

77037

T. C.
EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TEMEL TIP BÖLÜMÜ
Prof. Dr. Sermet ERLAÇIN

Selim ve Malign Meme Dokusunda Serum ile Kıyaslamalı
Önemli Element Değişiklikleri

Başın. Mayıs 1991

TÜRKİYE
BİLİMSEL VE TEKNİK
ARAŞTIRMA KURUMU
KÜTÜPHANESİ

Dr. Eser Yıldırım Sözmen
(Uzmanlık Tezi)

T. C.
Yükseköğretim Kurulu
Dokümantasyon Merkezi

İzmir — 1990

77839

Biokimya Anabilim dalındaki uzmanlık öğrenimim süresince bilimsel yaklaşımını ve Biokimya sevgisini örnek aldığım sayın hocam Prof. Dr. Sermet Erlaçın'e, tezimin hazırlanması ve tamamlanması aşamalarında değerli zamanlarını ve bilgilerini büyük bir özveriyle sunan ve her konuda sonsuz yardımlarını esirgemeyen tez hocalarım Prof.Dr. Gülriz Mentesh ile Prof.Dr. Biltan Ersöz'e ve bu süreç içinde engin tecrübe ve bilgilerinden yararlanma olanağı bulduğum hocalarım Prof. Dr. Oya Bayındır, Prof. Dr. Fatma Kutay ve Prof. Dr. Taner Onat yanısıra tezimin hazırlanmasında olgular konusunda yardımını esirgemeyen Genel Cerrahi anabilim dalından Prof.Dr. Rasih Yılmaz'a ve de içten dostluklarından ötürü tüm çalışma arkadaşlarıma sonsuz teşekkürler ederim.

İÇİNDEKİLER

Giriş-----	2
Genel Bilgiler----	4
Gereç ve Yöntem---	40
Bulgular -----	48
Tartışma -----	65
Özet -----	85
Kaynaklar -----	88

GİRİŞ

Kanser; günümüz tıbbını en çok meşgul eden konuların başında gelmektedir. Bu yaygın hastalık, hem hastaya, hem çevresine hem de topluma getirdiği maddi ve manevi yükler nedeniyle de tıp dünyasının olduğu kadar tüm insanlığın sorunudur. Kanserden korunmak henüz tam olarak mümkün değildir; örneğin ABD'de yapılan bir çalışmada yeni doğan her onbir kız çocuğundan birinde ileriki hayatlarında meme kanseri gelişeceği gösterilmiştir. Korunmayı sağlayabilecek önlemlerin olmamasına karşılık erken teşhis konup tedavi uygulanması, ameliyatla iyileşme oranının yükselmesi, morbiditenin azalması erken tanının değerini artırmıştır(16).

İz elementlerin insan doku ve serumundaki miktarının doğru ve kesin olarak tesbit eden metodların bulunmasıyla malign hastalıkların tanı ve takibinde bu elementlerin rolü giderek artan bir şekilde ilgi çekmektedir. Potasyum, çinko, bakır, fosfor, kalsiyum ve magnezyum'un normal ve malign dokulardaki konsantrasyonlarında belirgin farklılıklar gözlenmesi bu elementlerin kanserin metabolik değişiklikleri ve etyolojisinde bir rol oynayabileceği ve tanısal testlerde bunların kullanılabileceğini göstermektedir.

Pek çok hastalıkta özellikle kanser türünde: Lenfoma, Hodgkin gibi hematolojik ve lenfatik malignitelerde, sarkom, akciğer kanseri, mide, meme, sindirim sistemi kanserlerinde iz elementler çalışılmış ve bakır düzeyinde artma ve çinko da düşme saptanmıştır (77,17,50,68,69,13,19,43,51,71,32,28,14,

49,40,29,33,20,24). Serum Bakır/Çinko düzeyleri bu hastalarda prognoz ve tedavinin takibinde yararlı bulunmuştur.

Biz de kanser tanısında güncel olan iz elementleri kendi popülasyonumuzda meme kanserli hastalarda saptamak serum yanısıra doku çalışmaları ile tanıya katkıda bulunmak ve tedavinin takibi ve nükslerin erken tanısı açısından olumlu yaklaşımlarda bulunabilmek amacıyla bu çalışmayı planladık.

GENEL BİLGİLER

BAKIR

Bakır günlük ihtiyacı yaşa göre değişir (62).

0-6 ay	0.1 mg/kg/gün
6-12 ay	0.7-1 mg/kg/gün
1-3 yaş	1-1.5 mg/kg/gün
4-6 yaş	1.5-2 mg/kg/gün
7-10yaş	2-2.5 mg/kg/gün
10 yaş ve üzeri	2-3 mg/kg/gün

Kaynakları (79): Organ etleri, (karaciğer), istakoz gibi deniz ürünleri, baklagiller, fındık

70 kg'lık bir adultta; vücuttaki toplam bakır 80-120 mg. kadardır (8). En yoğun olarak karaciğer ve beyinde daha sonra böbrekte bulunur. Kas ve kemikte kitleleri çok olduğu için total bakırın yarısı bulunur(64). Total vücut bakırının yaklaşık % 10'u karaciğerdedir.

Absorbsiyon:

Bakır iki mekanizma ile mide ve duodenumdan emilir:

- 1- Enerjiye bağlı proses: Muhtemelen aminoasid kompleksleri şeklinde amino asidler ile
- 2- Bakır intestinal mukozada 2 protein fraksiyonuna bağlanır.
 - a- 1. protein; superoxid dismutaz (bakır içeren bir enzimdir)

b-2. protein;Sülfidril grubundan zengin metallothionein.
Bakır'ı merkaptit bağları ile bağlar ve gerektiğinde serozal tarafa salıverir(8).

Bakır Emilimini Etkileyen Faktörler (62):

1- Sistemik faktörler

- Anabolik gereksinimler
 - a- Bebek ve çocuklukta, büyüme
 - b- Gebelik ve Laktasyon
 - c- Post katabolik durumlar
- Endokrin etkiler
- Enfeksiyon ve stress
- Metallerin spesifik sistemik rezervleri
- Genetik etkiler; Genetik metabolizma bozukluğu
- Diğer besin maddeleri, beslenme durumu

2- Luminal faktörler

- Diyetteki elementin kimyasal form ve oksidasyon durumu
- Emilimi etkileyen maddeler
 - a- Antagonistik ligandlar(fosfat, karbonat, tannat, polifenol, oxalat)
 - b- Kolaylaştırıcı ligandlar (Karboksilik asid, bazı şekerler, amino asidler, yağ asidi).
 - c- Yarışan metaller
- Intestinal fonksiyon ve motilite
- Luminal redox durumu

Dağılım(64):

Diette alınan bakırın 1/3'ü absorbe olur. Absorbe olan bakırın büyük bölümü de safra ile reekskrete olur, böylece sindirilen bakırın çoğu feçesle atılmış olur.

1- Plazma bakır konsantrasyonu bakır alımına bağlıdır. Serum konsantrasyonu Plazmadan daha yüksektir.

Plazma bakırın %95'den fazlası seruloplasmine bağlıdır. Vücut bakırının yaklaşık %3'ü bu formdadır. Plazma bakırının geri kalanı albumine bağlıdır (64). Albumin ile kompleks bakır, hepatik bakırı artırır. Total kan bakırının çok küçük kısmı aminoasid kompleksleri olarak bulunur. Aminoaside bağlı bakır; Bakırın hücrelere ve hücre komponentlerine girişinde önemli olabilir.

2- Eritrositer bakır: Büyük kısmı enzim olarak bulunur. Superoksid dismutaz. Eritrositer bakırın 2. komponenti amino asidlerle komplekstir ve serbest olarak dializ olabilir. Bakır alınınca hemen 2 katına çıkar. Karaciğer tarafından alındıkça azalır, 48 saat sonra çok azalır.

3- Hepatik bakır

a- %10'u mikrozomal fraksiyonda bulunur. Seruloplasmin ve diğer bakır proteinleri

b- %20'si nükleer fraksiyonda bulunur. Polinükleotidler ile bağlı veya reaksiyona girebilen bakır

c- %20'si lizozom ve mitokondride bulunur. Bu lizozomlar bilier traktusa bakır ekskrete eder.

d- %50'si sitozoldedir. Burada primer protein metallothioneindir.

Bakır primer olarak protein makromoleküllerine bağlanır ve safraya atılır. Bakırın sınırlı bir miktarı bakır-amino asid kompleksleri olarak atılır. Bakırın enterohepatik dolanımı minimaldir ve makromoleküler bakır örnekleri reabsorbe olmaz (8).

Atılım:

0.5-1.3 mg/gün

- 1.Feces ile : kaynağı bilier eksresyon.
- 2.Idrar ile : çok minimaldir. Kaynağı bilinmiyor.
- 3.Minor yollar: Ter,saç,dermal dentritis,menstruasyon süt.

Biokimyası ve Görevleri:

Özetle görevleri (64):

- 1- Enzim yapısında bulunur.
- 2- Kemik formasyonu ve myelinin devamlılığını sağlar.
- 3- Melanin oluşumu
- 4- Hemoglobin sentezi
- 5- Kreatinizasyon

Bakır proteini	Bulduğu organ
Albocuprein I	Beyin
Albocuprein II	Beyin
Seruloplasmin	Plasma
Sitokrom C oksidaz	Kc,kalb vs.
Ferrokksidaz II	Serum
Hepatomitokondrocuprein	Karaciğer
Metallotionein	Karaciğer
Mitokondrial MAO	Karaciğer,beyin
Pembe bakır proteini	Eritrosit
Plasma/serum MAO	Plasma,serum
Superoxid dismutaz:	
Serebrokuprein	Beyin
Eritrokuprein	Eritrosit
Hemokuprein	Kan
Hepatokuprein	Karaciğer
Tyrosinaz	Deri,Göz

Tablo 1:Memeli dokusundan izole edilen bakır proteinleri (11)

I- Fizyolojik fonksiyonları bilinmeyenler	
1- Seruloplasmin	Plasma
2- Spermin oksidaz	Sığır Plasma
3- Benzylamin oksidaz	Domuz Plasma
4- Diamin Oksidaz	Böbrek
II- Spesifik patolojik durumlarla bağlantılı olmayanlar	
1- Sitokrom c oksidaz	Mit.
2- Superoxid dismutaz	Erit. ve kalb
3- Urat oksidaz (Ürikaz)	Kc ve böbrek
III-Spesifik patoloji ile ayrıştırılabilenler	
1- Lysil oksidaz	Aorta ve kartiloj
2- Dopamin B hidroksilaz	Adrenal glond
3- Tyrosinaz	melanomlar ve deri
IV- Kuşkulu bakır enzimleri	
1- Triptofan 2,3 dioxigenaz	Karaciğer

Tablo II: Memeli dokusundan izole edilen bakır içeren enzimler (11)

Bazı kuproenzimlerin aktiviteleri (62)

- Sitokrom c oksidaz: Mitokondrialdir, demir saglar, oksidatif fosforilasyonda yer alir.

- Superoxid dismutaz: Sitozoliktir, antioxidantdir. birer atom bakir ve cinko icerir (36).

- Dopamin B hidroksilaz: Adrenalin ve Nukleik asid sentezi

- Tyrosinaz: Tyrosin ----> Dopa ----> Dopakuinon reaksiyonunda rol alir. Koroid ve epidermiste pigment redüksüyonunda

- Ürikaz: Ürik asidin renal ve hepatik metabolizması

- Lysil oksidaz: amino asid kondansosyonu ----> kollagen ve elastinin çapraz bağları.

- Amin oksidaz: Plasma ve konnektif doku

- Seruloplasmin: Multipl aktivite

SERULOPLASMIN: COPPER OXIDASE-CER

Ilk kez Holmberg ve Laurell izole etmişlerdir. α 2 glikoproteindir. MA: 120.000-160.000 Her bir molekülü 8 bakir atomu bağlayan bir polipeptit zinciridir. Oktamer yapısındadır (79). 3 Asparagin bağlı oligo sakkarit icerir. Hem Cu^+ hem Cu^{++} , bağlar (72).

Biokimyası ve Görevleri (79)

CER karaciğer tarafından alınır ve katabolize olur.

1- Başlıca görevi; Bir enzim gibi görev yapması ve bir

bakır donörü olmasıdır. Plasmada bakır için majör transport proteini dir. Plasma bakırının nondializable fraksiyonu plasma bakırının % 95'i CER'e bağlıdır. Bakırın artan miktarı CER sentezinin artmasına yol açar ve safrada nonresobable bakır-protein komplekslerinin ekskresyonu artar. Sirkülasyondaki CER nontoksik formdaki bakırın stabil havuzu olarak hizmet eder.

2- Ferroxidoz aktivite gösterir. $Fe^{++} \rightarrow Fe^{+++}$ oksidasyonunu katalizler

3- Muhtemel bir rolüde antioksidanttır. Invitro olarak CER ve transferrinin plasmanın antioksidant aktivitesinin çoğunu gösterdiği bulunmuştur. CER inflamutuar durumlarda lipid peroxidasyonunu ve serbest radikal formasyonunu önler. Bu belki de onun akut faz reaksiyonunda ki rolüdür.

Plasma CER arttığı durumlar:

- 1- Enfeksiyonlar
- 2- Malignite
- 3- Travma
- 4- RES hastalığı (Hodgkin gibi, hastalıklarda özellikle anlamlı artış) (49).

Wilson: Progresif ve fetaldir. CER'de moleküler defekt yoktur.

Plasma CER düştüğü durumlar.

- 1- Malabsorbsiyon
- 2- Malnütrisyon

3- Nefroz

4- Çeşitli karaciğer hastalıkları (özellikle bilier siroz)

Analiz yöntemleri

1- Nefelometri

2- RID- Radial Immuno Difüzyon-

3- Spektrofotometrik- Ravin usulü bugün için en kullanışlı olanıdır.seruloplazminin renksiz bir madde olan fenilen-diamini mavimsi-menekşe renkli bir ürüne oksitlemesi esasına dayanır (85)

Referans sınırları: Yaşla değişir (79)

Infant:	1-3 ay	5-18 mg/dl
	6-12 ay	33-43 mg/dl
	13-36 ay	26-55 mg/dl
Çocuk:	4-5 yaş	27-56 mg/dl
	6-7 yaş	24-48 mg/dl
	7 yaş yukarısı	20-54 mg/dl
Adult:		18-45 mg/dl

Bakırın 2. en önemli görevi büyüme ve gelişme için gerekli olmasıdır. Laitiven ve arkadaşları yaptıkları çalışmada 9-15 yaş arasındaki gençlerde serum bakır düzeyinin boy ile negatif,ağırlık, vücut kitle indexi, triceps ve subscapuler kas kalınlığı toplamı ile pozitif korelasyonu olduğunu gösterdi(41).

Bakır Tayin Yöntemleri (79):

1- Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi

2- Kolorimetrik metodlar : a- Bis-cyclohexanone oxal dihydrazon (cuprison) kromojeni ile
b- Bathocuprein kromojeni ile

Plasma dışında ; eritrositte, saçta, dokuda ve üriner bakır ölçümleri de aynı metodlarla ancak bazı ön işlemlerden sonra yapılır.

Referans sınırları:

Erkeklerde 109 µg/dl (89-137)

Kadınlarda 120 µg/dl (87-153)

Kadınlarda daha yüksek olma nedeni estrogenin serum bakırını artırmasıdır.

SERUM BAKIR DÜŞÜKLÜĞÜ

Bakır yetmezliğinin fizyolojik ve kimyasal manifestasyonları

Sinir sist:	mental yetm.	Sit. oxidaz ↓	insanda
	Hipogeusia	?	
K.i.	:Anemi	Seruloplasmin ↓	Insanda
	Nötropeni		
Isk.Sist.	:Osteoporoz		
	fraktürler	Lysil oxidaz ↓	
KUS	:Konj. kalb yetm.	Sit.oxidaz ↓	tavşan
	Aortik rüptür	Lysil oxidaz ↓	domuz

Bakır Yetmezliği Sonucu Olusan Metabolik Bozukluklar (11);

<u>Patoloji</u>	<u>Metabolik defekt</u>	<u>Enzim</u>
Iskelet ve CUS defekti	koll.ve elastinde Crosstinf formasyonu	Lysil oxidaz
SSS bozukluğu	Hipomyelinizasyon, Kateşolamin yetm.	Dopamin B hidroksilaz
Anemi	Demir metabolizması	Ferroidaz
Akromotisschia	Melanin formasyonu	Tyrosinaz
Yün,saç	Keratinizasyon	Sülfidril oxidaz

Bakır yetmezliği (8,23)

I- Bebekte :

Prematürelilik-karaciğer ve dalakta düşme

Malnutrisyon-Bakır transport ve depolama bozulđu

Malabsorbsiyon-Sprue,coliak

Kronik diare

Hiperalimentasyon veya düşük Cu içeren total süt diyeti

II- Iz elementten fakir infüzyon ile uzun dönemli beslenme

III- Menke Sendromu: Menke's steely and kinky hair sendromu:

Bakır transport ve depolanma defekti; Serebral dejene-rasyon,
vaskuler defekt,cilt ve saç depigmentasyon,hipoterma, skorbütük kemik değışiklikleri olur.

Serum,hepatik ve serebral bakır düşer,seruloplasmin düşer.

Eritrositer bakır normal,nötropeni ve anemi oluşmaz

Lizil oxidaz, sitokrom c oxidaz, Dopamin B hidroksilaz,sitokrom oksit dismutaz düzeyleri düşüktür.

IV- Akromatrichia ve Albinizm: Tirozinaz yokluğuna bağlıdır.
V- Wilson hastalığı: Ootosomal resesiftir. 30/milyon sıklıkta rastlanır (84). Normalde bakırın vücuttan kaybı safra ile olur. Wilsonda bakırın bilier ekskresyonu bozulur. Karaciğer, Cu için yüksek afinitesi olan bilier protein oluşturur. Bu hem bilier sekresyonu hem seruloplasmin sentezini etkiler. Son yıllarda Wilsonlu bir hastanın serumundan böyle bir metalloenzimin izolasyonu bu hipotezi güçlendirdi. Wilsonda hepatosit bakır dağılımı farklıdır. Normalde bakır lizozomlarda mevcut iken Wilsonun asemptomatik erken dönemleri veya hafif bulgular var olunca sitoplasmada difuz dağıldığı görülmür. Lizozomların fazlalık bakır, alması lizozomlar hasara uğrayana dek sürer. Bu hasar belki de lipozomal membranda aşırı bakırın uyarısı ile yükselir. Cu özellikle karaciğer, böbrek ve korneada birikir (84). (+) bakır dengesi infantta başlar. Hastaların %95'inde seruloplasmin düşük düşme, mekanizması bilinmez. Karaciğer ve idrar Cu yüksektir. KC >250 µg/gr, >100 µg/gün

VI- Diğerleri: Nefrotik sendrom, demir eksikliği anemisi, yanıklar, Disproteinemii, kronik iskemik kalb hastalığı, lösemi remisyonu, proteinden fakir beslenme (83).

Klevay ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada bakırdan düşük diyetle beslenme sonucu 105 gün içinde bakır ve seruloplasmin serum düzeylerinde anlamlı düşme (48 ug'a kadar) gözlemiştir (39).

Serum Bakır Yüksekliği (Hiperkupremi)(23):

- 1- Fizyolojik durumlar: Hamilelikte normalin 2-3 katı olur.
3 ay ile miad arasında düşmesi plasental yetmezlik veya spontan abortus işaretidir (79).
Ostrojenik oral kontraseptif kullanımı
Testosteron ve Progesteron kullanımı (79).
- 2- Lösemi, Hodgkin, malign lenfoma gibi hematolojik ve lenfatik maligniteler, sarkomlar (51,71,32,14,80).
Akciğer ca, bronş ca, larinks squamoz hücreli ca.
Sindirim sistemi kanserleri.
Servikal ve jinekolojik maligniteler
Mesane kanserleri
Meme kanserleri
Hayvanlarda maloneymurine Rhabdomyosarkom virüsü ile invitro kanser oluşur.
- 3- Akut ve kronik enfeksiyonlar. LEM'in akut faz etkisine bağlıdır.
- 4- Strese bağlı: AMI ve büyük ameliyatlardan sonra
- 5- Granulamatoz hastalıklar
Dissemine lupus
R.A.,Ankilozan spondilit
- 6- Akut ve kronik karaciğer hastalıkları
Portal siroz
Bilier traktus hastalıkları
Hepatit
- 7- Periferik vaskuler hastalıklar

- 8- Pellegra
- 9- Addison ve hipopituitarizm
Tiroid fonksiyon bozukluğu
- 10- Akciğer tüberkülozu
- 11- Hemokromatöz
- 12- Talassemi

Insanda bakır toksisitesi (11)

Alım <1 gr.kusma, gastrit, diare

>10 gr. Şok,hepatik nekroz, hemoliz, renal toksisite, koma ölüm

Akut bakır entoksikasyonu: Bakır içeren bileşiklerin verilmesinden sonra veya yaraların bakır sülfat ile irrigasyonunu takiben gelişir (38).

Hemolitik anemi, diare ve abdominal ağrı, myalji, pankreatit (otopside), lökositöz, serum amilaz yüksekliği, metabolik asidoz, CPK yüksekliği, myoglobinemi.

Bakır-Lösemi İlişkisi:

Lösemi, Hodgkin, malign lenfoma gibi hematolojik ve lenfotik maligniteler başta olmak üzere pek çok kanserde bakır yüksekliği mutaddır (32,14,80).Malignitede hiperkupremi nedeni olarak seruloplasmin katabolizmasında bir düşme öne sürülür. Seruloplasminin resialilasyonu karaciğer tarafından katabolizmanın azalmasına yol açabilir ve hiperkupremi seruloplasmine bağlı gelişebilir (71).

Bakırın kanser oluşumu üzerine etkisi de günümüzde şu

şekilde açıklanmaktadır: Kanserin muhtemel nedenleri olarak serbest radikaller ve superoksid radikal ionu ileri sürülmektedir (36).Laboratuarda güncel sonuçlar bakırın iz düzeylerinin $O^{\cdot-}$ tarafından oluşturulan biyolojik hasarı dramatik bir şekilde artırdığını göstermektedir. Enzimatik aktivite kayıpları, DNA da tek ve çift halat kırılmaları,proteinlerin değişik özelliklerindeki varyasyonlar,intraselluler bakır düzeyinin artması ile oluşturulur.Bakır izlerinin belli bir organda birikimi intraselluler hasara yol açar ve kanseröz lezyonlar ile kendini belli eder (50).Superoksit tarafından oluşturulan biolojik hasarda bakır ionlarının bu işe katılması yönünde de dökümanete edilmiştir.Bu modele göre superoksid radikali veya askorbat gibi diğer redükleyici ajanlar bakır kompleksini kupröz duruma indirger. Sonra bu kompleksler H_2O_2 ile reaksiyonlaşıp proteinler, RNA ve DNA'yı hasara yönelten OH radikallerini oluşturur. Bakır ionlarının bulunduğu spesifik bir konumda OH radikallerinin tekrarlayan oluşumu bu mekanizmada rol oynar.Bu radikaller hücrenel mekanizmalar tarafından tamir edilemeyecek seluler DNA'da çift halat yıkılmalarına yol açar ve malign bir olayı başlatır.

Superoksit hasarında bakırın dahil oluşunda ilk basamak: sellüler protein gibi biolojik bir makromoleküle metal ionun bağlanması veya kompleks formasyonudur. Dokularda bulunan bakırın çoğu spesifik bağlı olduğuna göre ve de superoksit dismutaz gibi bazı enzimlerin integral bir bölümünü oluşturduğuna göre total bakır içeriğinde hafif bir artma non-spesi-

fik kompleksleşmiş bakırda belirgin bir artmaya yol açar, bu da tek başına biyolojik hasardan sorumludur (50).

Hrgovcık:Hodgkin de hastalık aktivitesi ile hiperküpsemi arasında bir korelasyon bulmuş.Bakır artma derecesi; Hastalık ne kadar lokalize ise o kadar düşük ve generalize ise okadar çarpıcı idi.Kemoterapiye cevap ile bakır düştüğünü gözledi (70).

Hayvanlarda BL ethioninin hepatoma oluşturma etkisi %0.25 bakır asetatın diete ilavesi ile engellenebilir. Dieter bakır inorganik fosfor-dimetil amino benzenin karaciğerde tümör indüklemesinde engeller. 3 ethoxy 2-oxybutyraldehidbis (thiosemikarbozon)'un sitotoksitesi iz miktarda bakır varlığı ile artar (70).

Dieter bakır alımının kanser riskini etkilediği görülmüştür.Test hayvanlarında yüksek bakır alımının kanser riskini artırdığı gözlenmiştir. Bu çalışma kanser tanısından bir kaç yıl önce bakır düzeyinin arttığını göstermiştir (13).

Kon yaptığı çalışmada klinik olarak manifest kanser görülmesinden 2 veya daha fazla yıl önce alınan serum örneklerinde kontrollerle kıyaslandığında kanser oluşacak vakalarda serum bakır düzeyinin %7 veya daha yüksek olduğunu gözlemiştir (40).

ÇİNKO

Çinko günlük ihtiyacı:

0-6 ay 3 mg

6-12 ay	5 mg
1-3 yaş	10 mg
4-6 yaş	10 mg
7-10 yaş	10 mg
10 y.üzeri	15 mg

Gebelikte 5 mg, laktasyonda 10 mg ekstra çinko gereklidir.

Çinko vücutta yaklaşık 2 gr. bulunur. 10-15 mg/gün alınır, 1 mg absorbe olur (74).

Kaynakları:

Proteinli gıda, et, balık ve mandra ürünleri iyi çinko kaynağıdır. 15-60 mg Zn/yaş ağırlığı içerirler. Sebze ve tahıllarda azdır (79).

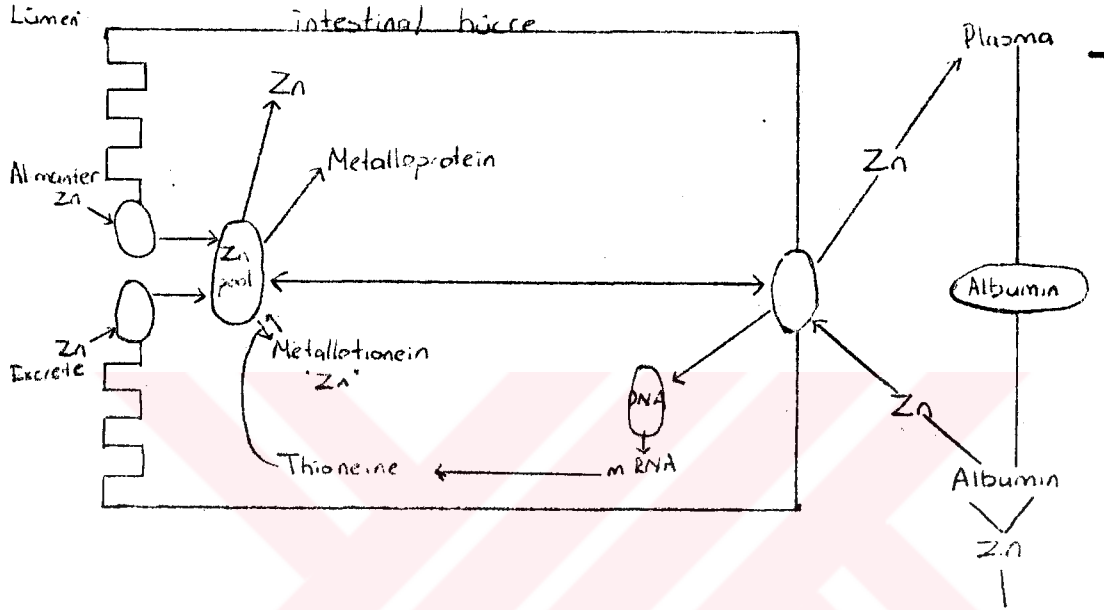
Total vücut çinkosunun yaklaşık yarısı karaciğer, böbrek, kas ve erkekte prostatda bulunur. 1/3 kadarı kalbde bulunur (82).

Absorbsiyon:

Duodenum ve proximal jejunumdan absorbe edilir. Emilim düzenli ve regüle bir olaydır. Aktif enerjiye bağımlı ve çinko bağlayan spesifik transport ligandlar tarafından kolaylaştırılan bir olaydır (8).

Emilimi etkileyen faktörler bakır emilimini etkileyen faktörlerle aynıdır (62). Evans, çinko emiliminin intestinal mukoza çinko içeriği ile ters ilişkili olduğunu göstermiştir(8).

Dietteki, fitat, fosfat, seluloz, semiseluloz çinko emilimini inhibe eder (79).



TABLO III: Çinko emilimi(22).

Dağılım:

Çinko plasmada %60-70 albumine, %30-40 α 2 makroglobuline ve az miktarda transferrin ve serbest aminoasitlere bağlı taşınır. Plasmadan hücrelere bilinmeyen bir mekanizma ile geçer (8,37).

Zn⁶⁵ verilerek karaciğer, böbrek, dalak, intestinal mukoza, akciğer, pankreas, tiroid, hipofiz, testis ve adrenal tarafından alımı ve atılımı gösterilmiştir. Zn⁶⁵ 'in beyin, kas ve eritrosit turnoveri çok yavaştır, saç ve kemikinkide yavaştır (8).

	$\mu\text{g}/\text{gr}$ doku (yaş)	$\mu\text{g}/\text{gr}$ doku (kuru)
Prostat	87	520
Kemik	66	218
Retina	-	571
Koroid	-	562
Kas	48	197/226
Böbrek	48	184/230
Karaciğer	46	141/245
Pankreas	27	115/135
Kalb	27	100
Barsak	22	93
Akciğer	14	67/86
Beyin	13	46
Deri	6	12
Saç	-	131/83

TABLO IV: Organizmada çinko dağılışı (22)

Atılım

Günde 15 mg çinko alan bir kimsede feçeste 10 mg atılır. Bunun 1.5 mg'ı pankreas sekresyonundan oluşur (79).

- 1- %75 i tuzların içinde feçesle atılır. Safra, pankreas salgısı, barsak hücresi dökülmesi, emilmemiş çinko
- 2- %8 i idrarla atılır. Günde 12 mg çinko alan bir kişide idrar da çinko <0.6 mg
- 3- %7 si deri ile atılır.
- 4- %10'u terle atılır.
- 5- Ayrıca salya, mide özsuğu, duodenum sıvısı ile de atılır (22).

Biokimyası ve Görevleri (4,12,47):

Çinko ile biolojik redoks işlemleri mümkün değildir. Biolojik solüsyonlarda serbest bulunmak yerine organik ligandlar ile kompleksleşmiş durumdadır.

I- Çinko metalloenzimlerin yapılarında yer alır (22).

	<u>Molekül ağır.</u>	<u>Bulunduğu yer</u>
Alkol dehidrogenaz	150.000	Karaciğer
Alkol dehidrogenaz	80.000	Insanda Kc.
Aldolaz	-	Karaciğer
Karbonik ahidraz	30.000	Eritrosit
Karboksipeptitaz A	34.000	Pankreas (öküz)
Karboksipeptitaz B	34.000	Pankreas (domuz)
DNA polymeaz	109.000	E.coli
Glutomat dehidrogenaz	880.000	Karaciğer
Glyoxalaz	48.000	Eritrosit
Lösin amino peptitaz	-	Öküz kalbi
Malat dehidrogenaz	40.000	-
Mannos 6 P isomenaz	45.000	
Alkalen fofatazlar	84.000	E.coli
Piruat karboxilaz	-	Karaciğer
RNA polymeaz	500.000	E. coli
Superoxid dismutaz	31.300	Eukoryatlar

Metallotioneinin rolü çinko için depolanma yeri olarak hizmet etmesidir (72).

II- Nükleik asid metabolizmasında DNA ve RNA sentezi için gereklidir (27,63).

III- Yara iyileşmesi: İyileşen dokuya çinko göçü hızlıdır. Çinko, DNA sentezi üzerinden fibroblastları uyarır, sikatris oluşumunu hızlandırır (52).

IV- A vitamininin plazma konsantrasyonu için gereklidir. Karaciğerden A vitaminini mobilize eder(73,29)

V- Çinko ve tat : tükürük proteini Gustin tükürük çinkosunun %75' ini içerir.

VI- Hücre membranını stablize edici bir rolü vardır.

VII- İnsulin ve çinko: İnsulin çinko ile kompleksler oluşturur. İnsulinin etki süresini arttırır. Çinko insulin monomerlerinden hexomer oluşumunu sağlar ve karaciğere iodoinsulinin bağlanmasını değiştirir.

VIII-Lipogenezi stimüle eder.

IX- İmmun kompleks etkisi: Hayvanlarda experimental çinko yetmezliğinin timus ve lenfoid dokuda atrofi oluşturduğu bilinir. Dieter çinko takviyesi T hücre anormalligini düzeltir. Nükleozid fosforilaz yetmezliği, T hücre yetmezliği ile ilişkilidir. Çinko, lenfosit transformasyonu için gereklidir. Değişik düzeylerde etki ile çinko lenfosit monoklonal proliferasyonu etkiler. Protein- enerji malnutrisyonlu çocuklarda çinko tedavisini takiben timus büyüklüğünde bir artma, immün yanıtta artış olur. Enfeksiyona artan eğilim çinko yetmezliği ile bağlantılı olabilir(58).

X- Çinko ve gonadal işlevler: Bakır testis üzerine spesifik

etkilidir. Eksperimental çinko yetmezliği olan insanlar, sickle cell anemi ve kronik üremilerde çinko yetmezliğine paralel olarak sperm sayısında azalma ve serum testosteron düzeyinde düşme olur. Çinko takviyesi testikuler yetmezliğin geri dönmesine yol açar (42).

XI- Non enzimatik serbest radikal reaksiyonuna etkisi çinko membran yapısını stabilize ederek vitamin E'ye analog bir rol oynar ve hücreye peroksidatif hasarı azaltır. Eritrositer çalışmalar çinkonun bir antioxidant gibi etki etmediğini ancak perioxidasyonu takiben oluşacak hasara karşı eritrosit hücre membranını stabilize ettiğini göstermiştir.

Çinko tayin Yöntemleri:

1- Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi (35,72):

5 kez dilüe serum veya plasma kullanılır. Standart solüsyonlar pure çinko metalden hazırlanır ve örneklerle aynı anda çalışılır. Kurb çizilerek sonuçlar değerlendirilir.

2- Kolorimetrik Yöntemler (78,30):

a- 4(2-pyridylazo) resercinol kullanılan yöntem

b- 5-BR-PABS [2(5-Bromo-2-pyridylazo)5(N-n-propyl N-3-sulfopropylamino)phenol] kullanılan yöntem.

3- Anodik stripping Voltametry (66)

4- Nötron aktivasyon analizi.

5- Emisyon spektroskopisi

Saç, tükrük, ter, doku, eritrositte de aynı yöntemlerle ancak bazı ön işlemlerden sonra çinko ölçümü yapılabilir(55).

Referans sınırları (8):

Plasma çinko	%12-22 µg
serum çinko	%100 µg
lökositler çinko	%36 µg

Kadınlarda erkeklerden daha düşüktür. Ayrıca yaşlılarda çinko düzeyi azalır (10).

Serum Çinko Yetmezliği ve Düşüklüğü:

Etyoloji (61,21)

- 1- Nutrisyonel-tahıldan zengin gıda ile beslenme.
- 2- Alkol alımı- Hiperzinküri yapar. Renal tubulere alkolün direkt etkisi olduğu düşünülür. Serum çinko düşer, çinko renal klirensi artar.
- 3- Gastrointestinal sisteme ait bozukluklar- steatore gibi Çinko yağ ve fosfatlarla insolubl kompleksler oluşturur. Yağ malabsorbsiyonu çinkonun feçesle kaybını artırır.

(-) Çinko balansı masif intestinal sekresyon kaybında da olur. Regional enterit, Crohn hastalığı.

- 4- Çeşitli termal inzüriler-yanıklarda exuda ile kayıp olur.
- 5- Kronik hastalıklar- nedeni tam açıklanamamıştır. Ancak hiperkatabolizmaya bağlı kaybın arttığı düşünülür.
- 6- Renal hastalıklar- (46,48,45,44,15) kronik renal yetmezliğinde plasma lökosit ve saçta çinko konsantrasyonu düşer. Plasma ribonükleoz aktivitesi artar. Hasta dializde olsun olmasın bu bulgular sebat eder. Üremililerdeki gonadal hipofonksiyon ve Hypogeusia çinko verilmesi ile düzelir.

7- Gebelik- normal çinko gereksinimi artar. Ek olarak yaklaşık 375 mg çinko gerekir. Gebe kadınlarda orta çinko yetmezliğinde maternal morbidite artar, anormal tat alma uzamış gestasyon, atonik kanama, fetüs riskinde artma olur

8- İatrojenik vakalar : Muhtemel iatrojenik nedenler : Selatlayıcı ajanlar, antimetaboliter, antianabolik ilaçlar ve Diüretikler. PE beslenme sıvılarında çinko bulunmayışında neden olabilir. Çinko dengesini sağlamak için PE sıvıda günlük 2,5 mg çinko olmalıdır.

9- Genetik bozukluklar:

a- Akrodermetitis enteropetika (5) Otosomal resesif ve letaldir. Doğumda yoktur, tipik olarak yaşamın ilk aylarında gelişir. Memeden kesildikten kısa bir süre sonra ortaya çıkar.

Ekstremitelerin progresif büllöz püstüler dermatitisi, oral, anal ve genital bölgeleride içine alır. Alopesi ve Paranchia vardır. En sık komplikasyonu Candida Albicans enfeksiyonu. Oftalmik bulgular; blefarit konjunktivit fotofobi, korneal opasite olur.

Gastrointestinal bozukluklar: Şiddetli kronik diare, malabsorbsiyon, steatare, laktoz intoleransı olur.

Nöropsişik bozukluklar: İrritabilite, emosyonel bozukluk tremor serebeller ataxi büyümede gerilik ve hipogonadizm.

b- Sickle cell anemi: Çinko yetmezliğine benzeyen bulgular saptanmıştır. Puberte de gecikme, hipogonadizm,

facial, axiler ve pubik kullanmada azalma, iştahsızlık, kronik bacak ülseri, vücut ağırlığında düşme olur. Belki uzamış ve devamlı hemoliz hem çinko kaybına, hem de günlük ihtiyacı artırarak çinko yetmezliğine yol açar. Çinko eritrositin önemli bir komponentidir. Plasma, eritrosit, lenfosit, nötrofil, trombosit çinko azalır Hiperzinküri vardır. Çinko tedavisi krizleri azaltır.

Experimental çinko yetmezliği:(59) Diet çinko sınırlaması ile plasma eritrosit, lökosit ve idrar çinkosunun düştüğü gözlemlendi. ALP, ribonükleaz gibi plasmada da bulunan çinkoya bağlı enzimlerin aktivitelerinde değişiklikler çinko durumu ile bağlantılıydı. Diet çinko kısıtlaması ile bütün vakalarda kilo kaybı oluştu. ALP,LDH düştü ve çinko verilmesinden sonra çinko kısıtlamasında yağın normal absorpsiyonu ve yağ kaybında yükselme olur. Çinko yetmezliği ile serbest yağ asitleri yükselir ve protein sentezi zıt olarak etkilenir. Çinko verilmesinden sonra total protein, total kollagen ve RNA-DNA oranı artar.

Çinko Yetmezliğinin Biokimyasal Etkileri (61,53,11):

1- Enzimlerde çinkonun rolü vardır. Bu gün 200'ün üzerinde çinko bağlı enzim olduğu düşünülmektedir. Bu enzimler çok sayıda metabolik süreçte rol oynar. Bu fonksiyon bozulur.

2- Nükleik asid metabolizmasındaki rolü: DNA ve RNA'nın biosentez ve katabolik hızını regüle eden enzimler çinkoya bağlıdır.

3- Hücre membranı üzerine çinkonun etkisi: Plasma membranı

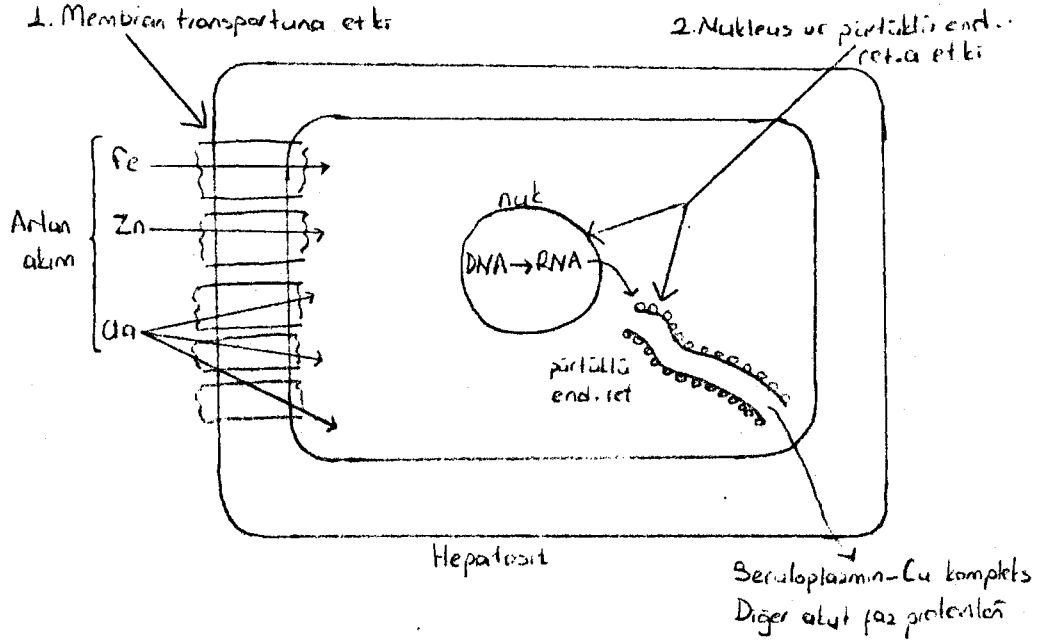
stabilize edicidir. Plateletler çinko tarafından etkilenir. Membran yapı ve fonksiyon kontrol eden plasma membranına bağlı bir çok enzimin aktivitesi çinko tarafından kontrol edilir. ATP az ve fosfolipaz az, Çinko ile inhibe edilir. Çinko Kalsiyum ile yarışabilir ve kalsiyumun etkisini inhibe eder.

4-Çinkonun immun fonksiyonlara etkisi: Lenfoid transformasyonu için gereklidir. (mitogen etki) lenfoid hücre yüzey reseptörlerinin fonksiyonu ve ekskresyonunda rol oynar. Yetmezliğinde timik ve lenfoid dokuda atrofi lenfopeni olur. T hücre dışfonksiyonu olur (53).

Bakteriyel enfeksiyonlarda plasmadan çinko, demir ve aminoasidin karaciğere akımına neden olan LEM denen bir madde plasmada bulunur. Aktive makrofajlar ve granulositler tarafından üretilen LEM düşük mol ağırlıklı bir proteindir. LEM'in PE injeksiyonundan sonra 8 saat içinde kan nötrofilleri sayısında artma ve K.I. den nötrofil salınması olur. Granulosit kemotaksisi ve plasma ve granulosit çinko konsantrasyonu arasında anlamlı korelasyon bulunmuştur. LEM'in 2 tip etkisi vardır:

1-Hepatosit yüzey membranına etki: Demir, çinko ve serbest aminoasitlerin hepatik hücreye akımını stimüle eder.

2-Nükleer ve ribozomal RNA sentezini stimüle eder. Bu da çeşitli akut faz proteinlerinin sentezine neden olur. Bu proteinler karaciğer tarafından üretilir ve kana salınır.



Tablo II: Hepatositler üzerine LEM'in etkisi (11).

Cinko Yetmezliğinin Klinik Belirtileri: (60,18,61)

Cinkodan düşük diyetle beslenmeden bir gün sonra serum çinkosu düşer, orta dereceli yetmezlikte:

a- büyüme etkilenir. Pituitar-adrenal yetmezliğe bağlı cücelik olur.

b- testicular fonksiyon etkilenir. Oligospermi, hipogonadizm, gecikmiş puberte, anormal testis

c- Prolaktin salınmasının regülasyonu bozulur.

d- Thymopoetin salınması bozulur. ---> T hücre maturasyonu olmaz ---> tekrarlayan enfeksiyonlar olur.

e- İnsuline bağımlı diabet oluşabilir.

f- Büllöz-püstüler dermatit, gecikmiş yara iyileşmesi, pürüzlü deri alopesi

g- Mental letarji, Emasyonel bozukluk

h- Karanlık adaptasyonunda bozukluk

ı- Diare

Serum Çinkosunun Düşük Olduğu Durumlar (77,60,34,46,48,68,34,
23,2,20,24)

- 1- Post- op
- 2- Enfeksiyöz olaylar. Pulmoner, tüberküloz, RA, Lupus
- 3- AMI
- 4- Renal hastalıklar.
- 5- Lösemi, lenfoma ve pekçok kanser.
- 6- Marasmus, Kwashiorkor
- 7- Pernisyöz anemi
- 8- Oral kontraseptif kullanımı, gebelik
- 9- Ülser
- 10- DM
- 11- Akut alkolizm
- 12- Sickle cell anemi
- 13- Wilson
- 14- Karaciğer sirozu
- 15- Akrodermatitis enteropatika

Serum çinko yüksekliği- çinko toksisitesi

1- Metal buharının inhalasyonu sırasında görülebilir. Çinko oksid dumanını intalasyonu ile oluşan kliniğe çinko duman ateşi denir. Alt solunum yolu enfeksiyonu Pnömoni ve diğer hastalıklara benzer klinik verir. (27)

2-Bir başka nedeni:Galvanize demirli konserve kutularında hazırlanmışlimeade içilmesinden sonra oluşmasıdır.Diare gastrointestinal distres (10) olur.

3- Akut çinko toksisitesi galvanizlenmiş tankta saklanmış suyun kullanıldığı hemodializi takiben renal yetmezlikli hastalarda oluşabilir. bulantı, kusma, ateş, şiddetli anemi

ile kendini gösterir (57).

4- Yaklaşık 12 gr çinko sülfatın oral alımı ile 2 günlük periyotta letarji drowsiness ve serum lipaz ve Amilaz düzeyinde artma olur.

5- Akut IV çinko verilmesi ile akut renal yetmezlik ve ölüm olur. (5)

Karsinogenez ve Çinko:

Çinko normal ve neoplastik dokuların büyümesi için gereklidir.

-Diet çinko yetmezliğinin bazı kanser tiplerinin insidansını artırdığı bazılarının insidansını azalttığı ileri sürülmüştür. oesofagus kanseri, primer hepatik kanser, prostat kanser, renal hücreli kanserde çinko düşer. Hodgkin, akciğer kanser, bronş kanser, baş boyun epidermoid kanseri, osteosarkoma düşer. Çinko yetmezliğinin kanserdeki rolü bilinmez.

-RNA ve DNA Polimerazda çinkonun rolü fosfodiesteraz üzerine olan kısıtlayıcı etkileri, membrana bağımlı adenil siklaz üzerine olan aktive edici etkisi çinko'nun kanserde rolü olabileceğini gösterir. Çinko ribozomlar ve DNA çift helixini stabilize eder. (70)

Walker, 256 karsinosarkom ve sarkoma M1 deki DNA ve RNA 'dan izole edilen çinko içeriğinin normal fare karaciğerinden izole edilen nükleik asid çinko içeriğinden yüksek olduğunu göstermiştir(3).

Bir başka açıklama (tez) : Dialkil nitrozaminler mutajenik olmak için sit P 450 aktivasyonuna ihtiyaç duyar. Çinko yetmezliğinin sit P 450 bağlı metil benzil Nitrosem (MBN) metabolizmasını artırdığı bilinir. Çinko MBN in direkt nonkompetitif inhibitörüdür. Çinko yetmezliği olan farelerin oesofagus ve hepatic mikrozomlarında kontrole oranla MBN daha yüksek bir benzaldehite metabolize olur. Nitrosaminler DNA yı metile eder ve O⁶ metile guanin oluştururlar. Bunlar DNA da misreplikasyona bağlı nokta mutasyonlar, DNA nın yanlış transkripsiyonu veya DNA da hasara yol açar ve kanser oluşur (6).

Song ve arkadaşları farelerde yaptıkları çalışmada tümöral hücrenin Çinko içeriğinin normal hücreninkinden 2-7 kat fazla olduğunu gösterdi. Çinko selluler proliferasyon ve fonksiyonda önemli rol oynar. Çinko fazlalığı tümörün büyümesini veya başlamasını inhibe eder (75).

Mathew ve arkadaşları çalışmalarını sonucunda şu noktalara dikkat çekmiştir (52).

1- Çinko verilmesi karsinogenesis başlangıcını geciktirir.

2- Diet Çinko düşüklüğü başlangıçtaki histolojik değişikliklerin oluşumunu kolaylaştırır.

3- Bir kere endüksiyon oldu mu ilave Çinko sellüler değişiklikleri kolaylaştırır.

4- Karsinogenesis plazma Çinkoda bir düşme ile beraberdir.

MAGNEZYUM-Mg

Günlük ihtiyacı bilinmez. Günde ortalama 400 mg. alınır. Bunun 1/4 ü absorbe olur(74).

Kaynakları : Yeşil bitkiler, et, süt ve deniz ürünleri.

Absorbsiyon : Magnezyum alımından sonraki bir saat içinde başlar ve 2-8 saat sürer. Absorbsiyon ince barsakta olur,kalın barsakta hiç emilmez. Magnezyumun %60-%70'i absorbe edilmez ve feçesle atılır.Magnezyum absorbsiyonu Vitamin D'ye bağımlı değildir. Fakat Kalsiyum, fosfat, protein laktoz veya alkol alınma miktarıyla etkilenebilir. Intestinal absorbsiyon total alıma bağlıdır(79).Absorbsiyonu etkileyen faktörler Kalsiyum ile aynıdır.

Dağılım : Vücuttaki miktarı 25 gram kadardır.(74). Bunun çoğu iskelettedir(%55). % 27 kadarı kasta ve yumuşak dokuda bulunur. %1'i ekstrasellülerdir. Vücut yaş doku ağırlığınının kg. başına 22.7-35 mEq.bulunur(65). Serum magnezyumunun %80'i ionizedir ve difüze olabilir. Kalanı proteine bağlıdır(72). Magnezyum labil havuzu abdominal boşluk,bağ dokusu, deri ve yumuşak dokudadır. Eritrosit. kemik ve kasta magnezyum çok yavaş exchange olur(9).

Atılım:

Başlıca atılım feçesle olur. Böbrek, total vücut magnezyumu ve serum konsantrasyonunun ana regülatörüdür. Magnezyumun difüze olabilen fraksiyonu glomerülden filtrasyona uğrar ve %60-70'i reabsorbe olur.(65).Böbrekle

atılım 100 mg/gündür(67).

Biokimyası ve Görevleri:

1- ATP gerektiren tüm enzimatik reaksiyonlar magnezyuma ihtiyaç duyar(26). Magnezyum ATP ile birleşerek gerçek substratı oluşturur ve ATP'nin terminal ~P bağıını labil hale getirir.ATP'deki (-) yükü nötralize eder.

2- Magnezyum-porfirin kompleksi fotokimyasal oksidasyon ve redüksiyonun devamını sağlar. Bu olay ATP ve O₂ oluşumuna yol açar ve bunlar da oksidatif fosforilasyonda kullanılır.

3- İnsan vücudunda en çok bulunan ikinci katyondur. Ve en küçük ionik yarı çapa sahip elementtir. Bir atomun relatif ölçüsü ne kadar küçük ise kompleks bileşik oluşturmaya eğilimi ve bağlanma enerjisi o kadar fazladır.Magnezyumun major metabolik fonksiyonu; kompleks bileşik oluşturmasıdır.

4- Kalsiyum ve Potasyum transportunu sağlar.(67).

5- Normal nöro-muskuler fonksiyonu sağlar(67).

Serum magnezyum-potasyum arasında iyi bir korelasyon vardır(28). Magnezyum yüksek metabolik aktivite gösteren dokularda yüksek bulunur(67). Magnezyumun kalsiyumun absorpsiyonunu düşürdüğü öne sürülür.Magnezyum eksikliği potasyum eksikliğine neden olabilir(7).

Analiz Yöntemleri (79).

- 1- Atomik Absorbsiyon Spektrofotometrik
- 2- Kolorimetrik-Calmogite Metodu.
- 3- Fluorometrik.

Referans Sınırları (79-72):

Tam Kan	: 3 mEq/lt.
Plazma	: 1.8-2.5 mEq/lt.
Eritrosit	: 3.5 mEq/lt.
Doku Hücresi	: 16 mEq/lt.

Serum Magnezyum Düşüklüğü :

Mekanizması(65). :

- 1- PTH'un anormal salınımı veya sentezine bağlı paratroid fonksiyon bozukluğu.
- 2- Periferik dolaşımın PTH'e cevapsızlığı.
- 3- Kemik yüzeyinde magnezyum ve kalsiyumun azalmış exchange'i.
- 4- PTH'dan bağımsız olarak kemikten kalsiyum salınımında azalma.

Kliniği;Nöro-müsküler fonksiyon bozukluğu, hiperirritabilite, tetani, EKG değişikliği.

Görüldüğü Durumlar(83) :

- 1- Hipokalemi
- 2- Hipokalsemi

- 3- Kronik alkolizm
- 4- Çocukluk malnütrisyonu
- 5- Laktasyon, oral kontroseptif, gebelik
- 6- Malabsorbsiyon
- 7- Akut pankreatit
- 8- Hipoparatiroidi
- 9- Kronik Glomerulo-Nefrit
- 10- Hiperaldosteronizm
- 11- Digital intoksikasyon, yüksek doz insülin alımı, diüretik, amfoterisin B, aminoglikozid, sitrat, kalsiyum tuzları alımı
- 12- Diabetik asidoz

Serum Magnezyum Yüksekliği (83-81) :

Kliniği : EKG değişimi, hipotansiyon, solunum felci, kardiyak arrest.

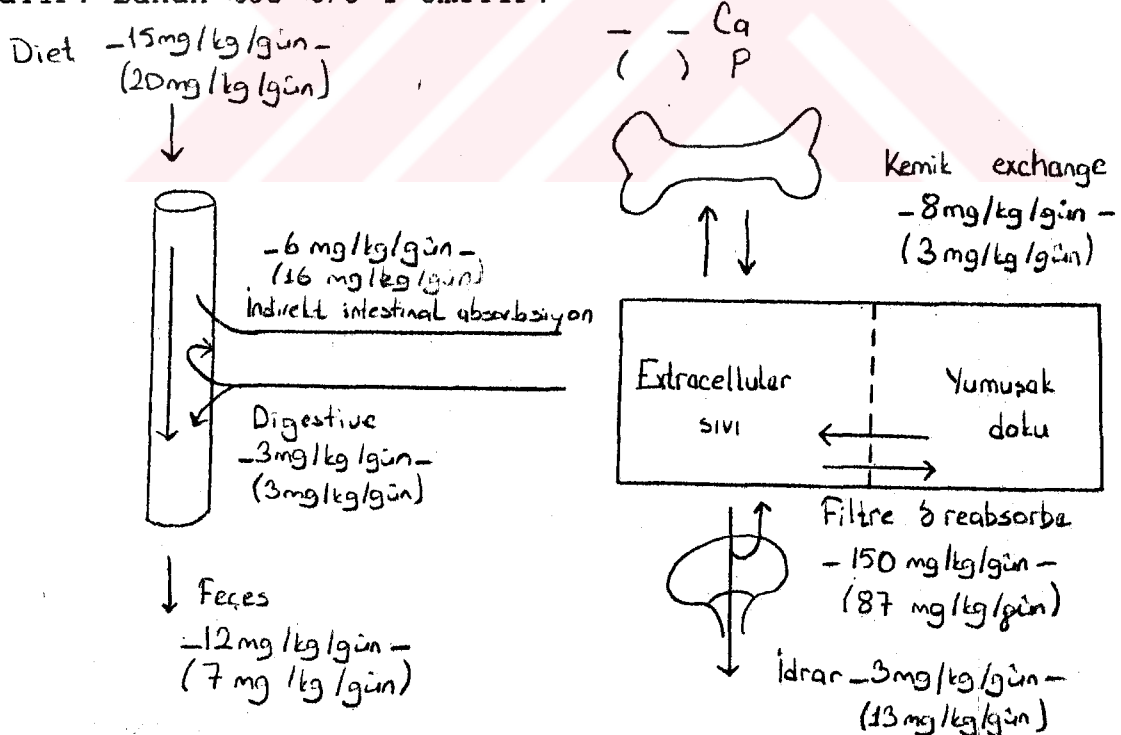
Görüldüğü Durumlar :

- 1- En sık nedeni renal yetmezliktir.
- 2- Akut lösemi, myelofibrozu, kronik lenfositik lösemi.
- 3- Dehidratasyon
- 4- Addison hastalığı, adrenokortikal yetmezlik.
- 5- Doku travmaları
- 6- Hipotroidi

KALSIYUM VE FOSFOR

	Fosfat (gr)	(%)	Kalsiyum (gr)	(%)
Kemik ve dişler	600	86	1300	99
Extrasselüler sıvı	0.2	0.03	1	0.1
Hücreler	100	14	7	1.0
	nM	%	mEq	%
Proteine bağlı	0.15	13	2.3	45
Kompleks	0.40	35	0.5	11
ionize	0.60	52	2.15	44

Ihtiyaç : Normal kişi günde 600-1000 mg. kalsiyum alır ve bunun % 30-%35'i (150-200 mg'ı) emilir. Ve 800-1500 mg. Fosfat alır. Bunun %65-%70'i emilir.



TABLO VI- Kalsiyum ve fosforun günlük değişimi :

Görevleri:

Hücre İçi Kalsiyum : Hücre motilitesini kontrol eder. Sekretuar ürünlerin bırakılmasını sağlar. Potasyum ve sodyuma karşı membran permeabilite değişimini sağlar. Hem sekretuar hem absorbtif epitel hücrelerin transsellüler tuz ve su nakline etki eder.

Kalmodulin ile reversibl kombinasyonlar yaparak bazı enzimlerin aktivitelerini belirler.

Inorganik Fosfor: 2,3 difosfogliseratı düzenleyerek hemoglobinin Oksijen taşıma kapasitesini etkiler. Ammoniogenez, glikolizis, 25.OH Vitamin D'nin hidroksilaz aktivitesi gibi metabolik olaylarda yer alır.

Mitokondrial inorganik fosfor direkt olarak ADP'den ATP olmasını sağlar. Glikojenoliziste inorganik fosfor direkt olarak glikoz bir fosfor oluşturmak için glukojenle reaksiyona girer.

Tüm canlı hücrelerin yapı ve fonksiyonlarında temel bir rol oynar. Fosfat ; nükleik asitlerin, nükleotitlerin, fosfolipitlerin ve bazı proteinlerin bütünlüğünü tamamlayan bir komponenttir.

Fosfor Tavin Yöntemleri:

1- İndirekt Yöntemler,

2- Fosfovanadomolibdat Yöntemi ;Kolorimetrik

3- Elektrokolorimetrik

Kalsiyum Tayin Yöntemleri:

1- Kompleksometrisel - Titrasyon

2- Fotometrisel

3- Alev fotometrisel

4- Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi

Kalsiyum ve Fosfor düzeylerinin değıştiği patolojik durumlar:

	<u>Kalsiyum</u>	<u>Fosfor</u>
Primer Hiperparatroidi	Artar	Azalış
Tümoral iskelet metastazı	Artar	Artar
Multipl myelom, lösemi	Artar	Artar
Vitamin D toksisitesi	Artar	Artar
Sarkoidoz	Artar	Azalış
Tirotoksikoz	Artar	Artar
Kronik renal yetmezlik	Artar	Artar
Hipoparatroidizm	Azalış	Artar
Hipomagnesemi	Azalış	Artar
Malabsorbsiyon	Azalış	Azalış

GEREC VE YÖNTEM

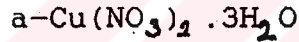
I- ARAÇLAR

- 1- Spektrofotometre-Hitachi
- 2- Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi Pye Unicam (E.Ü. Gıda Fakültesi laboratuvarında)
- 3- Hitachi 705 autoanalizör
- 4- Santrifüj cihazı -Hettich
- 5- Su banyosu - Kötterman
- 6- Santrifüj tüpleri
- 7- Otomatik ve cam pipetler
- 8- Hassas terazi- Mettler

II- REAKTİFLER

A- İZ ELEMENT TAYİNİNDE KULLANILAN REAKTİFLER

1- Bakır Tayininde Kullanılan Reaktifler



Bakır Stok Standart Hazırlama :

1- 3.7980 gr. $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ deionize su ile 1 litreye tamamlanır.

2- Bakır stok 10 mg/lt.=10 cc. Bakır stok 1 +90 cc. su

3- Bakır stok 100 $\mu\text{g}/100$ cc. =10 cc. standart stok 2 + 90 cc su .Bakır stok 3 çözeltisinden 0.2-0.5-1.0-1.5-2 ppm'lik bakır standartları hazırlandı.

b-Boehringer Mannheim Bakır Kiti

2-Çinko Tayininde Kullanılan Reaktifler

a- Pure Çinko metal

b- 5 N. HCl

c- Sodyum chlorid

Çinko Stok Standart Hazırlama :

1- Çinko Stok : 0.1 gr. Pure Çinko Metal+10 cc. 5 N.HCl bidistile su ile 1 litreye tamamlandı.

2- Çinko Stok :10 mg/lt.= 10 cc.Çinko Stok+90 cc.Bidistile su

3- Çinko Stok : 100 µg/100 cc.= 10 cc.Çinko Stok 2 +90 cc.Bidistile su

4- Çinko Çözeltisi : 10 cc.Çinko Stok 3 + 10 cc. Sodyum Stok Solüsyonu + 80 cc. Bidistile su

Sodyum Stok Çözeltisi = 140 mM/1 Na = 8.2 gr. Sodyum chlorid bidistile ile 1 litreye tamamlandı.

Çinko Solüsyonu 4;10 µg/100 cc. Çinko içerir. Örnekler 1/10 dilüe edildiği için bu örnek çözeltideki 100 ug/100 cc.'ye karşılık gelir.Bu standart çözeltiden 0.2-0.4-0.6-1.0-2.0 ppm'lik çözeltiler hazırlandı.

d- Wako çinko kiti

B- TEMEL ELEMENT TAYINLERİNDE KULLANILAN REAKTİFLER:

1- İnorganik Fosfor tayininde kullanılan reaktifler

a- %19.6'lık Triklor Asetik asit

b- 0.28 N HNO₃

c- 2.5 N H₂SO₄

d- Amonyum Monovanadat (NH₄VO₃)

e- Amonyum Heptamolibdat [(NH₄)₆Mo₇O₂₄.4H₂O]

Amonyum vanadat reaktifi: 0.2457 gr. Amonyum monovanadat

100ml 0.28 N HNO₃

Amonyum Molibdat reaktifi:4.94 gr. Amonyum hepta molibdat

100 ml 2.5 N H_2SO_4

2- Kalsiyum tayininde kullanılan reaktifler

a- Hitachi 705 otoanalizörün Boehringer Mannheim kiti

3- Magnezyum tayininde kullanılan Reaktifler

a- Hitachi 705 otoanalizörün Boehringer Mannheim kiti

C- SERULOPLASMIN TAYININDE KULLANILAN REAKTIFLER:

a- Glasial asetik asid

b- Sodyum asetat. $3H_2O$

c- Fenilen diamin dihidroklorür

d- Sodyum Asid eriyigi - 460 mmol.3 gr sodyum azid+
100cc distile su.

Asetat Tampon-0.43 M- PH= 5.6 = 1.34 ml. glasial asetik asit
+ 26.44 gr. sodyum asetat .3 H_2O + 1 litre distile suyla
tamamlanır.

Fenilen diamin substrat . 7.95 mmol = 18 mg. fenilen diamin
dihidroklorür + 12.5 ml asetat tampon.

D- Enzim Tayininde Kullanılan Reaktifler :

1- SGOT: Hitachi 705 Otoanalizörün Boehringer Mannheim Kiti

2- SGPT: Hitachi 705 Otoanalizörün Boehringer Mannheim Kiti

3- LDH: Hitachi 705 Otoanalizörün Boehringer Mannheim Kiti

4-ALP: Hitachi 705 Otoanalizörün Boehringer Mannheim Kiti

E- DİĞERLERİ:

1- Total Protein, Albumin - Hitachi Otoanalizörün
Boehringer Mannheim Kiti

2- Ürik Asit - Hitachi 705 Otoanalizörün Boehringer Mannheim Kiti

F- DOKU ÖZÜTLENMESİNDE KULLANILAN REAKTİFLER:

1- HClO_4

2- HNO_3

$\text{HClO}_4/\text{HNO}_3$ 1/1 oranında hazırlandı.

III- ÇALIŞMA GRUPLARI VE NUMUNE ELDESİ

Kontrol grubu, benign meme hastalığı grubu ve malign meme tümörü grubu olmak üzere üç grup çalışıldı.

A- SERUM ÇALIŞMASI:

1- Kontrol Grubu : Sağlıklı, ilaç kullanmayan 21 kişiden oluşan kontrol grubu Biokimya Ana Bilim Dalı Personeli ve E.Ü.Tıp Fakültesi'nde okuyan öğrencilerden seçildi. Kontrol grubumuzun 13'ü kadın; 8'i erkek olup yaş ortalaması 34(16-50) idi.

2-Benign Meme Hastalığı Olan Grup : Yaşları 17 -50 arasında değişen yaş ortalaması 41 olan 17 kadın hasta ile jinekomasti nedeniyle başvuran bir erkek hastadan oluştu.

3- Malign Meme Tümörü Olan Grup :Yaşları 25 - 70 arasında değişen yaş ortalaması 51 olan 40 kadın hastadan oluştu. Bunlardan 5'i grade III, 3'ü grade IV, dokuzu grade V olup 4'ü Paget hastalığı, 1'i skiro kanseri tanısı aldı.

Örneklerin Toplanması :

Kontrol ve hasta gruplarına ait kan örnekleri sabah aç karnına 8.30'da %5'lik HNO₃ ile yıkanmış bidistileden geçirilerek kurutulmuş cam tüplere alındı. Hemoliz edilmeden serumları ayrılarak bir kısmı hemen çalışıldı, hemen çalışılmayanlar deep freezde (-20 C) de en fazla 20 gün olacak şekilde saklandı.

Kontrol, benign ve malign grupların serumlarında bakır, çinko, seruloplazmin, kalsiyum, magnezyum, fosfat, SGOT, SGPT, ALP, LDH çalışıldı.

B- DOKU ÇALIŞMASI

1- Benign Meme Dokusu Grubu : Yaşları 13 - 43 arasında değişen, yaş ortalaması 36 olan 20 kadına ait meme dokusu biopsi materyali elde edildi. Ağırlıkları 0.069 - 0.211 gram arasında değişen ortalama ağırlığı 0.1924 gram idi. Dokular 3'ü MKH, 11'i fibroadenom, 3'ü memenin kistik hastalığı + fibroadenom, 1'i duktal papillom, biri obliteratif mastit, biri nonspesifik hiperplazi patolojik tanısı aldı.

2- Malign meme dokusu grubu: 28-66 yaşları arasında yaş ortalaması 48 olan 28 kadına ait meme dokusu materyalinden oluştu. Ağırlıkları 0.067-0.7237 gr arasında ortalama ağırlığı: 0.329 gr idi. Dokuların patolojik tanıları; Üçü invaziv lobuler ca, biri taşlı yüzük hücreli ca, biri multifokal ca, biri nüks. 8 vakada lenfadenopati mevcuttu. Örneklerin toplanması ve çalışma= Bütün doku örnekleri 12

saat açlıktan sonra paslanmaz  elik enstrümanlar ile bakır ve çinkodan arındırılmış tüplere alındı. Numuneler mümkün olduğu kadar normal doku ve yağdan temizlendikten sonra herbiri ikiye bölündü. Bir bölümü patoloji laboratuvarına verildi, diğer bölüm laboratuvarımıza alındı ve çalışılincaya kadar deepfrezede 20 günü aşmayacak şekilde saklandı. Çalışılacağı gün deep freezden çıkarılan örneklerin yas ağırlıkları hassas terazide saptandıktan sonra 1:10 oranında $HClO_4/HNO_3$ (1:1) solüsyonu eklendi. (0.510 gr için 5.1 cc gibi). Bu şekilde özütlenmek üzere buzdolabına kaldırıldı. Bütün benign dokular ve malign dokuların bir kısmı 72 saat içinde tamamen çözünmesine karşın meme kanserinin ilerlemiş olduğu malign dokuların bir kısmı ancak 72x2 saat hatta 4 tanesi 15 günde tamamen çözündü. Dokunun tümüyle çözünmesinden sonra bu örneklerde bakır, çinko, fosfor, kalsiyum ve magnezyum çalışıldı. Çalışma sonucu elde edilen değerler μg metal/gram yas doku olarak hesaplandı.

IV- YÖNTEMLER

A- Serumda Tayin Yöntemleri

1- Çinko tayini

a- Spektrofotometrik yöntem: 5 BrPABS metoduna dayalıdır.

b- Atomik Absorbsiyon Spektrofotometrik yöntem:

Daha önce hazırlanan 0.2-0.4-0.6-1.0-2.0 ppmlik standartlardan çift örnek ve 1/10 dilue edilmiş numuneler arka arkaya 213.9 nm dalga boyunda, 10 mAmpere akım şiddeti ve 0.5 slit

genişliğinde okundu. Standartlara göre grafik çizilerek % µg çinko değerleri elde edildi.

2- Bakır tayini:

a- Spektrofotometrik yöntem: Bakırın Bathocuproin disülfonat ile renkli kompleks oluşturması esasına dayanır.

b- Atomik Absorbsiyon Spektrofotometrik yöntem: Bakır için hazırlanmış olan 0.2-0.5-1.0-2.0 ppm'lik standartların çift örneği ve 1/10 dilue edilmiş serum örnekleri arka arkaya 324.8 nm dalga boyu, 5 mAmpere akım şiddeti ve 0.5 slit genişliğinde okundu. Grafik çizilerek sonuçlar % µg bakır olarak saptandı.

3- Seruloplasmin tayini: Ravin usulü; Seruloplasminin fenilendiaminini oksitleyerek mavi-menekşe renk alması esasına dayanır.

4- İnorganik fosfor tayini: Molibdat-Vanadat reaksiyonuna dayalı metod kullanıldı.

5- SGOT: α -oxoglutarat + L aspartat $\xrightarrow{\text{GOT}}$ L glutamat + Oxaloasetat

Oxaloasetat + NADH + H⁺ $\xrightarrow{\text{GOT}}$ L malat + NAD⁺

6- SGPT: α -oxoglutarat + L alanin $\xrightarrow{\text{GPT}}$ L glutamat +

Piruvat LDH

Piruvat + NADH + H⁺ $\xrightarrow{\text{LDH}}$ Laktat + NAD⁺

7- ALP - Alkalen fosfatazın fosfor-nitrofenil fosfatı

fosfat ve fosfor-nitrofenola ayrıştırması esasına dayanır.

8- Kalsiyum- Alkali ortamda O-ksephtalein kompleksi ile kalsiyum bağlanması esasına dayanır.

9- Magnezyum - Xylidyl blue I ile magnezyum kombinasyonu alkali ortamda şelat oluşturması esasına dayanır.

10- LDH- Piruvattan laktat oluşturması esasına dayanır.

B- Dokuda tayin yöntemleri:

Serumda çalışılan yöntemler kullanılarak bakır, çinko, inorganik fosfor, kalsiyum ve magnezyum tayinleri yapıldı.

Çalışmamızda elde edilen sonuçlar Ege Üniversitesi Bilgisayar Araştırma ve Uygulama merkezinde Mean, SD, SEM, t testi ve korelasyon testi kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirildi.

BULGULAR

I-SERUM SONUÇLARI

1- Kontrol Grubu: Tamamen sağlıklı, ilaç kullanmayan 21 normal olgudan alınan kan örnekleri Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi ve Spektrofotometrik yöntemlerle çalışılan bakır ve çinko sonuçları Tablo 1'de gösterildi. Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi ile bakır ortalaması %128.19 µg, spektrofotometrik yöntem ile bakır ortalaması %130.05 µg olarak bulundu. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi ile çinko ortalaması %117.71 µg, spektrofotometrik yöntem ile %115.0 µg olarak bulundu. Aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Kontrol grubunda çalışılan diğer parametrelerden seruloplasmin, kalsiyum, magnezyum, inorganik fosfor, ALP, LDH, SGOT, SGPT, UA sonuçlarının istatistiksel değerlendirmeleri Tablo 2'de verildi.

2- Benign Meme hastalığı grubu: 17 kadın ve jinekomosti nedeniyle opere edilen 1 erkek hastadan oluşan 18 kişilik bu gruba ait biokimyasal parametrelerin kontrol ile kıyaslamalı sonuçları Tablo 3'de verildi. Kontrol grubu sonuçları ile kıyaslandığında benign meme hastalığı grubunda sadece inorganik fosforda anlamlı artış gözlemlendi. Seruloplasmin, bakır, çinko, bakır/çinko, kalsiyum, magnezyum, LDH, ALP, SGOT, SGPT, UA değerleri arasında anlamlı fark bulunamadı.

Ayrıca UA ile kalsiyum arasında %99'luk doğrusal ve UA

ile inorganik fosfor arasında % 95'lik ters bir korelasyon bulundu.

3- Malign Meme tümörü grubu : Malign tümör nedeniyle opere olan 40 kadar hastaya ait serumlarda çalışılan biokimyasal parametrelerin kontrol ile kıyaslamalı istatistiksel sonuçları Tablo 4'de gösterildi. Kontrol ile kıyaslandığında malign tümör olan hastaların serumlarında seruloplasmin, bakır, bakır/çinko, inorganik fosfor ve LDH düzeylerinde %99'luk ($P<0.01$) anlamlı artış saptanırken çinko ve UA düzeylerinde %99'luk ($P<0.01$) anlamlı düşüş gözlemlendi. Bunun yanısıra kalsiyum ve SGPT düzeylerinde %95'lik anlamlı ($P<0.05$) artış gözlemlendi. ALP, SGOT ve magnezyum düzeylerindeki artışlar kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Ayrıca çinko ile kalsiyum arasında %95'lik ($r=0.384$) doğrusal korelasyon saptandı.

Malign ve benign meme tümörü olan hastaların serumlarında çinko düzeyleri grafik 1'de , bakır düzeyleri grafik 2'de ve bakır/çinko oranları grafik 3'de gösterildi.

II- DOKU SONUÇLARI

1- Benign meme hastalığı grubu: 20 benign meme tümör dokusunda çalışıldı. Kalsiyum, magnezyum, fosfor, bakır, çinko sonuçlarının istatistiksel değerlendirilmesi Tablo 5'de gösterildi.

Benign doku bakır değerleri 22-62 $\mu\text{g}/\text{gr}$ arasında değişmekteydi ve ortalama 47.9 $\mu\text{g}/\text{gr}$ idi.

Benign doku çinko değerleri 1.0-5.7 µg/gr arasında değişmekteydi ve ortalama 3.64 µg/gr idi.

Benign dokuda inorganik fosfor ortalaması; 640 µg/gr, Magnezyum 138.7 µg/gr ve kalsiyum 91.2 µg/gr bulundu.

2- Malign meme tümör grubu: 28 malign meme tümör dokusunda çalışılan kalsiyum, magnezyum, inorganik fosfor, bakır ve çinko sonuçlarının benign meme tümör dokusu sonuçları ile kıyaslamalı istatistiksel değerlendirmesi Tablo 6'da gösterildi.

Benign ve malign dokulara ait bakır ve çinko sonuçları grafik 6'da gösterildi.

Malign doku bakır değerleri 50-112.5 µg/gr arasında değişmekteydi ve ortalama 74.8 µg/gr idi. Benign doku 2 katına varan bir artış gözlemlendi. Ki bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu (P<0.01).

Malign doku çinko sonuçları 3-13 µg/gr arasındaydı ve ortalama ; 5.7 µg/gr idi. Bu artışta istatistiksel olarak anlamlı bulundu (P<0.01) ve benign dokudaki bakır sonuçları yüzde dağılımı grafik 4'de gösterildi. Benign dokuların % 44'ünde bakır 42 µg/gr iken malign dokular %79'da bakır 75 µg/gr olarak bulundu. Malign ve benign dokudaki çinko sonuçlarının yüzde dağılımı grafik 5'de gösterildi. Benign dokuların % 55'inde çinko 39 µg/gr iken malign dokuların % 65'inde çinko 46 µg/gr ve %52 de 64 µg/gr olarak bulundu.

Benign ve malign dokulara ait bakır/çinko değerleri grafik 7'de gösterildi. Malign dokulardaki bakır/çinko

oranındaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Malign doku inorganik fosfor 920 $\mu\text{g}/\text{gr}$ bulundu ve benign doku ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi. ($P < 0.01$) Malign dokuda Magnezyum 138.7 $\mu\text{g}/\text{gr}$ idi ve benign dokuya göre istatistiksel olarak anlamlı artış saptandı. ($P < 0.01$) Malign dokuda çalışılan son temel element kalsiyum 105.7 $\mu\text{g}/\text{gr}$ idi ve benign dokuya göre gözlenen artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Malign tümör olan 9 hastada hem serum hem dokuda bakır, çinko, fosfor, kalsiyum, magnezyum çalışıldı. Bu hastalarda doku ve serum sonuçları korelasyonu araştırıldığında serum bakır ile serum çinko arasında ters bir ilişki (%99'luk $r = -0.814$). Serum bakır ile doku fosfor arasında doğru bir ilişki (%99'luk $r = 0.719$) saptandı. Bu hastalara ait sonuçlar tablo 7'de gösterildi.

No:	Yaş Adı Soyadı	BAKIR-Cu		ÇİNKO-Zn	
		Kit % µg	AAS % µg	Kit % µg	AAS % µg
1	18 E.A	117	125	96	100
2	26 Y.O	161	155	122	125
3	24 K.Y	122	118	91	100
4	18 T.T	120	110	122	130
5	17 C.K	128	134	136	150
6	18 G.A	126	118	117	122
7	18 E.E	130	140	138	140
8	20 T.T	104	105	157	140
9	17 F.B	126	132	115	122
10	19 H.K	98	102	120	122
11	17 G.T	136	140	121	115
12	18 K.T	160	150	105	112
13	17 Ö.D	130	128	86	83
14	31 M.Ö	136	128	139	135
15	30 A.Ö	83	87	105	112
16	38 N.B	165	160	114	122
17	17 Z.B	128	120	80	85
18	42 İ.Ö	161	150	116	122
19	46 H.T	136	125	120	113
20	50 S.Ş	139	145	100	112
21	25 E.Y	125	120	115	110
ort.25.43 SEM(±) 2.23		130.05 fark 128.19 ± 4.51 ∅ ± 4.05		115.0 fark 117.71 ± 4.06 ∅ ± 3.69	

TABLO 1: Kontrol grubuna ait spektrofotometrik ve Atomik Absorbsiyon ile elde edilen bakır ve çinko sonuçlarının karşılaştırılması.

Serum Parametreleri	n	Mean	SEM \pm	Minimum	Maximum
Seruloplasmin % mg	21	32.95	1.64	22	45
Bakır % μ g	21	130.05	4.51	83	165
Çinko % μ g	21	115	4.06	80	157
Kalsiyum % mg	21	9.067	0.113	8.1	9.9
Magnezyum %mg	21	2.89	0.063	2.2	3.6
Inorg. Fosfor % mg	21	3.104	0.093	2.5	4.0
LDH U/L	21	307.3	10.3	249	413
ALP U/L	21	180.8	10.2	110	264
SGOT U/L	21	26.81	1.46	9	36
SGPT U/L	21	19.14	1.56	10	34
UA % mg	21	4.85	0.230	2.85	6.84
Bakır/Çinko	21	1.161	0.057	0.66	1.6

TABLO 2: Kontrol grubuna ait biokimyasal parametrelerin istatistiksel sonuçları.

Parametreler serum	n	Mean	SEM \bar{x}	Min.	Max.	P degeri
Seruloplasmin % mg	17	35.24	3.42	10	58	Anlamsız
Bakır % μ g	17	131.65	7.02	77	200	Anlamsız
Çinko % μ g	17	109.94	6.42	66	164	Anlamsız
Bakır/Çinko	17	1.258	0.092	0.67	1.9	Anlamsız
Kalsiyum % mg	20	8.85	0.144	7.7	10	Anlamsız
Magnezyum % mg	17	2.96	0.145	2.5	4.7	Anlamsız
Inorg. Fosfor % mg	17	4.13	0.166	3.1	5.7	<0.00
LDH Ü/L	10	341.6	32.6	250	537	Anlamsız
ALP Ü/L	17	158.6	14.9	7.7	261	Anlamsız
SGOT Ü/L	16	24	1.71	12	42	Anlamsız
SGPT Ü/L	16	19.62	1.93	13	44	Anlamsız
Ürik Asit % mg	13	4.01	0.289	2.06	5.86	Anlamsız

TABLO 3: Benign meme tümörü olan hastaların serumlarındaki biokimyasal parametrelerin kontrol ile kıyaslamalı istatistiksel sonuçları.

Parametreler serum	n	Mean	SEM±	Min.	Max.	P
Seruloplasmin % mg	34	53.71	2.52	30	96	<0.000
Bakır % µg	37	201.22	8.71	132	328	<0.000
Çinko % µg	36	88.56	3.49	46	121	<0.000
Bakır/Çinko	33	2.394	0.17	1.3	6.4	<0.000
Kalsiyum % mg	39	8.664	0.101	6.9	9.8	<0.05
Magnezyum % mg	40	2.982	0.112	1.5	4.7	Anlamsız
Inorg. Fosfor % mg	39	4.108	0.166	1.6	6.4	<0.000
LDH U/L	27	404	18.1	241	595	<0.000
ALP U/L	37	206.2	14.8	54	447	Anlamsız*
SGOT U/L	36	28.86	1.78	15	69	Anlamsız
SGPT U/L	36	26.5	2.51	10	86	<0.05
Ürik Asit % mg	38	4.044	0.195	2.16	7.56	<0.01

TABLO 4: Malign meme tümörü olan hastaların serumlarında biokimyasal parametrelerin kontrol ile kıyaslamalı istatistiksel sonuçları

*= ALP düzeyleri benign grup ile karşılaştırıldığında anlamlı yüksek bulundu (P<0.01).

PARAMETRELER Yaş Doku	n	Mean	SEM \bar{x}	Minimum	Maximum
Bakır $\mu\text{g}/\text{gr}$	16	47.92	2.6	22	62
Çinko $\mu\text{g}/\text{gr}$	20	3.64	0.338	1	5.7
Bakır/Çinko	14	12.29	1.093	7.36	20 ?
Inorganik Fosfor $\mu\text{g}/\text{gr}$	18	640	50	340	1190
Magnezyum $\mu\text{g}/\text{gr}$	16	138.7	26.1	30	460
Kalsiyum $\mu\text{g}/\text{gr}$	16	91.2	12.4	10	200

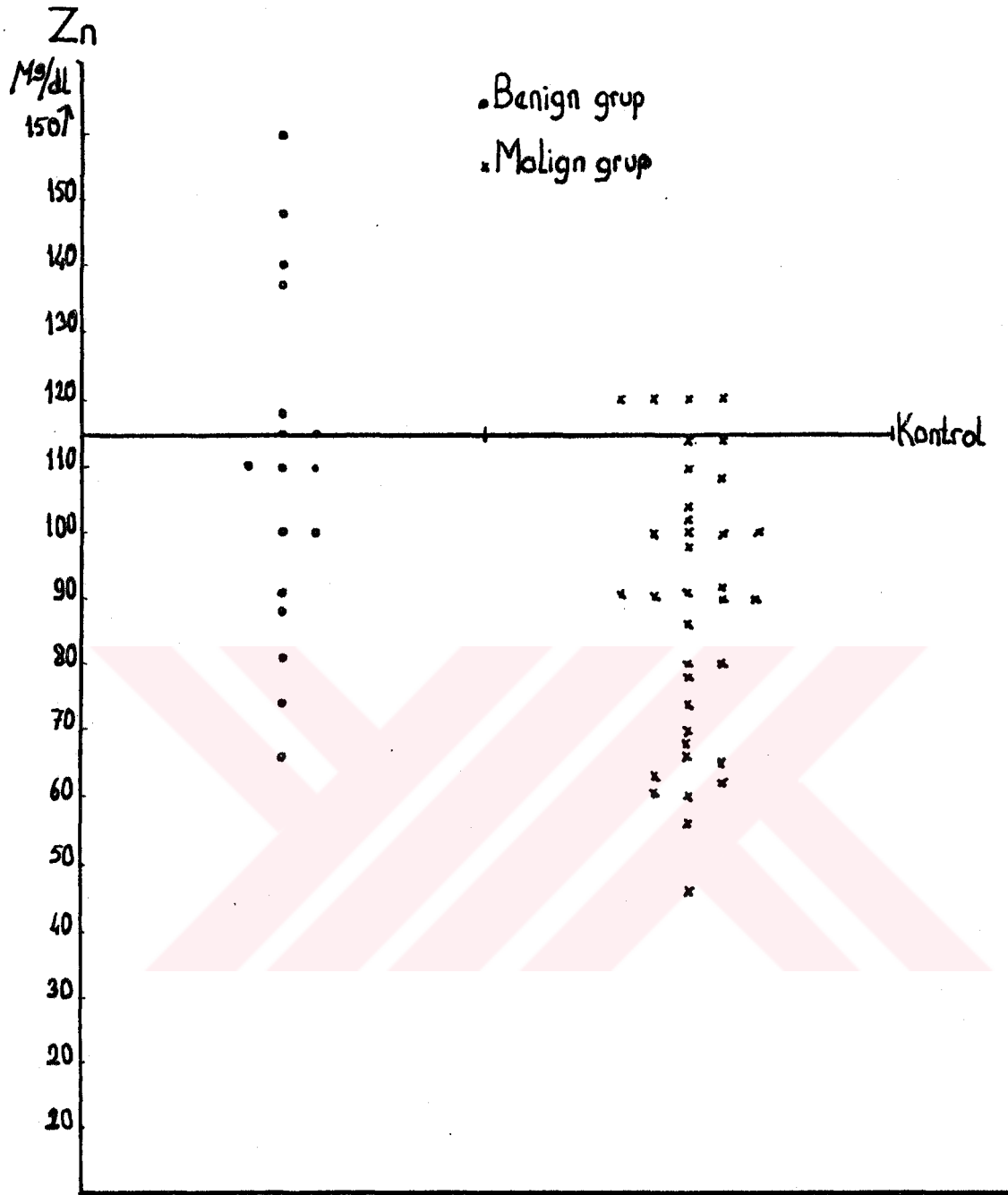
TABLO 5: Benign meme tümörü dokusuna ait sonuçların istatistiksel değerlendirilmesi.

PARAMETRELER Yaş Doku	n	Mean	SEM 7	Min	Max	P
Bakır µg/gr	24	74.8	3.04	50	112.5	<0.01
Çinko µg/gr	23	5.7	0.46	3	13	<0.01
Bakır/Çinko	20	14.53	1.36	6.15	34.09	Anlamsız
Inorganik Fosfor µg/gr	25	920	71	440	1850	<0.01
Magnezyum µg/gr	25	229.2	22.9	80	480	<0.01
Kalsiyum µg/gr	23	105.7	19.8	50	510	Anlamsız

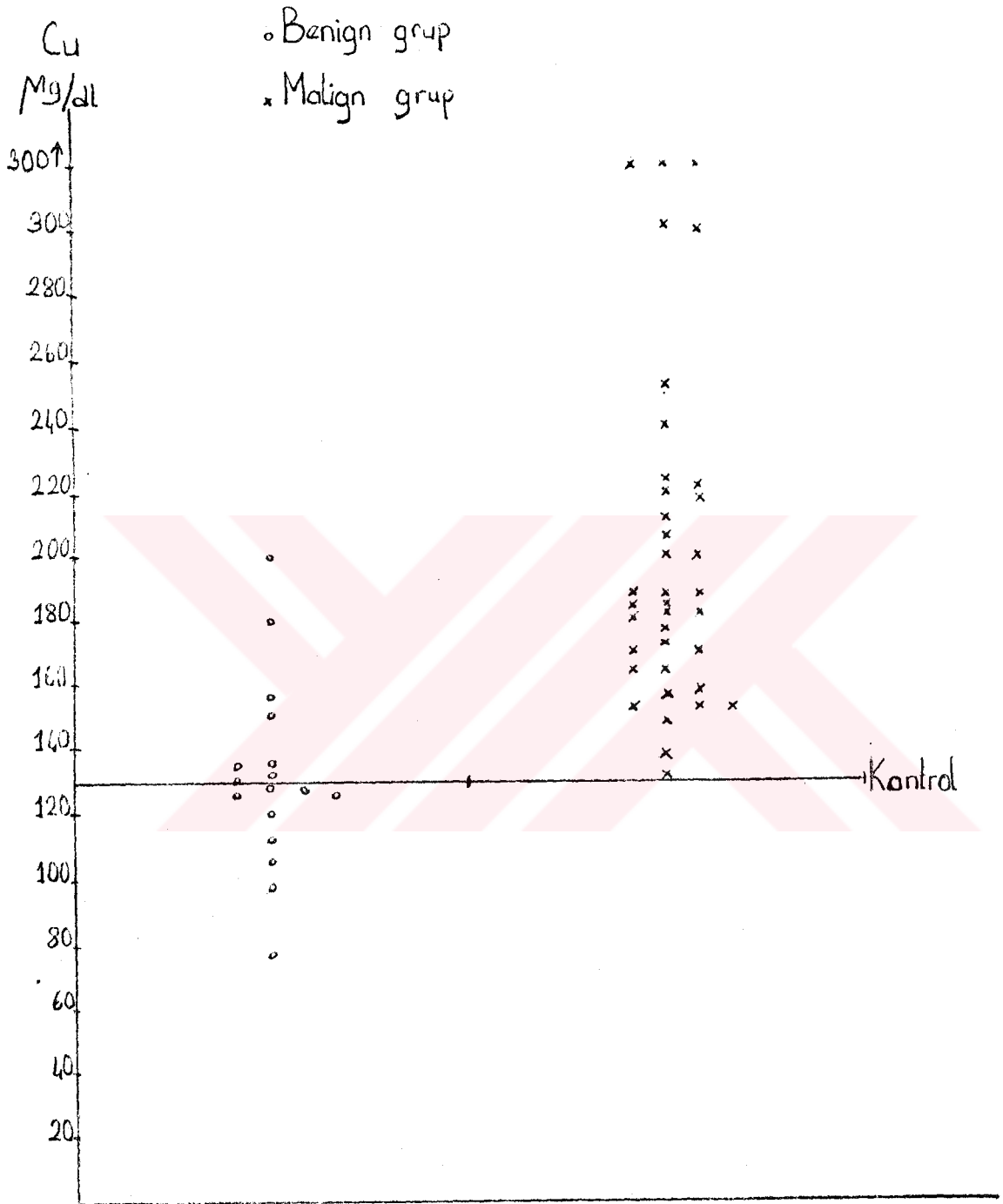
TABLO 6: Malign meme tümörü dokusuna ait sonuçların benign doku ile kıyaslamalı istatistiksel değerlendirilmesi.

	Mean	SEM \bar{x}	Min.	Max
Serum				
% μ g Cu	216.9	17.9	152	314
% μ g Zn	89.12	8.3	46	114
% mg P	3b56	0.34	2.5	6.0
% mg Ca	8.0	0.43	5.0	9.1
% mg Mg	2.97	0.17	2.3	3.8
Doku				
μ g/gr Cu	78.2	3.36	60	88.8
μ g/gr Zn	6.2	0.36	3.7	7.2
μ g/gr P	872	116	590	1650
μ g/gr Ca	78.57	5.95	50	100
μ g/gr Mg	250	56.2	80	480

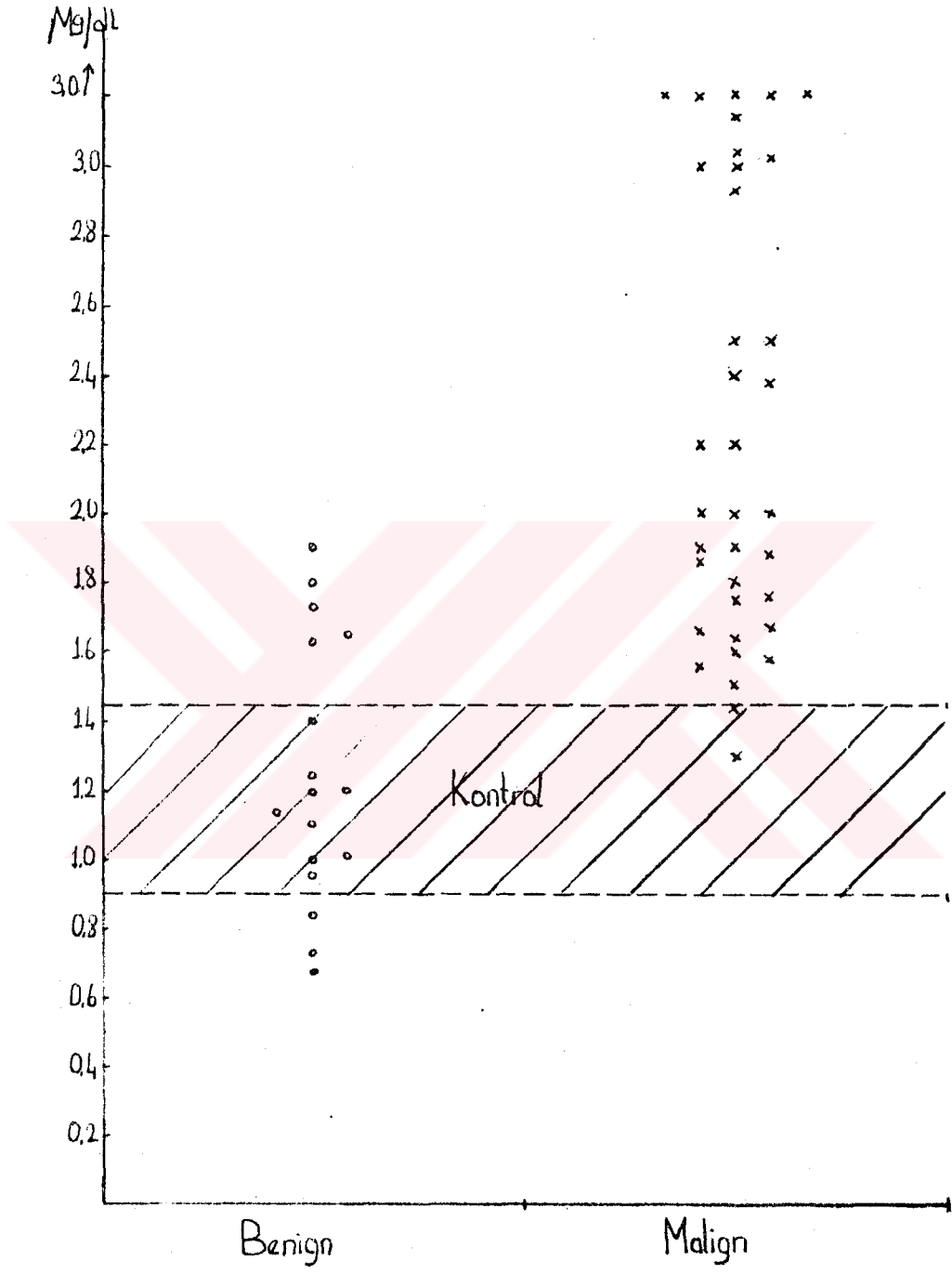
TABLO VII : Aynı hastalara ait serum ve doku sonuçlarının istatistiksel değerlendirilmesi



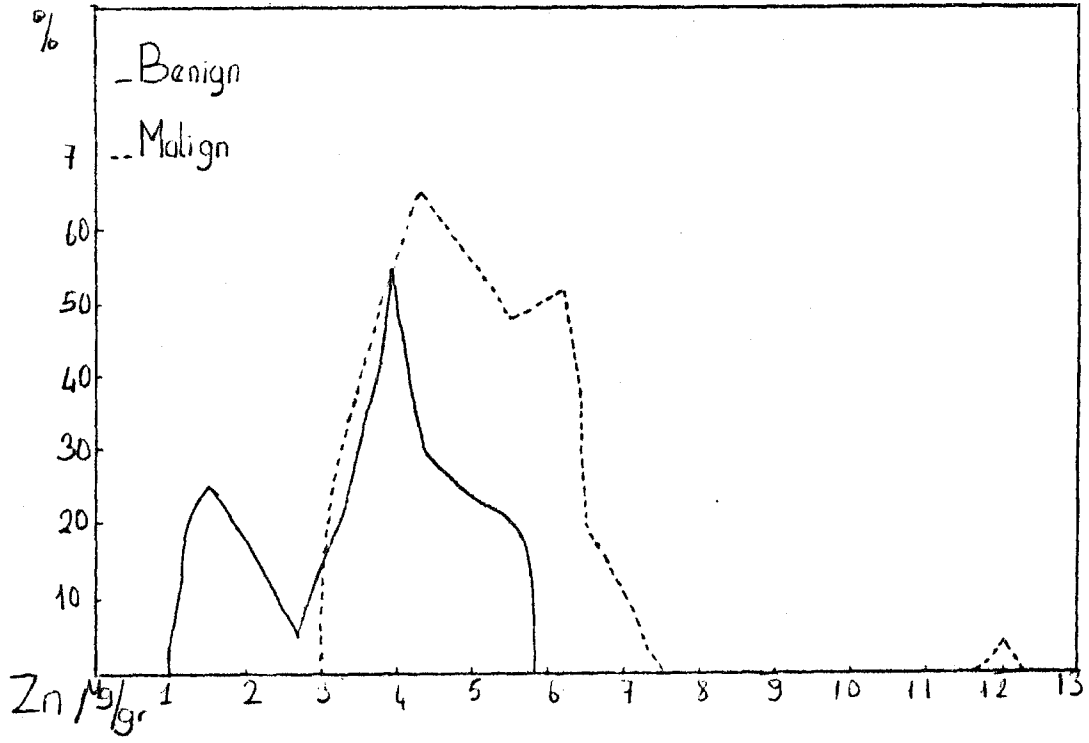
Grafik 1-Malign ve benign meme tümörü olan hastaların serumlarında Çinko değerleri.



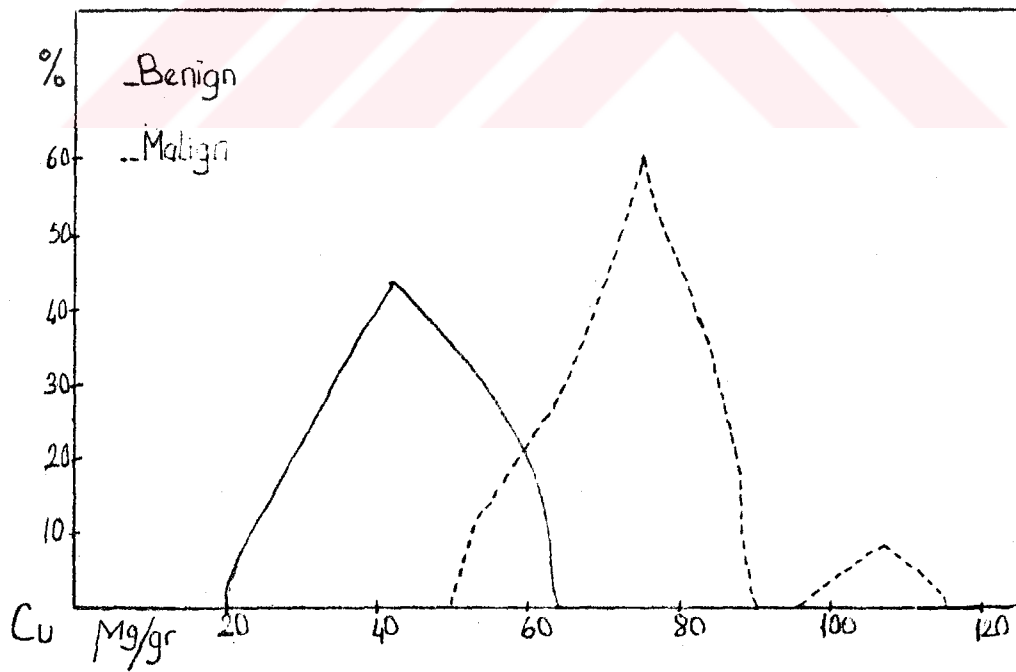
Grafik 2- Malign ve benign meme t nd r  olan hastaların serumlarında Bakır değerleri.



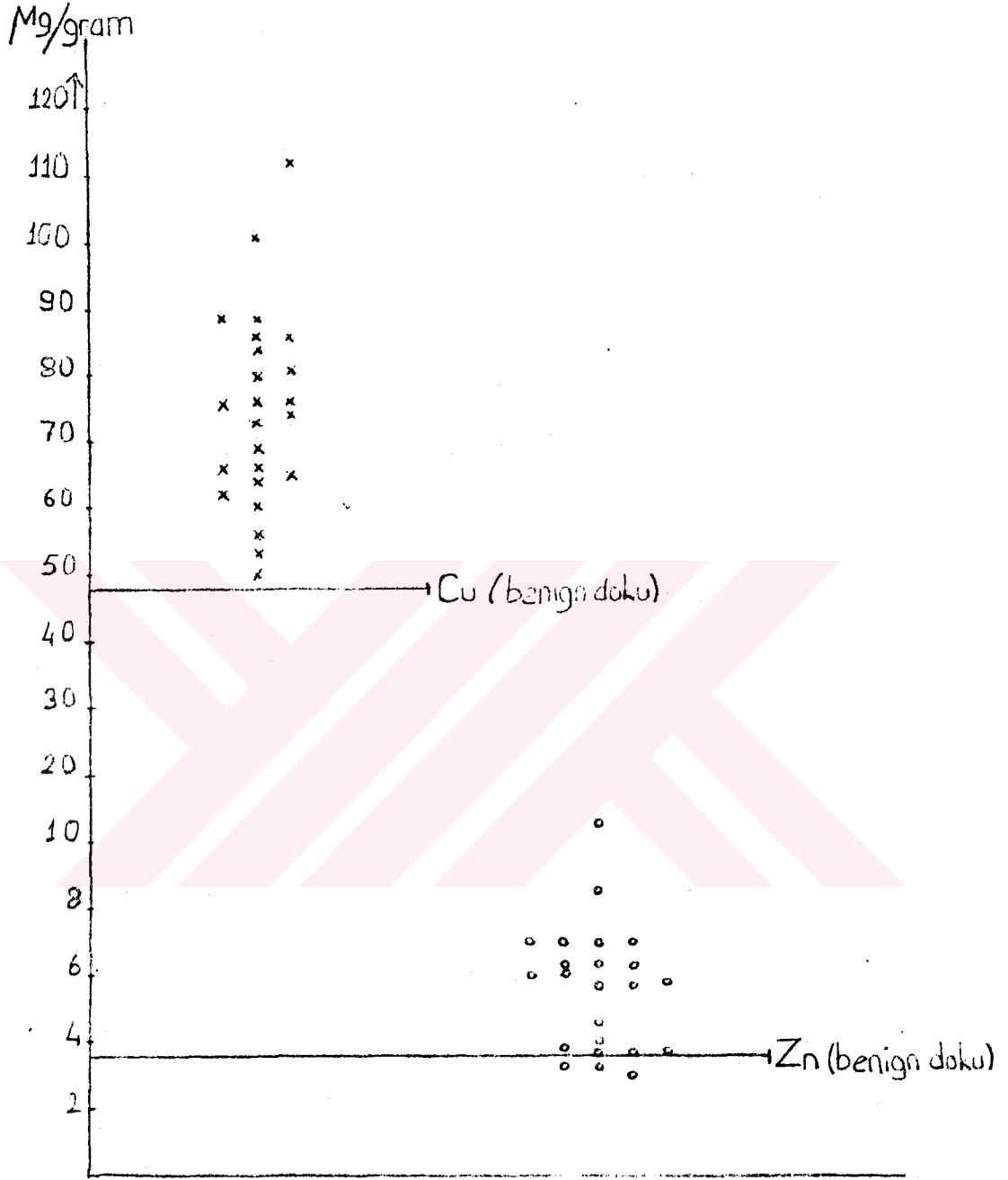
Grafik 3-Benign ve malign meme tümörü olan hastaların serumlarında Cu/Zn değerleri.



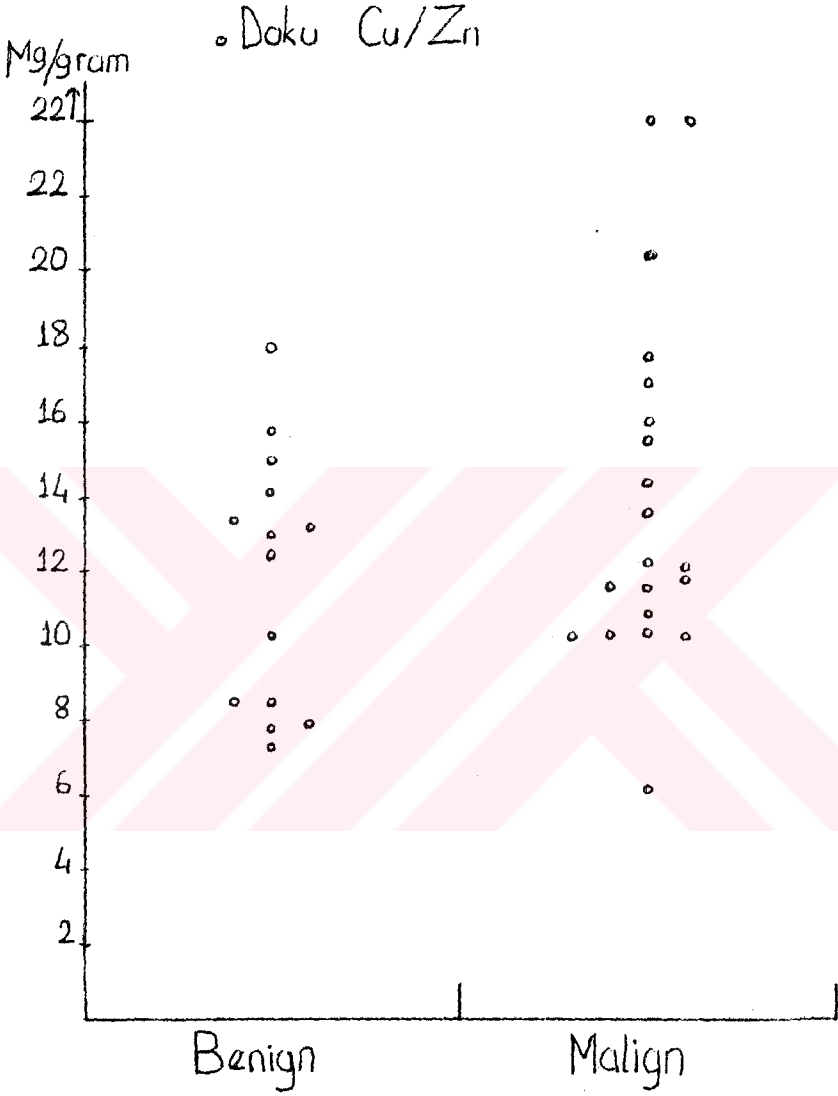
Grafik 4-Malign ve benign meme tümör dokularında Zn değerlerinin yüzde grafiği.



Grafik 5-Malign ve benign meme tümör dokularında Cu değerlerinin yüzde grafiği.



Grafik 6-Benign ve malign meme tümörü dokularına ait Bakır ve Çinko sonuçları.



Grafik 7-Benign ve malign meme tümör dokularında Cu/Zn oranı.

TARTIŞMA

Malign tümörlü olgularda iz ve temel elementlerin özellikle çinko ve bakır'ın düzey değişimleriyle ilgili tamamlanmış veya yürütülmekte olan pekçok güncel çalışma mevcuttur (77,17,50,68,69,13,19,43,51,71,32,14,80,49,40,29,34,33,20,24). Biz çalışmamızda insidansı yüksek bir kanser türü olan meme kanserlerinde öncelikle iz elementlerden bakır ve çinko ile kalsiyum, magnezyum, inorganik fosfor gibi temel elementleri ve bunlarla paralel kanser olaylarında değişiklik gösterebilecek bazı önemli enzimleri incelemeyi planladık.

Amacımıza uygun birinci aşamada gerek serum gerekse dokularda iz element analizleri açısından güvenli sonuçlar verebilecek ve aynı zamanda pratik değeri olan yöntemleri seçme yoluna gittik.Günümüzde serumda bakır tayini için ençok kullanılan yöntemler Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi ve kolorimetrik olanlardır.Keza çinko tayini içinde Atomik Absorbsiyon Spektrofotometrik, kolorimetrik, Anodik stripping voltametri,Nötron aktivasyon analizi, emisyon spektroskopisi gibi pekçok yöntem mevcuttur. Bu yöntemlerin birbirlerine üstünlükleri hala oldukça tartışmalıdır.Çalışmamızda Atomik Absorbsiyon Spektrofotometrik ve kolorimetrik yöntemleri birbirleriyle kıyaslamak ve sonuçlarımızın güvenilirliğini ortaya koymak amacıyla kontrol grubuna ait serum örneklerinde bu iki yöntem ile ayrı ayrı bakır ve çinko düzeylerini tayin ettik.

Her 2 yöntemde de sonuçların sağlıklılığı açısından

örnek toplama aşamasının en önemli basamağı oluşturduğu gözlenmiştir. Özellikle iz element tayinlerinde en başta gelen hata kaynağının kontaminasyon olduğunu söyleyebiliriz. Bunu önlemek için kan örneklerinin alındığı ve serumların muhafaza edildiği tüpler yanısıra analiz esnasında kullanılan cam malzemelerinde % 5'lik HNO_3 solüsyonu ile yıkanıp distileden geçirilmesi gerekmektedir. Vurgulanması gereken diğer bir nokta örneklerin hemolizden korunmasıdır. Hemoliz eritrositlerde de bolca bulunan çinkonun ekstrasellulere sızmasına ve düzeyinin artmasına yol açmaktadır. Kan örneği alındıktan sonra fazla bekletmeden ve hemolize meydan vermeyecek şekilde serumu ayrılmalı ve derhal çalışılmalıdır. Koşullar elvermiyor ise numuneler deep freeze muhafaza edilmelidir. Atomik Absorbsiyon Spektrofotometre ile çalışmada aynı gün içinde hazırlanan standartlarla serum örneklerini ardı ardına okunması ve çizilen standart eğriden sonuçların değerlendirilmesi daha doğru ve uygun olmaktadır. Hergün standartlar ile çizilen grafiklerin yenilenmesi gerekliliği zaman kaybına yol açtığından serumları biriktirip çalışmanın daha verimli olduğu anlaşılmıştır. Burada dezavantaj uzun süre oda ısısında, hatta +4 C de bekletmenin bile sonuçları etkileyebilmesidir. Kolorimetrik yöntemlerde biriktirme ile ilgili olarak sorun yoktur. Örnek alınır alınmaz başka örnekler beklenmeden pratik olarak derhal çalışmak mümkün olabilir. Bu neden ile kolorimetrik yöntemlerin Atomik Absorbsiyon Spektrofotometriye olan en

büyük üstünlükleri çalışma süresinin kısalığıdır diyebiliriz. Kolorimetrik yöntemlerin rutin laboratuvarlar için diğer bir avantajı organik solvent veya toksik reaktifler ile çalışmayı gerektirmemeleridir. Bizim kontrol grubumuzda gerek Atomik absorpsiyon spektrofotometre gerek kolorimetrik yöntemler ile elde ettiğimiz sonuçların kıyaslanması istatistiksel olarak anlamlı bir fark ortaya koymadığı için (Tablo 1) ve yukarıda tartışılan avantajlarından ötürü çalışmamızın bundan sonraki bölümünde kolorimetrik yöntemleri tercih etmemize neden olmuştur.

İz element analizleri için çalışma koşullarımıza uygun yöntemleri belirledikten sonra ikinci aşamada benign ve malign meme tümörü düşünülen olguların kan örneklerinde üzerinde durulan bakır ve çinko yanısıra kalsiyum, magnezyum, inorganik fosfor gibi temel elementleri ve ayrıca tümöral tanı açısından değer taşıyabilecek enzimleri çalıştık.

Malign hastalarda serumda iz element düzeyleri ile ilgili çalışma sonuçları özellikle çinko ve bakırda anlamlı değişiklikler olduğunu göstermektedir. Bakır açısından ortaya çıkan değişiklik bizim çalışmamızda belirlendiği gibi kanserli hastaların serumlarında saptanan istatistiksel anlamlı artıştır (13,43,51,71,32,28,14,80,49,40,34,33,68,19,20,24,2). Çalışmamızda benign tümörlü grup ile kontrol grubu serum bakır düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunmamasına karşın malign tümörlü grubun serum bakır düzeyleri kontrol grubu ve benign tümörlü grubun sonuçları ile kıyaslandığında

anlamli olarak yu'kse'k bulunmu'stur ($P < 0.01$).

Malignitelerde hiperkupreminin nedenleri u'zerinde tam bir go'ru's birligi olmamakla beraber pekco'k ara'stirici tarafindan kabul edilen bazı teoriler mevcuttur. En yaygin du'su'nceye go're; kanserlilerde olaya yanit olarak akut faz reaktantlarından bakir i'çeren bir protein olan seruloplasminin karaciğer tarafından u'retiminde bir artişın, buna karşın t'um'ore bağlı u'yarılma ile aynı proteinin katabolizmasında bir azalmanın ortaya cıkması sonucu hiperkupreminin gelişmesidir. Seruloplasmin katabolizmasındaki azalma bu proteinin resialilasyonuna bağlı olabilir. Bu sav ile bağlantılı yapılan çalışmalar kanserli hastaların serumlarında seruloplasmin d'uzeyinin normal kişilerin serumlarından anlamli olarak yu'kse'k olduğunu ortaya koymu'stur (71,49,19). Biz de DeJorge ve arkadaşlarının (19) çalışmaları ile uyumlu meme kanserli hastaların serumlarında seruloplasmin d'uzeyinin normal ve benign t'um'örlü gruba oranla anlamli olarak yu'kse'k bulduk ($P < 0.01$).

Malignitelerde bakir yu'kse'kliği ile ilgili diğer bazı önemli go'ru'slerde doku çalışmalarının g'undeme gelmesiyle ortaya atılmıştır. Bakirin hucre d'uzeyindeki etkileri daha iyi anlaşılmaya başlanmış ve bu iz elementin fazlalığının kanserojen etkisi olan OH radikallerinin artişına yol açtığı kanıtlanmıştır(54,36).Doğal olarak doku d'uzey değişikliklerinin en fazla oranda yansıdığı bir ortam olan serum ile ilgili yapılacak inceleme ve yorumların dokudan bağımsız ele

alınmaması gerektiği görüşündeyiz. Hiperkupremi doku bakır değişiklikleri ile birlikte tartışılırsa daha fazla anlamlı olacaktır.

Malign hastalıklarında diğer önemli bir iz element değişikliği serum çinkosunda saptanan düşüklüktür (43,28,40, 34,33,68,2,20,24). Bizim çalışmamızda da malign tümörlü grupta serum çinkosu, normal ve benign tümörlü grup ile kıyaslandığında anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($P < 0.01$). Buna karşın benign tümörlü grup ile kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunamamıştır. Kanserde çinko düşüklüğünün bir neden mi yoksa bir sonuç mu olduğu tartışmalıdır. Epidemiyolojik çalışmalarda diyet çinko yetmezliğinin bazı malignitelerin insidansında artmaya neden olduğunun gösterilmesi (6), hipozinkeminin bir neden olduğunu düşündürürken; tümöral olaylarda makrofaj ve granülositler tarafından salınan LEM'in etkisi ile çinkonun hepatositlere göçünün kanıtlanması ise çinko düşüklüğünün bir sonuç olduğunu telkin etmektedir. LEM'in bir başka etkisi ise çinko göçü ile bağlantılı karaciğer hepatositlerinde akut faz proteinleri ve özellikle daha önce tartışılan seruloplasmin sentezinde ve kana salınmasında artışa neden olmasıdır(11,53) Bilindiği gibi çinko 200'den fazla enzimin yapısında yer alır ve DNA-RNA formasyonunda önemli görevlere sahiptir, bu yüzden serum çinko değişikliklerini doku çinko değişiklikleri ile birlikte değerlendirmenin daha iyi bir yaklaşım olacağı inancındayız.

Malign hastalıklarda serum bakır ve çinko düzeylerindeki değişikliklerden daha da değerli olan indeks bakır/çinko oranıdır. Bu orandaki artış normal grub ve benign meme tümör grubunun kıyaslanmasında anlamlı olmamasına karşın malign grubun gerek normal ve gerekse benign meme tümör grubu ile kıyaslanmasında istatistiksel anlamlı bir artış şeklinde ortaya çıkmamıştır. ($P < 0.01$). Fisher ve arkadaşları (24) sarkomalı hastalarda, Delves ve arkadaşları (20) ile Alexander ve arkadaşları (2) akut lösemilerde, Inutsuka ve arkadaşları (33) sindirim sistemi kanserlerinde, Lightman ve arkadaşları (43) over kanserlerinde yaptıkları çalışmalarda bakır/çinko indeksinin stage tayininde, prognoz ve tedavinin takibinde spesifik bir gösterge olabileceğini ortaya koymuşlardır. Güncel çalışmalarda malignitelerde bakır/çinko oranının tedaviye cevap veren olgularda düştüğü (20,24) ve metastazlı durumlarda ise bu oranın artış derecesi ile prognozun kötüleşmesi arasında bir korelasyon olduğu vurgulanmıştır. İleriye dönük tanı yanısıra prognoz ve tedavinin takibinde de bakır/çinko oranı spesifik bir değer kazanır. Ayırıcı tanı açısından da bu oran sadece hiperkupremi veya sadece hipozinkemi ile seyreden kronik inflamatuvar hastalıklar, karaciğer hastalıkları, gebelik ve diğer bazı durumların kanserden ayrılmasını sağlamaktadır. Bu oran tanı, prognoz ve tedavinin takibinde pratik, güvenilir ve ekonomik bir marker olarak değerlendirilmelidir. Biz çalışmamızda bakır / çinko oranından sadece tanıda yararlanabildik, olguları

stajelerine göre sınıflama olanağı bulamayışımızdan ve tedaviden sonra olguları takip etme şansımız olmadığından prognoz ve tedavinin takibinde bakır / çinko indeksinden yararlanamadık.

Bulgularımızı temel elementler açısından tartışacak olursak; çalışmamızda Sullivan'ın (77) sonuçları ile uyumlu malign hastalarda serum magnezyumunu normal sınırlar içinde bulduk. Serum kalsiyumu ise malign tümörlü grubun kontrol ile kıyaslanması sonunda %95 anlamlı düşük bulundu($p < 0.05$). Sullivan ve arkadaşları da serum kalsiyumunda malignitelere anlamlı olmayan bir düşüştü söz etmektedirler(77). Heath'e göre (31) serum kalsiyum düzeyindeki bu azalma yanıtıcı bir bulgudur. Maligniteli olgularda Heath serum albumin düzeyindeki belirgin düşüğe bağlı olarak total kalsiyum düzeyinin göreceli düşüklüğünden söz etmektedir. Heath'ın düşüncesi serum kalsiyum düzeyinin serum total protein ve albumin düzeyi ile birlikte değerlendirilmesinin uygun olacağı şeklindedir. Biz de çalışmamızda Benign tümörlü grupta serum total proteini % 7.3 gr, albumin %4.66 gr. bulurken malign tümörlü grupta anlamlı olmayan bir düşüklükle total proteini % 7.0 gr, albumini %4.49 gr. olarak bulduk. Malignitelilerde kalsiyum açısından ilginç bir nokta da kalsiyum ve çinko arasındaki korelasyondur. Çalışmamızda malign tümörlü grupta çinko ve kalsiyum arasında %95'lik pozitif korelasyon gözledik. Normal olgu serisinde çalışılan bu korelasyondan Abufarsakh gibi (1) araştırmacılar da söz

etmektedir.

Biz kalsiyum düşüklüğüne karşın fosforda zıt yönde bir artış saptadık. Bu konuda çalışan DeJorge gibi araştırmacılar(19) ise fosforun normal sınırlar içinde kaldığını belirtmektedir.

Temel ve iz elementlerden sonra malign hastalıklarda serum enzim değişikliklerini kısaca tartışacak olursak; çalışmamızda malign meme tümörlü ancak metastaz olmayan olgularda ALP düzeylerinde anlamlı olmayan bir artış bulunmasına karşın lenfadenopati şeklinde metastaz saptanan olguların ALP düzeylerinde kontrole oranla istatistiksel anlamlı artış bulduk. Cowen ve arkadaşları da (17) sadece ALP'da değil yanısıra GT.de artan aktivitenin metastaz delili olduğuna işaret etmişlerdir. Gene malign grupta LDH aktivitesindeki anlamlı artış Giamoulshi gibi araştırmacıların elde ettiği sonuçlara uygundur(25). Bu araştırmacılar doku tarafından bu dokuya özgün bir LDH izoenzimini salgıladığını ve bunun total LDH aktivitesini etkilediğini ileri sürmektedir. Ne yazık ki enzimatik değişiklikler kanser tanısında hiçbir zaman önemli bir gösterge değildir.

Çalışmamızda gözlediğimiz ilginç bir nokta serum ürik asid düzeyinin malign meme tümörlü olgularda benign ve kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı olarak düşük bulunmasıdır ($P < 0.01$). Özellikle hematolojik malignitelerde ve kemoterapi olan diğer kanserli hastalarda gözlenen ürik asid düzeyinde artmadır. Bu artış nükleik asit metabolizması

ve protein yıkımındaki artış ile açıklanmaktadır. Bizim çalışmamızda gözlediğimiz düşmenin nedenlerinden birisi hastalarımızın serumlarının tanı konulur konulmaz alınmış olması ve hiçbirine henüz tedavi uygulanmamış olmasıdır. Ayrıca bilindiği gibi (76) ürat, askorbat kadar etkili bir antioksidantdır. İnsanda ürat düzeyi artışının kanser insidansında düşmeyi sağlayacağı söylenebilir. Bu şekilde malign tümörlü hastalarımızda ürat düşüklüğünün kanserden korunmada yetersiz kaldığını öne sürebiliriz.

Serumdan sonra doku çalışması aşamasında elde ettiğimiz sonuçları tartışacak olursak ; öncelikle deneyimlerimiz serum için uygulanan kolorimetrik yöntemlerin doku ortamında güvenli sonuçlar verebilmeleri için bunlarda bir takım modifikasyonlar yapılması gerekliliğini ortaya koymuştur.

Gerek benign gerek malign dokuda çinko ve bakır çalışmalarında birinci aşama uygun bir doku özütleme yönteminin geliştirilmesi olmuştur. Bunun için iki ayrı ekstraksiyon tekniği denenmiştir; biri mekanik temele dayalı ekstraksiyon, diğeri kimyasal reaktiflerden yararlanılarak yapılan ekstraksiyondur. Her iki ekstrattan çinko ve bakır çalışıldığında sonuçların uygun olduğu görülmüştür. Ancak tercihimiz kimyasal reaktiflere dayalı ekstraksiyondan yana olmuştur. Çünkü mekanik ekstraksiyonun dezavantajı kontaminasyona daha müsait olmasıdır. Buna karşın $HClO_4$ / HNO_3 karışımından yararlanılarak yapılan kimyasal ekstraksiyonda

özenli koşullarda çalışıldığında kontaminasyon oranının düşük olduğu dikkati çekmiştir.

Kimyasal reaktiflerle yapılan ekstraksiyon sürecinde kontaminasyonun bir dereceye kadar ortadan kaldırılması başarılmakla beraber su sorun doku örneklerinin laboratuara nakli esnasında gene karşımıza çıkmıştır. Tüm çabalara rağmen doku örneği alınması esnasında, patoloji laboratuvarında dokuların ayrılması, kesitlerin hazırlanması sırasında kontaminasyon engellenemediği için uygun olmayan sonuçlar gene de ortaya çıkmış ve bu doku örnekleri maalesef çalışma kapsamına alınamamıştır.

Kimyasal ekstraksiyonda dikkati çeken ayrı bir nokta benign dokulara oranla malign dokularda enkübasyon süresinin daha uzun tutulması gerekliliğidir. Benign dokular için 72 saatlik bir enkübasyon süreci yeterli olurken malign dokularda bu süreç başarılı bir ekstraksiyon için yeterli olmamıştır. Özellikle ilerlemiş malignitelere (st.4) 72 saat gibi bir sürenin sonunda bile başarılı bir ekstraksiyon oluşmadığı dikkati çekmiştir. Başarısızlığın temel nedeni meme dokusunda gelişen tümörlerin skuamoz karakterde olması, fibroz dokudan zengin olan bu tip kanserli dokunun kolaylıkla özütlenemeyişidir. $HClO_4$ / HNO_3 ile enkübasyon süresini ortalama 72 saatin iki misline çıkardığımızda ekstraksiyon veriminin arttığı gözlenmiştir. Genellikle 72x2 saatlik bir süreç yeterli olmakla beraber dört olguda ekstraksiyon ancak 15 gün gibi uzun bir süreç sonunda

metabolik olayların tümü büyük ölçüde değişeceğine göre lokalize olduğu odaklar dışında da patolojik olayın etkisiyle miktar doğru olabilir. Ancak kanserli organizmada kanserin ortadan kaldırıldıklarını savunmaktadır. Bu düşünce belki bir ile diet, yaş, genetik ve çevre faktörlerinin etkilerinin önemli kısımları gösterdiği için bu tarz çalışmaları araştırmacılar sağlıklı dokularda eser element seviyelerinin yapmışlardır. Böyle kıyaslamalar Japan Tipton gibi(68) yanısıra normal doku örneği olarak kıyaslamalarını bu yönde araştırmacılar ise aynı kanserli olgudan kanserli doku dokuları benign doku örnekleriyle kıyaslayabildik. Bazı Schwartz ve arkadaşları (69)'ndan farklı olarak sadece malign Santoligudo ve arkadaşları(68) Margalioth ve arkadaşları(50) kontrol grubu teskil edemedik. Bundan ötürü de biz mümkün olmadıkları için çalışmamızda sağlıklı dokulardan oluşmuş bir sağlıklı kısımları dokularından biopsi ile örnek almak sayısının azalmasına neden olmuştur.

küçük ve lokal kaldığı durumlarda bu tür sorunlar olgu olmamıştır. Özellikle fibroadenom gibi tümör alanının çok küçük örneklerde tüm parametreleri saptamak mümkün küçük doku örnekleri ile çalışmanın yarattığı zorluktur. Çok Çalışma sırasında beliren diğer bir sorun bazen çok nedeniyle bu konuda bilgi elde edemedik.

bahsedilmemiştir. Bu yayınların tartışmalarının kısa olması araştırmada ekstraksiyon sürecinde değişikliklerden basarılabilmektedir. Yaptığımız tümör doku ile ilgili

sağlıklı bir kimsenin doku örneği ile kanserli bir olgunun normal kalmış dokularının bile kimyasal kompozisyonlarının denk olabileceklerini varsaymak kanımızca hatalı olmaktadır.

Dokuda element tayini ile ilgili yöntemleri yürürlüğe koyduktan sonra benign ve malign doku örneklerinde bakır, çinko, kalsiyum ve fosfor düzeyleri tayin edildi.

Benign ve malign doku ile ilgili element sonuçlarımızı literatür bulguları ile karşılaştırdığımızda bazen sınırları birbirinden farklı sonuçların mevcudiyeti dikkatimizi çekmiştir. Gözlenen bu büyük farklılıklar ve geniş dağılımın nedeni meme dokusunun strüktürel özelliği olabilir. Oldukça yağlı bir doku olan meme dokusundan yağların temizlenmesi güç bir işlem olup hata kaynağı teşkil edebilir. Bunun yanısıra dokuların malign değişikliğe uğramış ve normal bölümlerinin dikkatli bir şekilde ayrılmayışı, deep freeze de saklama olanağının her zaman bulunmuyışı, tartımdan doğabilecek hatalar, kontaminasyon riskinin yüksek oluşu, özütleme sırasında özellikle malign dokuların gösterdiği direnç, dokunun uzun sürede özütlenmesi yada hiç özütlenmeyışı gibi sorunlar doku çalışması sırasında karşılaşılan başlıca güçlükler olup sonuçların da hatalı olmasına neden olabilir. Tüm bu güçlükler ve meme dokusunun strüktürel özelliğini bir yana bırakarak kendi çalışmamız ve Santoliguido ve arkadaşları(68), Margalioth ve arkadaşları(50), Schwartz ve arkadaşları(69), Dejorge ve arkadaşları (19), sonuçlarını birlikte değerlendirecek olursak; dikkati çeken en önemli

sonuç; malign dokuda normal veya benign dokuya oranla bakır ve çinko içeriğindeki anlamlı artıştır. Bu değişimler gerek kanser tanısı gerekse kanser oluşumunun anlaşılması açısından önem taşırlar.

Tümörlü dokuda bakır ve çinkonun hatta fosfor ve magnezyumun artış mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Furst'a göre (50) metallerin lokal selüler konsantrasyonları çok yükselince karsinogenik olabilirler. Çünkü bu değişik metallere enzimlerin katalitik aktiviteleri için gerekli olan spesifik metallere enzimdeki bağlanma yeri için kompetisyona girer ve anormal polimerik nükleik asit sentezine neden olabilirler. Bu yüzden farklı dokuların kanserlerin de doku ortamında da farklı miktarlarda metal konsantrasyonları saptanmaktadır.

Çalışmamızda bakır değerleri benign dokuda 22-62 µg/gr ve malign dokuda 50-112.5 µg/gr. arasında bulunmuştur. Schwartz ve arkadaşları (69).Çalışmalarında benzer şekilde normal meme dokusunda Cu 30-170 µg/gr ve kanserli meme dokusunda 50-460 µg/gr oranında bulmuşlardır. Dokuda elde ettiğimiz bakır değerlerinin alt sınırları diğer araştırmacılarınkine uymakla birlikte örneğin Schwartz gibi araştırmacıların gerek kontrol ve gerekse malign gruba ait sonuçlarının çok daha geniş sınırlar içinde dağıldığı dikkati çekmektedir. Bu farklılıkları kontrol grubu açısından ele alırsak ; kullandığımız kontrol gruplarının özelliklerinin farklı olduğunu vurgulamak gerekir. Bu araştırmacılar

çalışmalarında kontrol grubu olarak malign meme tümörlü olgudan alınan normal meme dokusu materyalini kullanmıştır. Oysa biz benign meme tümörü dokusunu kontrol grubu olarak ele aldık. Malign dokuda histopatolojik değişiklikler normal dokuda görünmemekle beraber tümöral dokunun yakınındaki normal dokuda bile bazı metabolik değişiklikler olabileceği düşünülebilir. Malign grup açısından gözlediğimiz bu farklılığı tümörün stage veya malignitenin lokalize olduğu bölgenin doku konsantrasyonlarının farklı olabileceği şeklinde açıklayabiliriz.

Çalışmamızda üst sınırlarımız diğer araştırmacılarınkilere tam olarak uymamakla beraber bakır konsantrasyonunu malign dokuda benign dokuya oranla istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulduk. Mulay ve arkadaşları, Santoliguido ve arkadaşları (68) ile Schwartz ile arkadaşları (69) da malign meme dokusunda benzer artışlara dikkat çekmektedirler. Malign dokuda bakır artışının kansere yol açma nedenleri üzerine muhtelif mekanizmalar ortaya atılmıştır. (36,54); Kanserin muhtemel nedenleri olarak serbest radikal ve süperoksit radikal iyon üzerinde durmak gerekir. Laboratuvarlarda elde edilen sonuçlar bakırın iz düzeylerindeki değişikliklerin bile O² tarafından oluşturulan biyolojik hasarı dramatik bir şekilde arttırdığını göstermektedir. Intraselüller bakır düzeyinin artması ile enzimatik aktivasyon kayıpları, DNA'da tek ve çift halat kırılmaları, proteinlerin değişik

özelliklerinde farklılaşmalar ortaya çıkar. Bakırın iz düzeyde de olsa belli bir organda birikmesiyle yaptığı intrasellüler hasar sonucu kanseröz lezyonların oluşmasına yol açar(50).

Kanser oluşumu açısından bir başka açıklama ise süperoksit radikali veya askorbat gibi diğer redükleyici ajanların bakır kompleksini kupröz duruma indirgemeleri ve bu komplekslerin H_2O_2 ile reaksiyonlaşıp OH^{\cdot} radikalleri oluşturmaları ve sonuçta da oluşan OH^{\cdot} radikallerinin protein, RNA ve DNA hasarı yapmalarıdır. Bakır iyonlarının arttığı spesifik bir doku ortamında OH^{\cdot} radikallerinin tekrarlayan oluşumu bu mekanizmada etkin bir rol oynar. Radikaller sellüler DNA'da hücrel mekanizmalar tarafından tamir edilemeyecek çift halat kırılmalarına yol açarak malign olayı başlatırlar(50).

Yüksek bakır düzeylerinin kansere yol açtığını kanıtlamak amacıyla yapılan çalışmalarda diyetle bakır uygulamalarının deney hayvanlarında kanser oluşturduğu belirlenmiştir. Coates ve arkadaşlarının (13) yaptıkları çalışmada ise kanser tanısından birkaç yıl önce bakır düzeylerinin arttığı gösterilmiştir. Sonuç olarak bakır ile kanser oluşumu arasında simdilik tam açıklanamamakla beraber etkileşimlerin var olduğu kesindir.

Bakır yanısıra kanserli dokuda anlamlı olarak artış gösteren diğer bir iz element ise çinkodur. Çalışmamızda benign doku çinko düzeyleri 1-5.7 $\mu g/gr.$ arasında belirlenirken malign doku çinko düzeyleri ise 3-13 $\mu g/gr.$ arasında bulunmuştur. Schwartz ve arkadaşları (69) alt hudutta

bizimle uyumlu ancak daha yüksek değerlerden söz etmişlerdir. Üst hudutlar normal meme dokusunda 1.8-240 µg/gr. malign meme dokusunda 2.2-490 µg/gr. değerlerine yükselmektedir. Santoliguido ve arkadaşlarının (68) çalışmalarının sonuçları bizim çalışmalarımızla daha uyumlu olup normal dokuda 0.23-9.65 µg/gr ve malign dokuda 1.2-15.4 µg/gr. arasında değerler elde etmişlerdir. Sınırlarda gözlediğimiz bu farklılık belki bakırda da belirttiğimiz gibi kontrol grubumuzun farklılığından ve malign doku içinde stage ve lokalizasyon farklılığından kaynaklanabilir. Önemli olan her üç çalışmada da malign meme dokusu çinko içeriğinin normal veya benign meme dokusu ile kıyaslanmasında anlamlı olarak yüksek bulunmasıdır.

Tümöral dokularda çinko artışının nedeni şimdilik tam olarak açıklanamamaktadır. Song ve arkadaşlarının(75) yaptıkları çalışmada meme tümörlü farelerde çinkonun dokuya uptake'nin arttığı kanıtlanmıştır. Çünkü çinko DNA sentezinde artma ile bağlantılı olarak normal ve neoplastik doku büyümesini hızlandıran bir iz elementtir.(6). Matthew ve arkadaşları (52) ise yaptıkları çalışmalar sonucunda diyet çinko düşüklüğünün kanser oluşumu başlangıcındaki histolojik değişikliklerin oluşumunu kolaylaştırdığı ve çinko verilmesinin karsinogenezis başlangıcını geciktirdiğini ancak endüksiyon olduktan sonra ilave çinko verilmesinin sellüler değişiklikleri hızlandırdığını öne sürmüşlerdir. Bu yüzden serumda çinko düşüklüğüne rağmen dokunun çinkoya

affinitesinin artması ve çinko uptake'nin hızlanmasına bağlı olarak doku çinko içeriğiyüksek bulunur.

Bütün gözlemlere ve yoğun çalışma sonuçlarına rağmen çinkonun kanserle ilgisi tam olarak maalesef aydınlatılamamıştır. Ancak daha önce de belirtildiği gibi epidemiyolojik çalışmalar dieter çinko yetmezliğinin bazı kanser tiplerinin insidansını arttırdığını kanıtlamıştır.(6). Çalışmalar göstermiştir ki çinko yetmezliği kimyasal bir karsinogen olan Dialkil nitrosaminlerin karsinogenesis yapıcı etkisini arttırmaktadır. Dialkil nitrosaminler mutajenik olmak için sit. p 450 aktivasyonuna ihtiyaç duyarlar. Çinko sit p450'e bir dialkil nitrosamin olan metil benzil nitrosaminin direkt nonkompetitif inhibitörü olarak etki eden bir elementtir. Çinko yetmezliğinde MBN'in sit p450 aktivasyonu ve metabolizması artar ve MBN (ve diğer nitrosaminler) DNA'da misreplikasyona bağlı nokta mutasyonları, DNA'nın hatalı transkripsiyonu veya DNA'da hasara yol açarak kanser oluşumuna katkıda bulunur(6).

Çinkonun karsinogenesisdeki rolü; DNA ve RNA polimerazın yapısına girmesi, fosfodiesteraz üzerine inhibitör etkisi, membrana bağlı Adenil siklaz üzerine aktive edici etkisi ve ribozomlar ile DNA çift helixini stabilize edici etkisi şeklinde özetlenebilir (70). Chvophil'e göre; çinko biomembranların integral bir parçası olarak membran bütünlüğünü kontrol eden bir komponenttir. Çinko yetmezliğinde ise lipid peroxidasyonuna bağlı hasar ve

membran stabilite bozukluğu ortaya çıkabilir (70). Ayrıca çinko fitohemaglutinine benzer bir şekilde lenfositlerin blastojen transformasyonuna neden olan bir mitojen olarak da fonksiyon görebilir.

Gene kanserli hastalar için önemli bir gözlem; Çinko yetmezliğinin iyileşmede gecikmeye neden olması, tam tersine post-operatif çinko uygulamaları ile iyileşmenin büyük ölçüde hızlanmasıdır. Çinko bu etkilerini protein sentezi ve kollagen formasyonu üzerine olan uyarıları ile oluşturur(70).

Dokuda çalıştığımız temel elementlerden kalsiyuma gelince; benign dokuda kalsiyum 10-200 µg/gr ve malign dokuda 50-510 µg/gr arasında bulundu. Malign doku sonuçları benign doku ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi. Santoliquido ve arkadaşları (68) kanserli doku kalsiyum normal dokudan anlamlı olarak yüksek bulurken çok geniş sınırlar içinde dağılan değerler bildirmişlerdir. DeJorge ve arkadaşları ise(19) bizim çalışmamıza uygun olarak aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark gösterilmeyen normal dokuda 163-257 µg/gr ve malign dokuda 120-358 µg/gr arasında değişen değerlerden söz etmişlerdir. Meme kanser dokusunda kalsiyum değişikliği ile ilgili kesin bir sonuca varılamamıştır.

Çalışılan bir başka element inorganik fosfor düzeyleri çalışmamızda malign dokuda benign doku ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur(p<0.01) De Jorge ve arkadaşları(19) benzer olarak malign dokuda fosfor

düzeylelerinde de anlamlı bir artış saptamışlardır. Yaptığımız taramalarda maalesef dokudaki çalışmalarda bu element ile ilgili bir yayına rastlayamadık.

Dokuda çalıştığımız son element magnezyum düzeyleri de malign dokuda benign doku ile kıyaslandığında anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. ($p < 0.01$) Malign dokularda bu anlamlı farklılığa Santoliguido ve arkadaşları (68) ile Mulay ve arkadaşları da dikkati çekmektedir. Malign dokuda belirgin magnezyum yükselmesinin nedeni malign hücrelerin magnezyuma olan artmış ihtiyaçlarından kaynaklanabilir. Malign dokuda metabolizma çok hızlanmış olacağı için bu bölgede glikoliz ve buna bağlı olarak da Mg a bağımlı glikolitik enzimlerin artabileceği düşünülebilir. Böyle bir yaklaşımla Parson ve arkadaşları (56) end-stage kanserlilerde kombine bir diet ve hemodializ tedavisi sonucu geliştirilen magnezyum açığı sonucunda tümör regresyonunun oluştuğunu kaydetmişlerdir.

Sonuç olarak; malign meme tümörlülerin serumlarında selim tümörlü ve kontrol gruplarına oranla bir hiperkupremi ve bir hipozinkemi saptanmıştır. Tek başına bir hiperkupremi ve bir hipozinkemi yanısıra bakır/çinko oranında görülen değişiminde kanser tanısı, tedavi ve prognozun takibinde faydalı bir gösterge olabileceğini söyleyebiliriz. Dokuda element düzeyi tayinler kanserli bölgeye ait özellikleri ortaya çıkartabilir. Bilhassa bakır ve çinko düzey artımı ile meme kanseri arasındaki ilişki düşündürücüdür. Element tayinleri kanser olaylarında aydınlatıcı bulgular sağlamakla

beraber bunların dokuda enzimatik tayinler ile birlikte sürdürülmesi ve bu konuda ileri çalışmalar yapılmasının uygun olacağı kanaatindeyiz.



ÖZET

Çalışmamızda 21 kişiden oluşan kontrol grubu, 20 kişiden oluşan benign meme hastalığı grubu ve 40 kişiden oluşan malign meme tümörü grubuna ait serum örneklerinde bakır, çinko, kalsiyum, magnezyum, inorganik fosfor, seruloplasmin LDH, ALP,OT,PT, ürik asid düzeylerini tayin ettik. Ayrıca 20 benign meme dokusu ve 25 malign meme tümörü dokusunda bakır, çinko, inorganik fosfor, kalsiyum ve magnezyum çalıştık. Alınan sonuçlar aşağıda özetlendi:

1- Kontrol grubuna ait serumlarda hem Atomik Absorbsiyon spektrofotometresi ve hem de kolorimetrik olarak bakır ve çinko düzeyleri tayin edildi ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Çalışmamızın bundan sonraki bölümü için kolorimetrik yöntem tercih edildi.

2- Kontrol grubu serumlarında sırasıyla bakır; $\%130.05 \pm 4.51$ μgr , çinko $\% 115 \pm 4.06$ μg , seruloplasmin $\%32.95 \pm 1.64$ mg, kalsiyum $\%9.067 \pm 0.113$ μg , Magnezyum $\%2.89 \pm 0.063$ μg , inorganik fosfor $\%3.17 \pm 0.093$ μg , benign meme hastalığı grubunun serumlarında aynı sırayla; $\%131.65 \pm 7.021$ μg , $\% 109.94 \pm 6.42$ μg , $\% 35.24 \pm 3.42$ mg, $\% 8.85 \pm 0.144$ mg, $\%2.96 \pm 0.145$ mg, $\% 4.13 \pm 0.166$ mg, malign meme tümör grubu serumlarında ise; 201.22 ± 8.71 μg , 88.56 ± 3.49 μg , 53.71 ± 2.52 mg, 8.66 ± 0.101 mg, 2.98 ± 0.112 mg, 4.108 ± 0.166 mg olarak bulundu. Kontrol ve benign gruba ait sonuçların kıyaslanmasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemesine karşın malign grubta kontrol ve benign gruba

oranla bakır, seruloplasmin ve inorganik fosfor düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış ($P<0.01$) ve çinko ($P<0.01$) ile kalsiyum ($P<0.05$) düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşme izlendi. Serum bakır ve serum çinkosu yanısıra bakır/çinko oranı ise kontrol grubunda $1.161\bar{7}0.057$ benign grupta $1.258\bar{7}0.092$ ve malign grupta $2.394\bar{7}0.17$ olarak bulundu.

3- Doku çalışmasında benign meme tümör dokusunda sırasıyla; bakır $47.92\bar{7}2.6$ $\mu\text{g}/\text{gr}$, çinko $3.64\bar{7}0.338$ $\mu\text{g}/\text{gr}$, kalsiyum $91.2\bar{7}12.4$ $\mu\text{g}/\text{gr}$, magnezyum $138.7\bar{7}26.1$ $\mu\text{g}/\text{gr}$ ve inorganik fosfor $640\bar{7}50$ $\mu\text{g}/\text{gr}$; bulunurken bunlarla kıyaslamalı malign meme tümör dokusunda bakır $74.8 \bar{7} 3.04$ $\mu\text{g}/\text{gr}$ [$P<0.01$ istatistiksel anlamlı artış], çinko $5.7\bar{7}0.46$ $\mu\text{g}/\text{gr}$ ($P<0.01$) anlamlı artış] kalsiyum $105.7\bar{7}19.8$ $\mu\text{g}/\text{gr}$ (artış anlamlı değil) Magnezyum $229.2 \bar{7}22.9$ $\mu\text{g}/\text{gr}$ ($P<0.01$ anlamlı artış) ve inorganik fosfor $920\bar{7}71$ $\mu\text{g}/\text{gr}$ ($P<0.01$) anlamlı artış) bulundu.

Kanserli hastalarda belirlenen hiperküpremi, hipozinkemi yanısıra bakır/çinko oranında ortaya konan istatistiksel anlamlı artış iz elementlerin kanserin tanısında, ayrıca tedavi ve prognozun takibinde yararlanılabilecek önemli göstergeler olduğunu kanıtladı. Serum yanısıra malign dokuda da bakır ve çinko konsantrasyonunda gözlenen istatistiksel anlamlı artıştan tümörün stage, tümör alanının genişliği hakkında bilgi sahibi olunabileceği anlaşıldı. Enzim tayinleri ile paralel iz element tayinlerinin yürütülmesiyle kanser oluşum

mekanizmaları hakkında daha aydınlatıcı bilgiler elde edilebileceği sonucuna varıldı.



KAYNAKLAR

- 1- Abu-Farsakh F.A et al: Sex related correlation between zinc and calcium in serum. Clinical Chemistry volume 34:2 467-68, 1988.
- 2- Aleksander F.W, Delves H.T : Plasma Copper and zinc in acut leukemia. Arch. Dis. Child 47: 671, 1972
- 3- Andronikashuili E.L. et al : Content of some trace elements in sacroma M-1 DNA in dynamics of malignant growth. Cancer Res. 34, 271-74, 1974
- 4- Arara R.D, et al: Role of zinc in health and disease sy.245.In, Elements in health and disaese, Hamdard Un.Press, Karachi, Pakistan,1987
- 5- Arlette J.P: Zinc and the skin. Ped.Clin. of North America 30: 3: 583, 1983
- 6- Barch D.H, Iannacone P.M. : Role of the zinc deficiency in carcinogenesis. Adv. Exp.Med. Biol. 206: 517, 1986
- 7- Brannon P.G. et al: Magnesium absorbtion in the human small intestine. The Journal of the investigation 57,Jun 1412-18, 1976
- 8- Burch E.R.,Hahn K.J.H. et al : Newer aspects of role of zinc, Manganese and copper in human nutrition Clinical Chemistry 21/4 501-20 1975
- 9-Brown,St,Mitchell F.L,Young D.S:Chemical Diagnosis of Disease. Elsevier / North Holland.Biomed Press, Netherlands 1979
- 10- Burr R.G : Plasma zinc levels.Lancet May-4: 879,1974

- 11- Burch R, Sullivan J. The medical Clinics of North America Symposium on trace elements 655-11, 661-713, 799-813. July 60:4, 1976
- 12- Bukhari A. et al : The role of trace elements in health and disease. Sy.116 Elements in health and disease. Hamdard Un.Press, Karachi, Pakistan. 1987
- 13- Coates R.J. et al : Cancer risk in relation to serum Copper levels Cancer Res. 49: Aug.: 4353- 56, 1989
- 14- Cohen Y, et al The value of serum copper levels in Non-Hodgkin's Lymphoma Cancer 53: 296-300 1984
- 15- Condon J.Y, Freeman R.M: Zinc Metabolism in Renal Failure Ann.of Internal Med. 73:531-36, 1970
- 16- Council of Scientific Affairs ABD. Meme kanserinde erken teshis. Literatür 1985'de JAMA 252:21, 3008-11, 1984
- 17- Cowen M.D. et al : Multivariate biochemical indicators of breast cancer: An evaluation of their potential in routine practice. Eur.J. Cancer 14: 885-983, 1978
- 18- Davies J.T, et al Measurements of Plasma Zinc. J.Clin. Path . 21: 355-65, 1968
- 19- De Jorge et al : Biochemical studies on copper, copper oxidase, magnesium, sulfur, calcium and phosphorus in cancer of the breast. Clin. Chim. Acta. 12: 403- 6, 1965
- 20- Delues H.T. et al : Copper and Zinc concentration in the plasma of leukaemic children. Br.J. of Haem. 24:525-31 1973
- 21- Devlin T.M : Textbook of Biochemistry With Clinical Correlations. Second edition. Wiley Med. Publ. Hew York, 1986

- 22- Dreno B. et al : Le Zinc et la Peau. Ann. Dermatol Vener. 115: 714-46. 1988
- 23- Ersöz B. : Bakır ve Çinko Biokimyası. Türk Biokimya Derneği, Seri Konferans Yayınları. İzmir Mayıs 1990.
- 24- Fisher G.L. et al Copper and Zinc levels in serum from human patients with sarcomas Cancer 37:356-63 1976
- 25- Giannolushi E.E. et al : Lactat Dehydrogenase Isoenzyme Pattern In Sera of Patients With Malignant Diseases. Clinical Chemistry 35/3, 396-99, 1989
- 26- Gillham B. : Wills Biochemical Basis of Medicine. Bulterworth and Co. Ltd. London 254-257, 1989
- 27- Gordon E.F. et al : Zinc Metabolism : Basic, clinical and behavioral aspects. Journal of Pediatrics Sep. 99, No: 3 1981
- 28- Gorodetsky R : Correlation of Erythrocyte and plasma levels of zinc, copper and iron With evidence of metastatic spread in cancer patients. Cancer 55: 779-87, 1985
- 29- Haines A.P. and fr. : Canser,retinal binding protein, zinc and copper. The Lancet, Jan-2, 1982
- 30- Hamsher R, Zak b : Spectrophotometric investigation of sensitive complexing atents for the determination of zinc in serum. Clinical Chemistry 31/8. 1310-13, 1985
- 31- Heath D.A: Habis hastalıklarda görülen hiperkalsemi.(Literatür dergisi) British Medical Journal. 298: June, 1468-69, 1989
- 32- Hrgovcic M: Serum copper Observations in patients with malignant lymphoma Cancer, Dec. 1512-23 1973

- 33- Inutsuka S, Arak S : Plasma copper and zinc levels in patients with malignant tumors of digestive organs. Cancer 42:626-31, 1978
- 34- Janes J.M. et al : Trace metals in human osteogenic sarcoma. Mayo Clin. Proc. Vol. 47, July 1972
- 35- Kalson J.R, Shamberger R.J : Methods compared for determining zinc in serum by flame atomic absorption spectroscopy. Clinical Chemistry 24/2 240-44 1978
- 36- Kılınç K : kanserde oksijen radikalleri ve süperoksit dismutaz. Biokimya Dergisi Cilt XI S:3 59-76, 1986
- 37- Kiilerich S, Christiansen C: Distrübutıon of serum zinc between albumin and alfa(2) macroglobulin in patients with different zinc metabolic disorders. Clin. Chim. Acta 154:1-6 1986
- 38- Klein J.W et al : Acute Copper Intoxication. A Hazard of Hemodialysis. Arch. Intern. Med. Vol 129 April: 578-82 1972
- 39- Klevay L.M. et al Effects of a diet low in copper on a healthy man. Clin. Res. 28: 764 1975
- 40- Kok F : Serum copper and zinc the risk of death from cancer and CV disease. Am. J. of Epidemiol. 28:2 1988
- 41- Laitiner R. et al : Zinc, copper and growth status in children and adolescents. Pediatric Research 25: 4, 323-26, 1989
- 42- Leading articles. Zinc. Lancet Aug. 3, 263-73 1968
- 43- Lightman A. et al : Use of serum copper/zinc ratio in the differential diagnosis of ovarian malignancy. Clinical Chemistry 32/1 101-103 1986

- 44- Lindeman R. et al : Serum concentration and urinary excretions of zinc in cirrhosis, nephrotic syndrome and renal insufficiency The American J. of Med. Sciences Jan.Feb. 275:1 17-31, 1978
- 45- Mahajan K, Prasad A.D : Zinc metabolism in uremia J. Lab. Clin. Med. 94: 693-98, 1978
- 46- Mahler J.D, Walsh J.R, Hayne G.D : Magnesium, zinc and copper in dialysis patients Am.J.Clin. Path. 56:17-23 1971
- 47- Malakhia M.N : Trace elements and the skin Sy.395 Elements in health and disease. hamdard Un.Press, Karachi Pakistan 1987
- 48- Mansouri K, Halsted J.A, Gombos E.A : Zinc, Copper, Magnesium and Calcium in Dialyzed and Nondialyzed Uremic Patients. Arch. Intern. Med. Vol.125 88-93 Jan.1970
- 49- Margerison A.C.F, Mann J.R : Serum copper, serum ceruloplasmin and erythrocyte sedimentation rate measurements in children with Hodgkin's disease, Non-Hodgkin's lymphoma and Non-malignant Lymphadenopathy. Cancer 55:1501-506, 1985
- 50- Margalioth J.E et al: Copper and Zinc levels in Normal and Malignant tissues Cancer Sep. 1 52: 5: 868-72 1983
- 51- Miatto O et al : Diagnostic and Prognostic value of serum copper and plasma fibrinogen in hepatic carcinoma. Cancer 55: 774-78 1985
- 52- Miles D.A : Function of Zinc; A Literature Resume. J. Oral Med. July- Sep. 37: 3; 95- 1982

- 53- Norris D : Zinc and Cutaneous Inflammation Arch. Dermatol
121: 985-89, 1985
- 54- Oberley L.W, Buettner K.G : Role of Superoxide Dismutase
in Cancer: A Review. Cancer Res.39, April 1141-49 1979
- 55- Parker M.M, et al : Determination of Copper and Zinc in
biological material Clinical Chemistry 13: 1 , 40-48 1967
- 56- Parson F.M : Regression of Malignant Tumors in Magnesium
and Potassium Depletion induced by diet and hemodialysis.
The Lancet Feb.16 243-244, 1974
- 57- Petrie J.J.B,Row P.G : Dialysis anemia caused by subcut
zinc toxicity. The Lancet June 4; 1178-80, 1977
- 58-Prasad A.S:Clinical and Biochemical Manifestations of zinc
deficiency in human subjects. J.Am.Coll.Nutr. 4:65-72 1972
- 59- Prasad A.S. et al :experimental zinc deficiency in human.
Annals of Internal Medicine 89: 483-490, 1978
- 60- Prasad A.S : Effect of trace element imbalance in human
diseases. Acta Pharmacologica et toxicologica (suppl. VII)
59: 94-102, 1985
- 61- Prasad A.S : Clinical,Endocrinological and Biochemical
Effects of zinc deficiency. Clin. End. and Med. Vol
14, No: 3 1985
- 62- Prasad A.S : Physiology and metabolism of essential trace
elements: An Outline Clin. End. and Met.Vol 14 No: 3 1985
- 63- Prasad A.S : Zinc Deficiency in man. Am.J. Disease of
Child April. 130:859-62 1981

- 64- Reinhard G.J : Trace Elements. A selective Survey. Clinic Chemistry 21/14 476-500 1975
- 65- Reinhard A : Magnesium Metabolism Arch. Intern. Med. Vol. 148; Nov. 2415-2419, 1988
- 66- Riaz et al : Voltammetric analysis of Cd,Co,Cu,Ni,Pb,and Zn in biological materials. In. Elements in Health and disease Hamdard Un. Pr. Karachi, Pakistan, 1987
- 67- Rude R.K : Physiology of Magnesium Metabolism and the Important role of magnesium in potassium deficiency. The Journal American Cardiology April 18, 30-35, 1989
- 68- Santoliquido P.M, et al : Trace metal levels in cancer of the breast Surgery Gyn and Obs 142: 65-70, 1976
- 69- Schwartz A.E. et al Trace elements in normal and malignant human breast tissue. Surgery 76:2 : 325-29, 1974
- 70- Schwartz M.K : Role of trace elements in cancer Cancer Res. 35: 3481-3487, 1975
- 71- Shah I : Correlation of Hypercalcemia with other Acute Phase Reaction in Malignant Lymphoma Cancer 51: 774-778 1985
- 72- Smith E.L, et al : Principles of biochemistry Mamalian Chem. Fourth edition. Mc Graw Hill Book Com. USA. 1988
- 73- Smith J.C : Zinc : A trace element essential in vitamin A metabolism. Science Sep. 181 954-955, 1973
- 74- Sodeman : Pathologic Physiology. Mechanism of disease. Seventh edition, W.B sounders Comp., Philadelphia, 1985
- 75- Song M.K. et al : Zinc,calcium and magnesium metabolism:

- Effects on plasmacytomas in Balb/C mice. Am.J. Clin. Nutr. 49: 701-707, 1989
- 76- Stryer L : Biochemistry Third edition Sy.622 W.H.Freeman and Comp. New York 1988
- 77- Sullivan J.F et al : Serum levels of selenium, calcium, copper, magnesium, manganese and zinc in various human diseases. J. Nutr. 109: 1432-1437, 1979
- 78- Tetsuo M. et al : A highly sensitive colorimetric determination of serum zinc using water-soluble pyridylazo dye. Clin. Chem. 128-135, 1982
- 79- Tietz N.W. et al : Textbook of Clinical Chemistry. W.B. Saunders Comp. USA. 1986
- 80- Thorling E.B. and Thorling K : Clinical usefulness of serum copper determinations in Hodgkin's disease. Cancer 38:225-231,1976
- 81- Valberg L.S. et al : Erythrocyte Magnesium, Copper and Zinc in Malignant Diseases affecting the hemopoietic system. Cancer 19: Dec. 1833-1841, 1966
- 82-Varley H.et al:Practical Clinical Biochemistry Vol.1 879-882, 947-950. Fifth edition. Whitefriners Press.London 1980
- 83- Vural S. ve Arkadaşları : Klinik Teshiste Laboratuvar Nurettin Uysan Cilt ve Basım San. A.Ş. Istanbul,1986
- 84- Wyngaarden J.B, Smith H.L : Cecil Textbook of Medicine 18.Edition Vol.1 W.B. Saunders Comp. USA. 1988
- 85- Yenson M : Klinik Biokimya Çalışmaları 6. Baskı Beta Basım Yayım Dağıtım A.Ş. Istanbul, 1986