kemoterapinin tek veya birlikte kullanımları ile tamamen iyileşebilen solid tümörlerdir. Testis kanserlerinin etyopatogenezi hala tam olarak aydınlatılabilmemiş değildir. Lipid peroksidasyon, membran fosfolipidlerindeki doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna neden olan ve böylece membranın lipid yapısını değiştirerek, hücre yapı ve fonksiyonlarını bozan bir olaydır. Lipid peroksidasyon meme kanseri, multipl myeloma, kolon kanserleri, lenfomalar gibi malignitelerde karsinogenezisden sorumlu tutulmaktadır.

Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı uzmanlık öğrenciliğim süresince yetişmemde büyük katkıları olan değerli hocalarım Prof.Tbp.Tuğg. Atilla YALÇIN'a, Doç.Tbp.Kd.Bnb. Ahmet ÖZET'e, Doç.Tbp.Bnb. Fikret ARPACI'ya, teşekkürü bir borç bilirim.

Tezimin hazırlanmasında büyük katkıları olan Tıbbi Biolog Dr.Mehmet GÜVEN'e, değerli bilgileri ile bana yön veren Epidemiyoloji B.D. Öğretim Üyesi Doç.Tbp.Bnb.Onur HAMZAOĞLU'na, beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum Tbp.Kd.Yzb. Şeref KÖMÜRCÜ ve tüm GATA T.Onkoloji çalışanlarına teşekkür ederim.

Tbp.Bnb. A.Bekir ÖZTÜRK

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
GİRİŞ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	2
GEREÇ VE YÖNTEM.....	18
BULGULAR.....	20
TARTIŞMA.....	26
ÖZET.....	30
SUMMARY.....	31
KAYNAKLAR.....	32

GİRİŞ

Testis kanserleri uygun cerrahi, radyoterapi ve kemoterapinin birlikte kullanımlarıyla tamamen iyileşebilen solid tümörlerdir. 20-35 yaş arasındaki erkeklerde en sık rastlanan tümördür.

Testis kanserlerinin etyopatogenezi halen tam olarak aydınlatılabilmemiş değildir. Lipid peroksidasyon membran fosfolipidlerindeki doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna neden olan ve böylece membranın lipid yapısını değiştirerek hücre yapı ve fonksiyonlarını bozan bir olaydır. Meme kanseri, multipl myeloma, kolon kanserleri, lenfomalar gibi malignitelerde karsinogenezisten sorumlu tutulmaktadır.

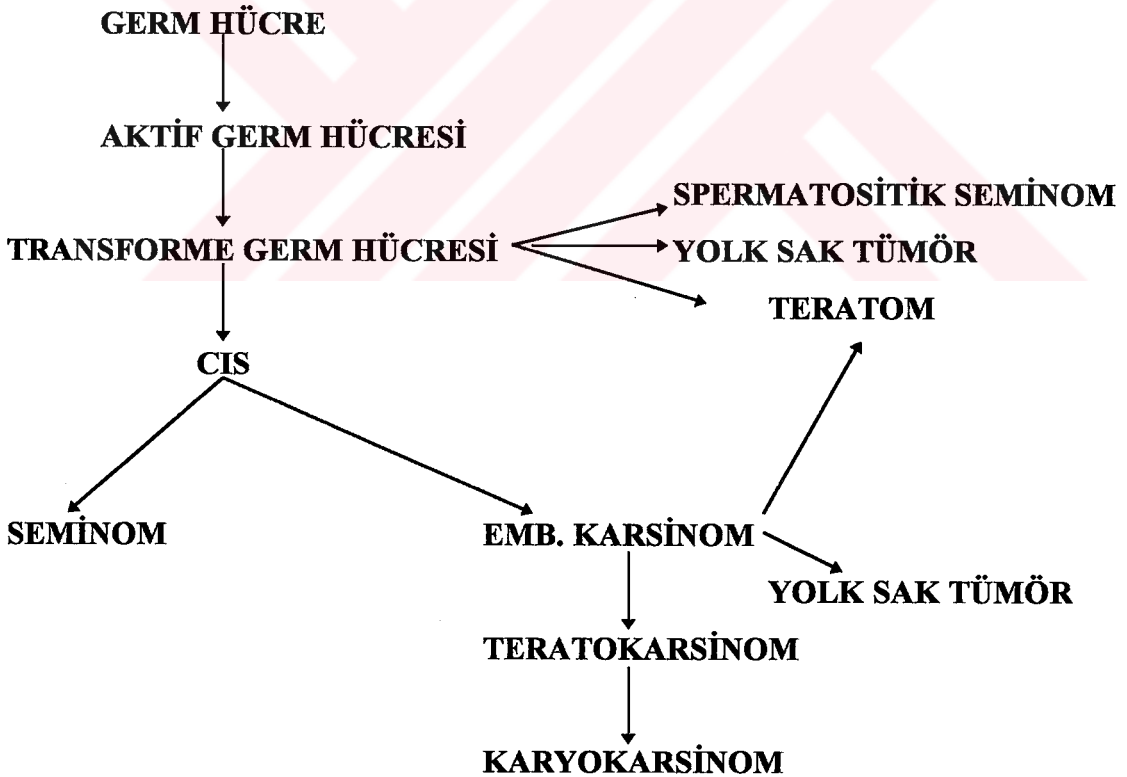
Bu çalışmada Kasım 1995- Haziran 1997 yılları arasında testis kanseri tanısı almış olgularda lipid peroksidasyon çalışarak elde ettiğimiz sonuçları literatürdeki sonuçların ışığı altında irdeledik.

GENEL BİLGİLER

Testis kanserleri 20-35 yaş arası erkeklerde en sık rastlanan malignitedir (23). Bu yaş grubunda ölüm nedenleri arasında 3. sırayı almaktadır (1).

Etyoloji

Tümörün etyolojisi bilinmemektedir. Yapılan bazı çalışmalarda hücrelerde “external growth” faktörlerden ve regülatörlerden bağımsız olarak malign değişikliklerin olduğu gösterilmiştir. İnsan germ hücrelerinde bu malign transformasyon morfolojik olarak tanımlanmış ve “Carsinoma İnsitu” (CIS) denmiştir(Şekil 1). Bu hücreler normal spermatogenetik maturasyona girmemekte ve çekirdekte karyotipik değişikliklerle malign özellikler arzetmektedir. Germ hücreleri kanserlerin büyük kısmı izokromozom 12’ye sahiptir. Nonseminom tümörlerde yüksek sıklıkta 1. Kromozom anormalliği vardır.



Şekil 1: Testiküler Germ Hücreli Kanserlerin Histogenezisi

Tablo I: Testis Kanserlerinde Risk Faktörleri

Belirli Korelasyon Kurulan	Korelasyon Kurulmayan
*Kriptorşidi	*Yaş
*İnguinal Herni	*Travma
*Kabakulak Orşiti	*Prenatal DES Kullanımı
*Aile Hikayesi	
*Beyaz Irk	
*İnfertil Erkek	

Kriptorşidik testislerde % 6.5 oranında kanser gelişme riski vardır. Kriptorşidi tedavisi 2 yaşın altında yapıldığı takdirde risk azalmaktadır. Kanser sağ tarafta daha çok görülür.

Klinik Semptomlar

Testis kanserlerinde sağkalım hastalığının başlangıçtaki evresi ve tümör yükü ile direkt ilgilidir.

Alışılmış olarak prezentasyon bir gonadda ağrısız şişme veya nodül oluşumudur. Aksi ispat edilinceye kadar tüm testiküler kitleler malignite olarak kabul edilmelidir. % 10 olguda akut ağrı başlangıç semptomu olabilir. Çok nadir olarakta infertilite şikayeti nedenidir.

Ayrıca;

- Retroperitoneal adenopatilere bağlı sırt ve karın ağrısı
- Kilo kaybı
- Pulmoner metastazlara bağlı dispne

- Jinekomasti (%5 olguda)
- Supraklaviluler lenfadenopati
- Üriner obstruksiyon, klinik semptomlar arasındadır.

Tablo II: Testis Kanserlerinin Sınıflaması

A. GERM HÜCRELİ KANSERLER

- Seminom
- Nonseminom
 - Embriyonel Karsinom
 - Teratom
 - Koryokarsinom
 - Yolk Sak Tümör
 - Mikst germ hücreli kanser

B. GERM HÜCRE DIŐI KANSERLER

- Leydig hücreli tümör
- Gonadoblastoma
- Rete testisin adenokarsinoması
- Mezenşim orjinli tümörler
- Adenomatoid tümör

C. METASTATİK KANSERLER

- Lenfomalar
- Lösemiler

SEMINOM

Seminom germ hücreli tümörlerin en sık görülen formu olup tüm olguların %50'sini teşkil eder. Ortalama görülme yaşı 35-40'tır. Seminom çok az miktarda Koryonik Gonadotropin ile beraber Plasental Alkalen Fosfataz sekrete edilebilir (17). Plazma beta human koryonik gonadotropik hormon (β hCG) seviyesi

yüksek bulunan pür seminom olgusunda sinsisyotrofoblastik dev hücre komponentinden şüphelenilmelidir.

Bu kanserlerin metastaz potansiyeli son derece düşük olup %75 olguda başlangıçta metastaz saptanmaz (Evre A). Bu olgular kanserin radyosensitif olması nedeniyle ipsilateral paraaortik ve pelvik lenfnodlarının ışınlanmasıyla tam kür elde edilebilir. Relaps %5'dir ve sıklıkla geç olarak uzak bir bölgede ortaya çıkar. Seminomların %20'sinde metastatik hastalık abdomendedir. Bunlardan düşük hacimde olanları (5 cm.'den daha az Evre B₁ ve B₂) radyoterapi ile tedavi edilirler. Bazı gruplar bu durumdaki hastalarda Carboplatin kapsayan kemoterapi rejimleri önermektedir.

Bulky disease, radyoterapiden sonra relaps gelişmiş olgular ve başlangıçta yaygın hastalığı olanlarda kemoterapi ile %80 sağkalım elde edilmektedir(30).

SPERMATOSİTİK SEMİNOM

Spermatositik seminom; seminom'un bir varyantı olarak klasifiye edilmektedir. Tüm testis germ hücreli kanserlerin %1-2'sini oluşturur. Genellikle yaşlı hastalarda görülür ve 6. dekatta sık rastlanır. Testiküler bir lezyon olup, testis dışında neoplazm olarak rastlanmamıştır. Spermatositik seminom kesinlikle metastaz yapmaz. Bu nedenle orşiektomi yeterli bir tedavidir.

Şayet spermatositik seminom sarkomatöz komponente sahipse oldukça malign karakter taşır. Hematojen yolla sarkomatöz komponent metastaz yapar.

EMBRYONAL KARSİNOM

Embriyonal Karsinom pür testis kanseri olarak %2-3 oranındadır. Daha sıklıkla mikst germ hücreli kanserlerin bir komponentini oluşturur(%40). Extragenadal embriyonal karsinomun az diferansiye adenokarsinomadan ayrımı çok zordur. Nonseminom germ hücreli kanserler kemoterapi ve cerrahi kombinasyonu ile tedavi edilmektedir.Evre A ve non Bulky Evre B hastalarda %95'in üzerinde sağkalım elde edilmektedir(30). Retroperitoneal Bulky tutulumla ve ilerlemiş evrelerde sağkalım %70-80'e düşmektedir(30).

TERATOM

Teratom pür testis tümörlerinin çok az bir kısmını teşkil eder(~ %3). Sıklıkla Mikst germ hücreli kanserlerin bir komponentidir. Pür matür teratomlar çocuklarda erişkinlere göre daha fazla gözlenir. Postpubertal hastalarda pür matür teratomlar metastaz yapma eğilimine sahiptirler. Metastaz yolunda matür teratomların vasküler invazyonu ile olmaktadır. Teratomları testisin dermoid veya epidermoid kistlerinde ayırımını yapmak önemlidir.

YOLK SAK TÜMÖR

Yolk Sak Tümör çocukluk çağı testis kanserlerinin en sık görülenidir. Germ hücreli kanserlerin çocuklarda 2/3'sini teşkil etmektedir. Erişkin popülasyonda nonseminom germ hücreli kanserlerin %40-50'sini teşkil etmektedir. Pür neoplazmdan ziyade germ hücreli kanserlerin komponentini oluşturmaktadır. Yolk Sak tümörlerde serumda AFP yüksek seviyede bulunur.

KORYOKARSİNOM

Germ hücreli testis kanserlerinin çok az bir kısmını teşkil eder(%0.3). germ hücreli kanserlerin %7'sinde bir komponent olarak saptanır. Pür koryokarsinomlu olgular metastatik hastalık olup, primeri testislerde gizli olarak bulunur. Koryokarsinom diğer germ hücreli kanserlere göre çok kötü bir prognoza sahiptir. Bu da subklinik safhada çok hızlı yayılımına bağlanmaktadır.

Yapılan çalışmalarda serum β -hCG seviyelerinin yüksekliği kötü prognoz göstergesidir. Bir çalışmada β -hCG seviyesi 100-500 IU/L üzerinde ise kötü prognoz faktörü olarak sayılmaktadır(30). İlave olarak pür koryokarsinom, koryokarsinom komponenti olan mikst germ hücreli kanserlere göre daha kötü prognoza sahiptir ve bunun sebebi bilinmemektedir.

MİKST GERM HÜCRELİ KANSER

Mikst germ hücreli kanserler testisin en sık gözlenen tümörleridir. Tüm testis germ hücreli kanserlerinin 1/3'ünü oluştururlar. Poliembryoma, embriyonal karsinom ve Yolk Sak tümör kompozisyonundan oluşur.

BİYOLOJİK TÜMÖR BELİRTEÇLERİ (MARKERLARI)

Testisin germ hücreli kanserleri periferik kanda saptanabilen biyolojik tümör belirteçleri salgırlar. Orşiektomiye izleyen kandaki inatçı yükseklikleri metastatik hastalığı düşündürür.

Belirteçlerin izlenmesi tedaviyi düzenlemede de önemlidir. Belirteçlerin düşmesi hastalığın regresyonunu, artması ise progresyonu gösterir. En yaygın olarak kullanılan iki belirteç Alfaetoprotein (AFP) ve β -hCG'dir. AFP genellikle embriyonel karsinom tarafından sekrete edilir ve biyolojik yarı ömrü 6 gündür. AFP pür seminomlar tarafından üretilmez. Böyle bir durumda non seminomatöz elementlerin varlığı düşünülmelidir. Ya da metastaz olasılığı akla gelmelidir. β -hCG ise sinsisyorofoblastik dev hücreler tarafından sekrete edilir. Embriyonel karsinom, koryokarsinom ve pür seminomlar tarafından üretilir. Biyolojik yarı ömrü ortalama 24 saattir. β -hCG biyolojik olarak aktif olup, testislerden östrojen salınımına ve bunun sonucunda jinekomastiye sebep olabilir. Son zamanlarda Laktat Dehidrogenaz İzoenzim-1 (LDH-1) de önemli bir belirteç olarak kabul görmüş olup, tümör yükünü gösterir(17,30).

EVRELENDİRME

Fonksiyonel evrelendirme; kanserin testise, bölgesel lenfatiklere veya veya geniş bir yayılımda olup olmamasını ortaya koymak açısından önemlidir. Böyle bir bilgi başlangıçta lokal veya rejyonal tedavi uygulanmasında da önem taşımaktadır.

Evrelendirmede çok yaygın olarak Maier-Sulak ve Skinner'in sistemi kullanılmaktadır(Tablo III).

TabloIII: Testis Kanserlerinde Evrelendirme

WALTER REED GENERAL HOSPİTAL	SKINNER
IA: Testiste lokalize. Yayılıma ait klinik ve röntgenolojik bulgu yok.	A: Aynı fakat lenf nodu diseksiyonunda pozitif nod yok.
IB: IA ile aynı fakat iliak ve paraaortik lenf nodlarında metastaz mevcut.	B: Hastalık diafragmanın altında, akciğer filmi ve mediastinum normal.
II: Hastalık diyafragmanın altında organ yayılım yok. Paraaortik,femoral, inguinal, iliak lenf nodları tutulumuna ait klinik veya röntgen bulgusu mevcut.	B1: 6'dan az lenf nodu tutulumu mevcut, retroperitoenal yağ dokusuna yayılım yok.
III: Diyafagma üstünde hastalık mevcudiyeti veya organ yayılımının olması	B2: 6'dan fazla lenfnodu tutulumu ve retroperitoneal yağ dokusuna yayılım mevcut. B3: Bulky abdominal kitle (>5 cm) C: Hastalık diyafragma üstü lenfnodlarına yayılmış veya organ yayılımının olması.

SERBEST RADİKALLER

Serbest radikal, dış yörüngesinde çiftleşmemiş elektron içeren atom, molekül veya iyonlara verilen addır. Bunlar elektron çiftleşmesine doğal eğilimleri olduğu için kendilerine bir ortak ararlar. Bu nedenle bir çok serbest radikal son derece reaktiftir ve sonuç olarak yaşam süreleri kısadır. Yakınındaki herhangi bir molekül ya da atoma elektron vererek (okside olarak) veya elektron alarak

(redükte olarak) reaksiyona girer(6,9,18). Enflamasyon, radyasyon, hava kirliliği, sigara, pestisidler, asbestoz, fenobarbital, antineoplastik ilaçlar gibi bir çok faktör radikal oluşumunu ve hasarı başlatabilir(11).

LİPİD PEROKSİDASYON

Lipid peroksidasyon membran fosfolipidlerindeki doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna neden olan ve böylece membranın lipid yapısını değiştirerek hücre yapı ve fonksiyonlarını bozan bir olaydır (3).

Hücre membranlarının oksijen radikallerine maruz kalması lipid peroksidasyon reaksiyonlarını uyarır. Doymamış yağ asitleri peroksidasyona özellikle hassastırlar. Lipid peroksidasyon organizmada oluşan kuvvetli bir radikal etkisiyle, doymamış yağ asidi zincirindeki α -metilen karbonundan bir hidrojen atomunun uzaklaşması ile başlar(9). Hidrojenin molekülen ayrılması, ayrıldığı yağ asidi zincirinin radikalleşmesine neden olur. Oluşan lipid radikali dayanıksız bir yapıya sahip olduğu için bir dizi spontan değişikliğe uğramaktadır. Lipid radikalının moleküler oksijen ile reaksiyona girmesi sonucu bir lipid peroksid radikali (LOO^{\cdot}) meydana gelir. Bu radikaller de membran yapısındaki diğer doymamış yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumuna sebep olur. Ve açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid hidroperoksitlerine ($LOOH$) dönüştürler. Bu otokatalitik reaksiyonlar lipid hidroperoksitlerinin aldehit (malondialdehit), alkalenler, lipid epoxid ile etan ve pentan gibi uçucu gazlara dönüşmesi ile sona erer (20)

Aldehitler en toksik ürünlerdir. Malondialdehit (MDA) ve lipid peroksidasyonun diğer son ürünleri nispeten stabil olmaları nedeniyle hücrelerin daha uzak bölümlerine ya da diğer hücrelere ulaşabilirler. Böylece lipid peroksidasyonu direkt olarak peroksidatif hasara maruz kalmayan dokulara da zarar verebilir(20).

Otoksidasyon, geçiş metallerinin varlığında (demir, bakır) belirgin ölçüde artar. Otoksidasyon fizyolojik şartlarda çok yavaş ve sınırlı bir prosestir. Ancak

patolojik durumlarda hızlanır ve yayılarak tüm biyomoleküllere (proteinler, karbonhidratlar, nükleik asitler) zarar verebilir(6).

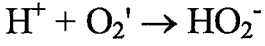
Tablo IV: SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ

Tablo :Serbest Oksijen Radikal Türleri		
1O_2	→	Singlet Oksijen
ROO^{\cdot}	→	Peroksi Radikali
$LOOH$	→	Lipid Hidroperoksit
HO_2^{\cdot}	→	Perhidroksi Radikali
O_2^{\cdot}	→	Superoksit Radikali
OH^{\cdot}	→	Hidroksil Radikali
H_2O_2	→	Hidrojen Peroksit
RO^{\cdot}	→	Alkoxy Radikali

Moleküller oksijenden oluşan radikaller canlı ve cansız maddeler için ciddi bir tehlikedir. Normal şartlar altında moleküller oksijenin çoğu intrasellüler sitokrom oksidaz sisteminin etkisiyle suya dönüşür(18). Ancak mitokondrial ya da mikrozomal elektron transport zinciri veya oksidan enzimler (ksantin oksidaz, aldehit oksidaz, siklooksijenaz, lipooksijenaz gibi) aracılığıyla univalan redüksiyon gerçekleşirse reaktif ara ürünler oluşur ve bunlar biyolojik sistemlere hasar verebilir(9,18). Superoksit radikal anyonu (O_2^{\cdot}), hidrojen peroksit(H_2O_2) ve hidroksil radikali (OH^{\cdot}) bu ara ürünlerin en önemlileridir. Bu yüzden yaşayan organizmalarda oksidatif enzimler gelişmiştir. Sitokrom oksidaz bu enzimlerden birisidir. Oksijenin tetravalan redüksiyonunu katalize eder ve hücre metabolizması sırasındaki oksijen tüketiminin büyük bir kısmından sorumludur. Bununla beraber hücre metabolizması sırasında az miktarda reaktif oksijen ürünleri oluşur. Normal şartlar altında defans sistemleri bunları metabolize eder. Ayrıca hidrokinoonlar, katekolaminler gibi çeşitli kimyasal bileşiklerin

otooksidasyonu sırasında,enzimatik süreçler sırasında, hücre organellerinde ve trombosit ya da fagositler gibi hücrelerin fonksiyonları sırasında da reaktif oksijen ürünleri oluşur(9).

Superoksit radikali ($O_2^{\cdot -}$) reaktivitesi sınırlıdır. Ancak geçiş metallerini ve organik maddeleri okside etme ve daha reaktif oksijen ürünlerine dönüşme yeteneğine sahip oldukları için önemlidirler. Superoksit radikali fagosit vakuolü ya da hücre membran mikroçevresi gibi asit ortamlarda perhidroksi radikaline ($HO_2^{\cdot -}$) dönüşür.



$HO_2^{\cdot -}$ $O_2^{\cdot -}$ 'den daha güçlü bir oksidandır ve sitotoksiktir.

Hidrojen Peroksit (H_2O_2), moleküler oksijenin divalen redüksiyonu ile veya $O_2^{\cdot -}$ den superoksit dismutaz enziminin (SOD) katalizliği ile oluşur(6).

SERBEST RADİKAL REAKSİYONLARIN KONTROL MEKANİZMALARI

Yaşayan organizmalar fizyolojik şartlarda bazı serbest radikal ürünleri içerdiği için, bunların reaksiyonlarını kontrol altında tutan doğal mekanizmalar olması gerekir.

Reaktif oksijen ürünlerinin toksik etkilerine karşı korunma sağlayan maddelere antioksidan denir. Vitamin A,C,E,K,Selenyum, urat, glukoz, ubikinon doğal antioksidanlar arasındadır. Antioksidanlar lipid peroksidasyonunun farklı safhalarında etkili olabilirler(18).

Vitamin C; Güçlü bir indirgen ajandır. Hidrojen atomlarını kolayca kaybeder ve zincir reaksiyonunu kırarak bir antioksidan olarak rol oynayabilir. Peroksi radikallerle reaksiyona girer ve stabil monodehidroaskorbat oluşur. Ayrıca Vitamin E'den peroksi radikaline hidrojen transferinden sonra oluşan vitamin E radikalini rejenere eder(3).

Vitamin E; Antioksidan etkisi hücre membranında hidroperoksitlere hidrojen vermesi yoluyla ortaya çıkar. Böylece hidroperoksitlerin oluşumu engellenir, zincir reaksiyonu sonlanır ve patolojik serbest radikal reaksiyonların

genişlemesi önlenir(3,18). Eritrositlerde polimorfonükleer hücelere göre 30-50 kat daha fazla bulunur.

Vitamin A; Epitel dokunun farklılaşmasında ve gelişmesinde bir rol oynar ve antikarsinojenik etkiye sahiptir. Antikarsinojenik ve antioksidan etkileri doymamış yağ asidi içeriği ile ilişkili olabilir. Bu, lipid peroksidasyonu için alternatif bir yol sağlar. Ayrıca metallerle şelasyon yapma özelliği de antioksidan ve antikarsinojenik etkilerine katkıda bulunabilir(20).

Ürik asit, bilirubin; Serbest radikali indirgeyerek kendileri oksitlenir(6).

Selenyum; Selenyum bağımlı glutatyon peroksidaz enziminin bir ögesidir.

Serbest radikal hasara karşı korunma sağlayan antioksidan enzimler de vardır. Superoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutatyon peroksidaz bu enzimler arasında en önemlileridir(20). Glutatyon konsantrasyonu alveolar sıvıda plazmaya göre 100 kat fazla bulunur. SOD ise kalpte karaciğere göre daha fazla bulunur(20).

Superoksit dismutaz $O_2^{\cdot-}$ 'in ortadan kaldırılmasına aracılık eder. SOD'nin Mn, Fe ve Cu + Zn içeren formları aerobik organizmaların hücrelerinde her zaman bulunur. SOD superoksit radikalinin hidrojen peroksitide dismutasyonunu katalize eder (18).

H_2O_2 bir hem enzimi olan katalaz ve çeşitli peroksidazlar (glutatyon peroksidaz gibi) tarafından ortadan kaldırılır. Katalaz H_2O_2 'yi suya yıkan demir kapsayan bir enzimdir. Düşük intrasellüler H_2O_2 konsantrasyonlarında katalaz fazla aktif değildir. Oluşan yağ asitleri hidroperoksitlerini glutatyon peroksidaz enzimi hidroksi yağ asitlerine dönüştürerek detoksifiye eder. Antioksidan enzimlere ilave olarak, düşük molekül ağırlıklı nonprotein sulfidriller (glutatyon, sistein, sisteinil glisin) aktif oksijene karşı hücrel korunmada rol alırlar(3). DNA'da oluşan oksidatif hasarları ortadan kaldırmak için Endonükeaz III, Exonükeaz III, Endonükeaz IV enzimleri görev alırlar. Endonükeaz IV enzim defekti Bleomycin'in hücrel etkisinden sorumludur. Ayrıca DNA metilaz, oluşan metilasyonu geriye döndürür(20).

Tablo V : Vücutta bulunan antioksidan etkiye sahip maddeler

1-Antioksidan enzimler

- Superoksit Dismutaz (SOD)
- Katalaz
- Glutasyon peroksidaz
- Glutasyon redüktaz
- Glutasyon -S transferaz

2-Antioksidan proteinler

- Seruloplazmin
- Transferrin
- Laktoferrin
- Albumin
- Haptoglobulin

3-Antioksidan düşük molekül ağırlıklı maddeler

- Glutasyon
- Askorbat (C Vit.)
- (Tokoferol (E Vit.)
- (Karoten (A Vit.)
- Ürat

PATOLOJİK SERBEST RADİKAL REAKSİYONLARI

Hücrede ortaya çıkan kontrolsüz anormal radikal reaksiyonlara patolojik serbest radikal reaksiyonları denir. Bu tip reaksiyonlar eğer kontrol mekanizmaları bazı nedenlerle yetersiz kalırsa, fizyolojik şartlar altında oluşan radikaller tarafından da oluşturulabilir(3). Bunun dışında eksojen ajanlarla ve fiziksel etkenlerle de (iyonize radyasyon, UV gibi) oluşabilir(3). Hücre membranının peroksidasyonu ile membran rijid bir yapı kazanır, seçici permabilitesi ve diğer hücrelerle ilişkisi de kaybolur. Oluşan, suda eriyebilen lipid peroksidasyon ürünleri hücre içine girerek protein agregasyonuna yol açabilir(20).

Sulu solusyonda lipid peroksidasyona maruz kalan proteinlerde ve enzimlerde polimerizasyon, polipeptid zincirlerinde kırılma ve aminoasit yapısında değişiklikler oluşabilir(20).

Biomembranlar ve organeller lipid peroksidasyonun sebep olduğu hasarın esas hedefleridir. Mitokondrial ve mikrozomal membranlar fosfolipidlerinde plazma membranına göre daha fazla doymamış yağ asidi içerdiklerinden peroksidasyona daha hassastır. Lizozomal membran hasarı intrasellüler katabolizmaya sebep olur. Ancak lizozomlar daha az doymamış yağ asidi içerdiklerinden peroksidasyona daha dayanıklıdır.

İnsan ve hayvan dokularında yaşlanmanın bir sonucu olarak lipofuscin pigmentleri birikir. Bunlar hücre organellerindeki membranların doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu ortaya çıkan lipid-protein kompleksleridir ve lizozomal sindirimin son ürünleridir(20).

Yaşayan organizmalarda DNA'da serbest radikallere bağlı ortaya çıkan hasar, ana zincirlerin veya yan zincirlerin kırılması, bazların parçalanması ve hidrojen bağlarının ayrılmasına bağlı olabilir. Nükleik asitlerin tüm componentleri serbest radikal hasarına maruz kalabilir. Bunlar kalıcı olabilir ya da özel mekanizmalarla tamir edilebilir. Bazlarda tamir edilemez bir hasar meydana gelmesi mutasyona ve değişmiş gen ekspresyonuna sebep olabilir(20).

KARSİNOGENEZDE SERBEST RADİKAL REAKSİYONLARININ ROLÜ

Tümörlerin çoğunda çevresel faktörlerin ilişkisi olduğu gösterilmiştir. Her ne kadar çevresel karsinojenler farklı yapıda olsa da, bunlar hemen hemen istisnasız olarak serbest radikal mekanizmalar yoluyla etkili olurlar. Bunların ya kendisi serbest radikaldir ya da aktive oldukları zaman serbest radikallere dönüşürler veya indirekt olarak patolojik serbest radikal reaksiyonlara sebep olurlar(3).

Aktivasyon için gereken enzimler (sitokrom P-450 gibi) endoplazmik retikulumda ve nükleer membranda bulunur. Böylece aktif metabolitler genetik

materyale direkt olarak hasar verebilirler(6,20). Kimyasal karsinojenlerin etkisine karşı koruyucu bazı mekanizmalar vardır;

1-Aktif formların oluşumunun engellenmesi

2-Karsinojen detoksifiye eden sistemlerin stimülasyonu(mikrozomal monooksidaz sistemi, epoksit hidrolaz, UDP glukronil transferaz, glutatyon-S transferaz)

3-Hedefle ilişkiden sonra etki eden mekanizmalar.

Yüksek doymamış yağ asidi ve düşük antioksidan içeren diyetlerin ve rekürren inflamasyonların karsinojenik etkisinde ve antrasiklin antitümör antibiyotiklerin sekonder tümörlere sebep olan etkisinde serbest radikal reaksiyonların rolü vardır(3).

Antioksidanların antikarsinojenik etkileri olduğu ispatlanmıştır. Antioksidanlar bu koruyucu mekanizmalarda biri yoluyla etkili olabilirler(6).

Yaşlanma, ateroskleroz, karsinogenezis ve mutagenesis arasında ilgi çekici bir ilişki vardır. Plazma lipid peroksid seviyeleri Diabetes Mellitus'lu hastalarda yüksek olarak bulunmuş ve diabete bağlı anjiopatilerden sorumlu tutulmuştur(24). Cerebral infarktüs veya kanama ile hospitalize edilen hastalarda da yüksek bulunmuştur(16). Lipid peroksidasyonun bu süreçlerde major rol oynadığı biliniyor. Karsinojenik ve mutajenik bir etkiye sahip olduğu gösterilmiş olan MDA, lipid peroksidasyonun son ürünlerinden biridir. Yaşlanma ve aterosklerozda artmış lipid peroksidasyon sonucu ortaya çıkan MDA gibi lipid peroksidasyon ürünleri karsinojen etki gösterir(16,21).

Çeşitli araştırmalarda ise tümör dokusunda lipid peroksidasyonun azaldığı gösterilmiştir. Bunun sebebi; intrasellüler doymamış yağ asidi eksikliğine, sitokrom P-450 eksikliğine ya da belki fazla miktarda antioksidan üretimine bağlı olabilir. Başlangıçta lipid peroksidasyon artar, buna dokular kompensatuvar mekanizmalarla cevap verir, ancak sonuçta lipid peroksidasyon bunlara galip gelir ve doymamış yağ asitleri, sitokrom P-450 düzeyi ve reaktif oksijen ürünlerinin yapımı azalır(9).

Sonuç olarak reaktif oksijen ürünleri ve bunlara karşı etki eden koruyucu sistemler arasındaki dengede bir kayma olması karsinogeneziste önemli bir rol oynayabilir. Karsinogenezisin başlangıç ve ilerleme safhalarının her ikisinde de patolojik serbest radikal reaksiyonlarının ilgisi vardır.

LİPİD PEROKSİDASYON ÖLÇÜMLERİ

Biyolojik hasarla karakterize serbest radikal reaksiyonlar arasında en belirgin olanı lipid peroksidasyonudur. Bu nedenle bir dokunun, bir organın ya da tüm organizmanın lipid peroksidasyon düzeyini tayin etmek için çeşitli metodlar geliştirilmiştir(19,34).

Lipid peroksidasyon seviyeleri yaşla beraber artış gösterir. Orta yaş grubu bayanlarda, erkeklere göre düzeyi daha az saptanır. Bayanlarda sex hormonlarının antioksidan etkisi olabileceği düşünülmüştür.

Tablo VI : Lipid Peroksidasyon Düzeyini Tayin Etmek İçin Kullanılan Metodlar

- 1-MDA ölçümleri
- 2-Konjuge dienlerin UV absorpsiyonunun değerlendirilmesi
- 3-Floresan ürünlerin analizi
- 4-Kemiluminesans ölçümleri
- 5-Oksijen tüketiminin ölçülmesi
- 6-Lipid peroksidlerin analizi
- 7-Etan ve pentan oluşumunun ölçülmesi
- 8-Membran fosfolipidlerinden doymamış yağ asidlerinin kaybının ölçülmesi

Her ne kadar bu metodlardan hiçbirisi bir biyolojik örneğin lipid peroksidasyon durumunun güvenilir bir şekilde tespitine izin vermese de ve sıklıkla birden fazla metod kullanmak gerekse de MDA tayini biyolojik

sistemlerde oksidatif hasarın derecesini ölçmede en sık kullanılan teknik olmuştur(34).

MDA serbest formda ya da çeşitli doku elemanlarıyla bir kompleks oluşturmuş durumda bulunabilir. Bazı makromoleküllerin oksidatif yıkımı sırasında oluşur. İyonize radyasyon tarafından oluşan bir serbest radikal ürünü olarak ve prostoglandin biyosentezinde bir yan ürün olarak ortaya çıkar. Ancak doymamış yağ asidlerinin peroksidasyonu en önemli kaynaktır. Linoleik asit gibi iki adet çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sırasında MDA oluşabilirse de üç ya da daha fazla çift bağ taşıyan yağ asitleri biyolojik örneklerde MDA'nın esas kaynağıdır. Doku lipid peroksidasyonu sırasında oluşan MDA sellüler düzeyde metabolize edilebilir. Örneğin karaciğerde aldehit dehidrogenaz ile enzimatik olarak yıkılabilir veya bir mitokondrial yolla yıkılabilir ve/veya itrah edilebilir. MDA aynı zamanda hücre hasarıyla ve yaş pigmentleri lipofuscinlerin oluşumuyla da ilgilidir.(11) MDA'nın bazı aminoasitler ve DNA ile reaksiyona girmesi ile ilgili kuvvetli deliller vardır. Ayrıca MDA'nın bazı mutajenik özellikleri olduğu ve kimyasal bir karsinogen olarak rol oynayabileceği bildirilmiştir(11).

Biyolojik örneklerde MDA serbest formda ya da kromoforlarla reaksiyonu sonucu oluşan türevleri şeklinde ölçülebilir. MDA tayini için en geniş şekilde uygulanan metod tiyobarbitürik asitle(TBA) reaksiyonu temeline dayanır. 2 molekül TBA, 1 molekül MDA ile pembe bir pigment oluşturarak reaksiyona girer(34).

GEREÇ ve YÖNTEM

Kasım 1995- Haziran 1997 tarihleri arasında GATA T.Onkoloji Bilim Dalı'nda testis kanseri tanısı konan 20 hasta çalışmaya dahil edildi. Olguların yaşları 20 ile 57 arasında (24.8 ± 8.2) değişmekteydi. 4 olgu Evre A, 10 Olgu Evre B ve 6 olgu Evre C idi. Olguların kan örnekleri Orşiektomiden sonra, kemoterapiden önceki dönemde alındı. Bu olgularda tümör belirteci olarak Alfafetoprotein (AFP), β -hCG ve LDH'da çalışıldı.

Tablo VII :Olguların Evresi

EVRE	SAYI	YÜZDE
A	4	%20
B	10	%50
C	6	%30

Yaşları 20 ile 45 arasında (28.3 ± 6.9) değişen 20 sağlıklı erkek birey kontrol grubu olarak kullanıldı. Kontrollerin seçiminde bir ay içinde önemli bir enfeksiyon geçirmemiş olmaları ve herhangi bir ilaç kullanmamış olmalarına dikkat edildi.

METOD: Hasta ve sağlıklı kontrol olgularından 12 saat açlık sonrası antikoagülant olarak EDTA kullanılarak alınan kan örneği 800 xg'de 10 dakika santrifüj edildi. Plazması, plazma lipid peroksidasyonu için eritrositler de eritrosit lipid peroksidasyonu için ayrıldı.

Eritrosit Lipid Peroksidasyonu

Eritrositler 5 hacim fosfat tamponu (PBS=801 g NaCl, 2.302 g Na₂HPO₄, 2H₂O/L, pH:7.4) ile 3 kez yıkandı. 0.2 ml eritrosit paketi 0.8 ml PBS ve 25 (1 bütülleniş hidroksitoluen (BHT) (88 mg/10 ml alkol)ile karıştırıldı. Bu karışıma 0.5 ml TCA(% 30) eklendikten sonra tüpler çalkanarak iki saat buz içinde

bekletildi. İnkübasyon tüpler santrifüjlenerek (1500xg, 15 Dakika) üst sıvının 1'er ml'si başka tüplere aktarıldı. Bu tüplere 75 (1 EDTA (0.1 M) ve 0.5 ml Tiobarbitürik asit(TBA) çözeltisi (%1 TBA/ 0.05 N NaOH) eklendi ve 15 dakika kaynarsu banyosunda tutulduktan sonra soğutuldu.

Örneklerin absorbanı 532 ve 600 nm'deki absorban 532nm'deki absorbandan çıkarıldı ve MDA için saptanmış molar ekstinksiyon katsayısı ($1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) kullanılarak hesaplanan sonuçlar "nmol MDA/g Hb" olarak ifade edildi.

Plazma Lipid Peroksidasyonu:

0.5 ml plazma üzerine 2.5 ml TCA (% 20) ilave edilerek karıştırıldı. Bunun üzerine 1 ml TBA (%0.67 TBA/ 0.05 N NaOH) eklendi ve 30 dakika kaynar su banyosunda tutulduktan sonra soğutuldu. Üzerine 4 ml bütanol ilave edilerek 1500xg'de 15 dakika santrifüj edildi. Süpernatan absorbanı 535 nm'de okundu. MDA için saptanmış molar ekstinksiyon katsayısı ($1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) kullanılarak hesaplanan sonuçlar "nmol MDA/ml" plazma olarak ifade edildi.

Sonuçların istatistiksel analizi için Independent-Samples T (bağımsız iki grup ortalamalarının karşılaştırılması) testi ve korelasyon analizi kullanıldı.

BULGULAR

İstatistiksel analize tabi tutulan 20 olgunun yaş ortalaması 24.8 ± 8.2 (20-57) olup, kontrol grubunun yaş ortalaması ise 28.3 ± 6.9 (20-45) olarak saptandı.

Histolojik olarak 4 hasta seminom, 6 hasta teratom, 6 hasta embriyonal karsinom, 3 hasta mikst germ hücreli tümör, 1 hasta Yolk Sak tümördür.

Tablo VIII : Olguların Dağılımı

Kanserin Türü	Olgu Sayısı	%
Seminom	4	%20
Teratom	6	%30
Embriyonal Karsinom	6	%30
Mikst Germ Hücreli Tümör	3	%15
Yolk Sak Tümör	1	%5

Benzer yaş gruplarında 20 testis kanserli ve 20 sağlıklı bireye ait plazma ve eritrosit lipid peroksidasyon değerleri Tablo IX ve X da gösterilmiştir.

Tablo IX : Hasta Grubunun Plazma ve Eritrosit Lipid Peroksidaz Düzeyleri

Vaka	Yaş	Evre	Eritrosit Lipid Perok. (nmol MDA/g Hb)	Plazma Lipid Perok. (nmol MDA/ml Plazma)
1	21	B	8.10	12.32
2	20	B	8.3	12.30
3	33	A	6.82	13.21
4	26	B	9.14	14.57
5	20	B	9.68	18.25
6	22	A	10.61	21.54
7	22	A	11.60	22.55
8	57	B	12.66	18.87
9	21	B	10.89	27.35
10	22	C	9.67	19.80
11	24	A	7.94	11.75
12	23	B	7.53	9.92
13	24	C	7.73	7.80
14	24	C	6.80	11.78
15	22	C	12.79	6.47
16	22	C	6.27	14.32
17	23	B	7.79	12.27
18	28	C	8.91	8.10
19	21	B	9.87	14.18
20	20	B	12.95	11.90

Hasta grubunda en düşük ve en yüksek plazma lipid peroksidasyon düzeyleri 6.47 ve 27.35 nmol MDA/g olarak, eritrosit lipid peroksidasyon düzeyleride 6.27 ve 12.95 nmol MDA/g olarak saptanmıştır.

Tablo X : Kontrol Grubunun Plazma ve Eritrosit Lipid Peroksidaz

Düzeyleri

Vaka	Yaş	Eritrosit Lipid Perok(nmol MDA/g Hb).	Plazma Lipid Perok. (nmol MDA/ml Plazma)
1	31	4.89	9.68
2	20	6.52	12.68
3	45	6.41	10.42
4	42	3.20	8.89
5	32	5.20	10.92
6	31	3.29	13.28
7	38	4.57	11.99
8	28	6.21	9.61
9	22	4.64	11.29
10	29	6.55	9.23
11	29	9.68	10.92
12	28	5.05	6.38
13	21	7.23	9.68
14	30	8.19	9.13
15	23	7.93	7.05
16	24	7.26	7.46
17	21	7.02	10.05
18	23	5.83	12.14
19	24	5.56	11.17
20	25	8.29	9.31

Plazma lipid peroksidasyon değerleri ortalaması testis kanserli olgularda 14.51 ± 5.36 , kontrol grubunda 10.07 ± 1.82 ; Eritrosit lipid peroksidasyon değerleri ortalaması testis kanserli olgularda 9.30 ± 2.06 , kontrol grubunda ise 6.18 ± 1.68 olarak saptanmıştır. Bu sonuçlar Student t testine göre karşılaştırıldığında testis kanserli olguların eritrosit lipid peroksidasyon değerleri ve plazma lipid peroksidasyon değerleri ile kontrol grubuna ait değerler arasında istatistiksel olarak farklılık saptanmıştır.

Plazma için $t=3.505$, $p<0.001$, eritrosit için $t=5.255$, $p<0.001$ olarak saptandı. Bu sonuçlar Tablo XI 'da gösterilmiştir.

Tablo XI : Hasta ve Kontrol Grup Sonuçlarının Karşılaştırılması

	Hasta(n=20)	Kontrol(n=20)	p
	Ortalama (SD	Ortalama (SD	
Yaş	24.8 ± 8.2	28.3 ± 6.9	>0.05
Eritrosit Lipid Perok. (nmol MDA/g Hb)	9.30 ± 2.06	6.8 ± 1.68	<0.001
Plazma Lipid Perok. (nmol Mda/ml Plazma)	14.51 ± 5.36	10.07 ± 1.82	<0.001
Glukoz (mg/dl)	77.3 ± 11.8	83.9 ± 10.6	>0.05
Kolesterol (mg/dl)	166.1 ± 39.3	183.3 ± 34.7	>0.05
Trigliserit(mg/dl)	111.2 ± 40.7	130.1 ± 63.3	>0.05

Glukoz ($t=1.858, p>0.05$), kolesterol ($t=1.453, p>0.05$) ve trigliserit ($t=1.123, p>0.05$) değerleri açısından ise her iki grup arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir.

20 olgunun tedavi öncesi Alfafetoprotein, (Human Koryogonadotropin ve Laktat Dehidrogenaz değerlerinin ortalamaları Tablo XII'de gösterilmiştir.

Tablo XII :Tümör Belirteçlerinin Kemoterapi Öncesi Değerleri

Tm Belirteçleri	Ortalama \pm SD
(FP (IU/ml)	76.19 \pm 107.49
(-hCG (mIU/ml)	24.76 \pm 49.41
LDH (u/ml)	308.15 \pm 251.15

Testis kanserli olguların eritrosit lipid peroksidasyonu ile plazma lipid peroksidasyonu arasında bir korelasyon saptanmamıştır ($r=0.34$, $p=0.144$). Eritrosit lipid peroksidasyonu ile glukoz ($r=0.02$, $p=0.94$), kolesterol ($r=-0.13$, $p=0.58$), trigliserit ($r=-0.15$, $p=0.54$), yaş ($r=0.21$, $p=0.38$) arasında anlamlı korelasyon saptanmamıştır.

Aynı şekilde plazma lipid peroksidasyonu ile glukoz ($r=-0.35$, $p=0.29$), kolesterol ($r=-0.20$, $p=0.40$), trigliserit ($r=0.22$, $p=0.92$), yaş ($r=0.07$, $p=0.76$) arasında herhangi bir anlamlı korelasyon tespit edilmemiştir. Yaptığımız çalışmada eritrosit lipid peroksidasyonu ile tümör belirteçleri arasında anlamlı bir korelasyon gösterilememiştir (Tablo XIII).

Tablo XIII : Testis Tümörlü Olgularda Tümör Belirteçleri ile Eritrosit Lipid Peroksidasyon Düzeyleri Arasında Birlikte Değişimin (korelasyonunun) İncelenmesi

Tümör Belirteci	Eritrosit Lipid Peroksidasyonu
α FP	$r=-0.17$ $p=0.47$
β -hCG	$r=-0.28$ $p=0.23$
LDH	$r=-0.04$ $p=0.86$

Yine bu çalışmada plazma lipid peroksidasyonu ile tümör belirteçleri arasında da anlamlı bir korelasyon saptanmamıştır (Tablo XIV)

Tablo XIV :Testis Tümörlü OlgulardaTümör Belirteçleri ile Plazma Lipid Peroksidasyon Düzeyleri Arasında Birlikte Değişimin (Korelasyonun) İncelenmesi:

Tümör Belirteci	Plazma Lipid Peroksidasyonu
α FP	r=-0.07 p=0.77
β -hCG	r=0.03 p=0.89
LDH	r=0.20 p=0.39

TARTIŞMA

Son yıllarda karsinogenezde oksidatif mekanizmaların rolü konusu üzerinde gittikçe artan bir ilgi ile durulmakta ve bu konu ile ilgili yoğun çalışmalar sürdürülmektedir. Poliansatüre yağ asidi peroksidasyonundan kaynaklanan peroksit radikallerinin direkt olarak ya da prostoglandin sentezi vasıtasıyla karsinogenezde rol oynadığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir(3,5,6,9,11,20).

Dormady ve arkadaşları kanser hastalarında anormal olarak proliferen olan hücrelerde artmış lipid peroksidasyonunun serum lipid peroksidlerinin artışına yol açtığını ifade etmişlerdir. Miyake ve arkadaşları tarafından yapılan invitro çalışmada, değişik farklılaşma evrelerindeki lösemi hücrelerinde serbest oksijen radikal oluşumu gösterilmiş ve az diferansiye hücrelerde daha fazla oksijen radikali oluştuğu saptanmıştır(10,19).

Tümör hücreleri tarafından kontrolsüz bir şekilde oluşturulan serbest oksijen radikalleri vücuttaki savunma mekanizmalarını aşarak çeşitli lipid peroksidasyon reaksiyonlarının oluşmasına sebep olur ve peroksidasyon reaksiyonlarının ilerlemesi sırasında yeni serbest radikal ara ürünler oluşur. Bunlar ileri derecede reaktif oldukları için çevre dokulara hasar verirler. Lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden ve en toksik olanlarından biri Malondialdehid (MDA) olduğu için serbest radikal hasarın bir göstergesi olarak kullanılır.

Lipid peroksidleri sadece kanser etyopatogenezinde rol oynamaz. Yapılan çalışmalarda Diabetes Mellitus'lu hastalarda normal kişilere göre lipid peroksid seviyeleri oldukça yüksek bulunmuştur(24). Diabete bağlı anjiopatili hastalarda lipid peroksidlerinin yüksek bulunması anjiopatinin patogenezinde rol oynadığını düşündürmektedir.

Aterosklerozlu hastalarda Plachta ve arkadaşları plazma lipid peroksidlerini yüksek olarak bulmuşlardır(21). Kawamoto ve arkadaşları serebral apopleksili olgularda plazma lipid peroksid düzeylerini yüksek olarak saptamışlar ve bir ay içinde lipid peroksid düzeyleri normale dönerse bu olguların yaşadığını göstermişlerdir.

Fizyolojik rolleri nedeniyle eritrositler daimi olarak oksidatif strese maruz kalırlar. Antioksidan sistemleri yeterli ise yaşamsal bir patoloji oluşmaz. Ancak antioksidan sistemlerinde defekt söz konusu ise hemolize eğilim ve membran lipid peroksidasyonunda artış ortaya çıkar (16).

Meme kanserli olguların eritrositlerinin poliansature yağ asidlerinden zengin olmaları nedeniyle serbest radikallerin yaptığı hasar ile eritrositlerde lipid peroksidasyonda artışa yol açtığı düşünülmektedir(35). Ayrıca meme kanserli olguların eritrositlerinde antioksidatif enzimlerde defekt olup katalaz, glutatyon peroksidaz ve superoksid dismutaz düzeyleri azalmış olarak saptanmıştır(16). Bewick ve arkadaşları lenfomalı olgularda eritrositlerde antioksidan enzimlerde defisit saptamışlardır (2).

Lösemili olguların eritrositlerinde superoksid dismutaz enzim defekti söz konusudur(12).

Hepatosellüler karsinomlu olgularda karaciğerde katalaz, glutatyon peroksidaz ve superoksid dismutaz seviyeleri belirgin ölçüde azalmıştır (8). Bu hastalarda selenyum konsantrasyonlarının düşüklüğü glutatyona bağlı enzim fonksiyonlarında bozukluk ortaya çıkarır (16).

Subramarinam ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada CMF ile tedavi olmamış meme kanserli olgularda kontrol grubuna göre hem serum hem de eritrosit MDA düzeylerini istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulmuşlardır. Bu düzeyler CMF tedavisinden sonrada yüksek olarak saptanmıştır(25). Bu durumu meme kanserli olgularda eritrosit membranının poliansature yağ asitlerinden zengin olması nedeniyle ve CMF toksisitesi ile peroksidasyonda artışla bu da serbest radikallerin artışına yol açmaktadır(25). Yapılan diğer bir çalışmada 64 postmenapozal meme kanserli olguda Tamoksifen (10 mg günde 2 kez) kullanılmıştır. 3. ve 6. aylarda MDA düzeylerine bakılmıştır. Daha önce kemoterapi almamış bu olgularda 3. ve 6. aylarda MDA, tedavi öncesine göre azalmış olarak saptanmıştır(29). Nonsteroidal antiöstrojenik bir ajan olan tamoksifen tümör hücrelerinin proliferasyonunu geciktirerek H₂O₂ oluşumunu

azalttığı ve böylece lipid peroksidaz düzeylerinde azalmaya yol açtığı öne sürülmüştür(29).

Hendrickse ve arkadaşları kolorektal kanserli olgularda tümörde normal mukozaya göre MDA seviyesini yüksek olarak saptamışlardır(13). Dukes C evresinde tümörde MDA düzeyi en yüksek olarak gösterilmiştir(13). Kolorektal kanserlerde lipid peroksidasyonu tetikleyen mekanizma, artmış fosfolipaz A₂ aktivitesidir.

Malign lenfomalı olgularda Bewick ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada antioksidan enzim sisteminde yeralan superoksit dismutaz(SOD) ve glutatyon peroksidaz(GPx)aktivitelerinde belirgin derecede azalma saptamış olup aktivite azlığı Hodgkin ve Nonhodgkin lenfomalı olgular arasında belirgin derecede farklılık göstermektedir(2)

Multipl Myeloma, plazma hücrelerinin kontrol edilemeyen malign proliferasyonu olup monoklonal immün globulin üretimi söz konusudur. Zima ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada 9 multipl myelomalı olguda lipid peroksidasyonu çalışmışlar plazma ve eritrosit MDA düzeylerini kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olarak saptamışlardır. Bu çalışmada MDA konsantrasyonunun klinik evre ve paraprotein tipi ve düzeyi ile yakın bir ilişkisi gösterilememiştir(36).

Testis tümörlerinde bu konuda az sayıda çalışma söz konusudur(15,27). Koizumi ratlarda karsinogenik dozda tek doz subkutan kadmiyum uygulaması ile ratların testislerinde 12 saat sonra yapılan örneklemelerde Hidrojen peroksit (H₂O₂), demir ve lipid peroksidasyonunun arttığını göstermişlerdir(15). Sugawada ve arkadaşları da erkek farelerin testislerinde kadmiyumun oluşturduğu lipid peroksidasyonunun subkutan uygulanan selenyum ile büyük ölçüde ortadan kaldırıldığını göstermişlerdir(27).

Yapılan birçok çalışmada malignitelerde lipid peroksidasyonun artışı ve serbest radikallerin ortaya çıkışının karsinogenezi başlattığına inanılmaktadır. Bu durumda ya hücrenin DNA'sında yapısal değişiklikler olmakta ya da hücre zarında ve sitoplazmasında oluşan bir takım değişikliklerle hücre malign karakter

kazanmaktadır. Kanser hücrelerinin çok hızlı proliferasyon özelliğinin olması kanser dokusunda aşırı superoksid oluşumuna yol açmaktadır. Bu da serum antiproteazlarının oksidatif inaktivasyonuna yol açmakta ve kanser hücrelerinin büyümesini ve metastaz yapmalarını kolaylaştırmaktadır. Eritrositlerde lipid peroksidasyonunun artışıda oksidatif strese maruz kalan bu hücrelerde antioksidaz enzim sistemlerinde bir defekt geliştiğini göstermektedir.

Yaptığımız çalışmada çeşitli evrelerdeki testis kanserli 20 olguda MDA (malondialdehid) düzeyleri plazma ve eritrositlerde kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

Plazma lipid peroksidasyonun serum lipidleri (özellikle trigliserit ve kolesterol) ile ilişkisi gösterilmiş olup, serum lipid miktarındaki artışın lipid peroksidasyon artışında rol oynayan önemli bir faktör olduğu tespit edilmiştir(). Çalışmamızda her iki çalışma grubu arasında trigliserit ve kolesterol değerleri arasında anlamlı bir fark saptanmamış olup, testis kanserli olgularda artan lipid peroksidasyon ile serum trigliserit ve kolesterol düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Tümör belirteçleri tümör yükünü göstermede oldukça önemli parametrelerdir. Biz çalışmamızda hasta grubunun sayısının azlığına bağlı olarak tümör belirteçleri ile plazma ve eritrosit lipid peroksidasyon arasında pozitif bir ilişki saptayamadık.

Sonuç olarak, testis kanserlerinin etyolojisi bilinmemektedir. Genetik faktörlerin, enfeksiyöz ajanların veya testiküler travmanın rolü öne sürülmektedir. Serbest radikallerin yol açtığı lipid peroksidasyon bu hastalığın patogenezinde rol oynadığına dair çok az sayıda çalışma mevcuttur. Çalışmamızda saptadığımız lipid peroksidasyondaki artışın, bu kanserin patogenezinde rol oynadığını düşündürmektedir.

ÖZET

Kasım 1995- Haziran 1997 yılları arasında GATA Tıbbi Onkoloji B.D.'da testis kanseri tanısı almış 20 hasta ve sağlıklı 20 birey kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edildi. Testis kanserli grubun yaş ortalaması 24.8 ± 8.2 , kontrol grubunun yaş ortalaması 28.3 ± 6.9 'du. Testis kanserli olguların 4'ü Evre A, 10'u Evre B ve 6'sı Evre C idi. Hastaların kanları orşiektomiden sonra ve kemoterapiden önce 12 saatlik açlıktan sonra çalışıldı. Testis kanserli olgularda plazma lipid peroksidasyon değerleri ortalaması 14.51 ± 5.36 , eritrosit lipid peroksidasyon değerlerinin ortalaması 9.30 ± 2.06 olarak saptandı. Kontrol grubunda plazma lipid peroksidasyon değerlerinin ortalaması 10.07 ± 1.82 , eritrosit lipid peroksidasyon değerlerinin ortalaması 6.18 ± 1.68 olarak saptandı.

Plazma ve eritrosit lipid peroksidasyon değerleri kontrol grubuna göre anlamlı yüksek olarak bulundu. Bu değerler ile serum glikoz, trigliserit ve kolesterol düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı.

Tümör belirteçleri ile plazma lipid peroksidasyonu ve eritrosit lipid peroksidasyonu arasında da anlamlı bir ilişki saptanmadı.

Bu sonuçlarla lipid peroksidasyonu testis kanserlerinin patogenezinde rol oynadığı söylenebilir.

SUMMARY

Twenty patients with testicular cancer (mean age 24.8 ± 8.2) who were initially diagnosed at Gülhane School of Medicine, Department of Medical Oncology between November 1995 and June 1997, and twenty healthy control (mean age 28.3 ± 6.9) are assigned into the study. Four patients had Stage A, 10 patients had Stage B and the rest had Stage C disease. Blood samples were collected following 12 hours of fast after orchiectomy and prior to chemotherapy. Mean plasma and erythrocyte lipid peroxidation levels in the patient group were 14.51 ± 5.36 and 9.30 ± 2.06 , respectively. Corresponding levels in the control group were 10.07 ± 1.82 and 6.18 ± 1.68 , respectively.

Both plasma and erythrocyte lipid peroxidation levels in the patient group were significantly higher than those in the control subjects. However, no correlation was found between lipid peroxidation levels and serum levels of glucose, triglyceride and cholesterol. Furthermore, no correlation was found between various tumor markers and plasma and erythrocyte lipid peroxidation levels.

These results may suggest a potential role of lipid peroxidation in the pathogenesis of testicular cancer.

KAYNAKLAR

1. Berkmen,F.,Demir,A.: Testis Tümörleri. *Acta Oncologica Turcica*,26: 89-94, 1993.
2. Bewick,M.,Coutie,W.,Tudhope,G.,R.:Superoxide Dismutase, Glutathione Peroxidase and Catalase in the Red Cells of Patients with Malignant Lymphoma. *British Journal of Haematology*, 65: 347-350, 1987.
3. Cerutti,P.,A.:Prooxidant Statet and Tumor Promotion. *Science*,227: 375-382,1985.
4. Cerutti,P.,A.,Trump,B.,F.: Inflammation and Oxidative Stress in Carcinogenesis.*Cancer Cells*, 3(1): 1-7, 1991.
5. Cheesman,K.,H.: Mechanism and Effects of Lipid Peroxidation. *Moleculer Aspects Medicine*, 14: 191-197, 1993.
6. Cheesman,K.,H.,Slatter,T.,F.: An Introduction to Free Radical Biochemistry. *British Medical Bulletein*,49: 481-493, 1993.
7. Comporti,M.:Lipid Peroxidation. Biopathological Significance. *Moleculer Aspects in Medicine*, 14: 199-207, 1993.
8. Corrocher,R.,Casaril,M.,Nicolli,N.,Guidi,G.,C.: Severe Impairment of Antioxidant System in Human Hepatoma. *Cancer*, 58: 1658-1662, 1986.
9. Dianzani,M.,U.: Lipid Peroxidation and Cancer. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 15: 125-147, 1993.
- 10.Dormady,T.,L.: An Approach to Free Radicals. *Lancet*, 2: 1010-1014, 1983.
- 11.Frankel,E.,N.: Lipid Oxidation: Mechanism, Products and Biological Significance. *JAOCS*, 61: 1909-1916, 1984.
- 12.Gonzales,R.,Auclair,C.,Voisin,E.: Superoxide Dismutase, Catalase and Glutathione Peroxidase in Red Blood Cells from Patients with Malignant Disease. *Cancer Research*, 44: 4137-4139, 1984.

13. Hendrickse, C., W., Kelly, R., W., Radley, S.: Lipid Peroxidation and Prostaglandins in Colorectal Cancer. *British Journal of Surgery*, 81: 1219-1223, 1994.
14. Kamal, M., A., Gomaa, A., Hammad, A.: Plasma Lipid Peroxides Among Workers Exposed to Silica or Asbestos Dusts. *Environmental Research*, 49: 173-180, 1989.
15. Koizumi, T., Li, Z., G.: Role of Oxidative Stress in Single-Dose, Cadmium Induced Testicular Cancer. *Journal of Toxicology Environmental Health*, 37(1):25-36, 1992.
16. Kumar, K., Thangaraju, M., Sachdanandam, P.: Changes Observed in Antioxidant System in the Blood of Postmenopausal Women with Breast Cancer. *Biochemistry International*, 25(2): 371-380, 1991.
17. Manivel, J., C., Jessurun, J., Wick, M., R.: Placental Alkaline Phosphatase Immunoreactivity in Testicular Germ Cell Neoplasms. *The American Journal of Surgical Pathology*, 11(1): 21-29, 1987.
18. McCord, J., M.: Human Disease, Free Radicals and the Oxidant/Antioxidant Balance. *Clinical Biochemistry*, 26:351-357, 1993.
19. Miyake, M., Fuchimoto, S.: Production of Hydroxyl Radicals by Tumor Cells Measured by Electron Spin Resonance Spectrometry. *Res Communication in Chem. Pathol. Pharmacol.* 71(3): 293-307, 1990.
20. Pacifici, R., E., Davies, K., J.: Protein, Lipid and DNA Repair Systems in Oxidative Stress: The Free-Radical Theory of Aging Revisited. *Gerontology*, 37: 166-180, 1991.
21. Plachta, H., Bartnikowska, E., Obara, A.: Lipid Peroxides in Blood from Patients with Atherosclerosis of Coronary and Peripheral Arteries. *Clinica Chimica Acta*, 211: 101-112, 1992.
22. Punnonen, R., Kudo, R., Punnonen, K., Hietanen, E.: Activities of Antioxidant Enzymes and Lipid Peroxidation in Endometrial Cancer. *European Journal of Cancer*, 29A(2): 266-269, 1993.

23. Richie, J., P.: Advances in the Diagnosis and Treatment of Testicular Cancer. *Cancer Investigation*, 11(6): 670-675, 1993.
24. Sato, Y., Hotta, N., Sakamoto, N.: Lipid Peroxide Level in Plasma of Diabetic Patients. *Biochemistry Medicine*, 21: 104, 1979.
25. Subramaniam, S., Shyama, S., Jagadeesan, M.: Oxidant and Antioxidant Levels in the Erythrocytes of Breast Cancer Patients Treated with CMF. *Medical Science and Research*, 21: 79-80, 1993.
26. Subramaniam, S., Devi, C., S.: Erythrocyte Antioxidant Enzyme Activity in CMF Treated Breast Cancer Patients. *Cancer Biochemistry Biophysics*, 14: 177-182, 1994.
27. Sugawara, N., Sugawara, C.: Selenium Protection Against Testicular Lipid Peroxidation from Cadmium. *Journal of Applied Biochemistry*, 6: 199-204, 1984.
28. Szatrowski, T., P., Nathan, C., F.: Production of Large Amounts of Hydrogen Peroxide by Human Tumor Cells. *Cancer Research*, 51: 794-798, 1991.
29. Thangaraju, M., Phil, M.: Effects of Tamoxifen on Lipid Peroxide and Antioxidative System in Postmenopausal Women with Breast Cancer. *Cancer*, 74: 78-82, 1994.
30. Ulbrigh, T., M.: Germ Cell Neoplasms of the Testis. *The American Journal of Surgical Pathology*. 17(11):1075-1091, 1993.
31. Vasigara, S., W., Subramaniam, S., Shyama, S.: Changes in Erythrocyte Membrane Lipids in Breast Cancer after Radiotherapy and Chemotherapy. *Chemotherapy*, 42: 65-70, 1996.
32. Vernie, L., N., Zegers, C., Baldew, C., S.: Cisplatin Induced Changes of Selenium Levels and Glutathione Peroxidase Activities in Blood of Testis Tumor Patients. *Cancer Letters*, 40: 83-91, 1988.
33. Von Eyben, F., Blaabjerg, O., Madsen, L.: Serum Lactate Dehydrogenase Isoenzyme 1 and Tumour Volume are Indicators of Response to Treatment and Predictors of Prognosis in Metastatic Testicular Germ Cell Tumors. *European Journal of Cancer*, 28(213): 410-415, 1992.

34. Yagi, K.: Lipid Peroxides and Related Radicals in Clinical Medicine. *Bioassays* 1: 58-60, 1984.
35. Zaridze, D., G., Levtschuk, A., A., Lifanova, Y., E.: Fatty Acid Composition of Phospholipids in Erythrocyte Membranes and Risk of Breast Cancer. *British Journal of Cancer*, 45: 807-810, 1990.
36. Zima, T., Spicka, I., Stipek, S.: Antioxidant Enzymes and Lipid Peroxidation in Patients with Multiple Myeloma. *Neoplasma*, 43(2): 69-73, 1996.

