

**T.C.
F.Ü. TIP FAKÜLTESİ
BİYOKİMYA VE KLİNİK BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**MEME KANSERİ OLUŞTURULAN RATLARDA
ISIRGAN OTUNUN ANTİOKSİDAN ENZİMLER
ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Arş. Gör. Dr.Selda TELO

**DANIŞMAN
Doç.Dr. İhsan HALİFEOĞLU**

Bu çalışma FÜBAP (Proje No: 1015) tarafından desteklemiştir.

ELAZIĞ - 2006

DEKANLIK ONAYI

Prof.Dr. Özge ARDIÇOĞLU

DEKAN

Bu tez Uzmanlık standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof.Dr.Necip İLHAN

Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş olup, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık

Tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. İhsan Halifeoğlu

Danışman

Uzmanlık Sınavı Jüri Üyeleri

TEŐEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca ve tez çalıŐmalarım sırasında her tŸrlŸ destek ve yardımlarını benden esirgemeyen değerli hocam Doç.Dr. İhsan Halifeoğlu'na teŐekkŸrŸ borç bilirim.

ÇalıŐmalarım sırasında ve eğitimim sırasındaki tŸm katkılarından dolayı Anabilim Dalı BaŐkanımız Prof.Dr. Necip İlhan'a bŸlŸmŸmŸzŸn değerli hocaları Prof.Dr. Ferit GŸrsu'ya, Doç.Dr. Bilal ŸstŸndađ'a, Doç.Dr. Nevin İlhan'a, Őđr.GŸr. Nermin Kılıç'a, Uzm.Dr. Dilara Seçkin'e ve asistan arkadaşlarımla tŸm biyokimya personeline teŐekkŸr ederim.

Ayrıca tez çalıŐmalarım sırasında yardımlarını gŸrdŸđŸm Patoloji Anabilimdalı Őđretim Ÿyesi Doç.Dr. İbrahim Hanifi Őzercan'a, deneysel bŸlŸmde bana yardımcı olan Fırat Ÿniversitesi Tıp FakŸltesi Deneysel Araştırma Biriminde (FŸTDAM) gŸrevli olan ŐzgŸr BulmuŐ'a ve gŸsterdikleri destek için aileme teŐekkŸr ederim.

Bu çalıŐmayı 1015 no'lu proje ile destekleyen Fırat Ÿniversitesi Bilimsel Araştırma Projelendirme (FŸBAP) fonuna teŐekkŸr ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	2
3. GİRİŞ	3
3.1. MEME KANSERİ	3
3.1.1. Epidemiyolojisi ve Etyolojisi	4
3.1.1.1. Genetik Etkenler, Herediter Sendromlar	4
3.1.1.1.1. Genetik Etkenler	4
3.1.1.1.2. Herediter Sendromlar	6
3.1.1.2. Endokrin Etkenler	7
3.1.1.2.1. Reprodüktif Etkenler	7
3.1.1.2.2. Hormonlar	8
3.1.1.3. Çevresel Etkenler	9
3.1.1.3.1. Beslenme	9
3.1.1.3.2. Vitaminler	10
3.1.1.3.3. Selenyum	10
3.1.1.3.4. Alkol	11
3.1.1.3.5. İyonizan Radyasyon	11
3.1.1.3.6. Fiziksel Aktivite	11
3.1.1.4. Memenin Selim Lezyonları	12
3.1.2. Klinik Belirti ve Bulgular	13
3.1.3. Meme Kanseri Çeşitleri	13
3.1.3.1. Noninvaziv Kanserler	14
3.1.3.2. İnvaziv Kanserler	15
3.1.4. Evrelendirme	16
3.1.5. Tarama Yöntemleri	18
3.1.6. Tanı	18
3.1.6.1. Tümör Belirleyicileri ve Prognostik Faktörler	19
3.1.7. Tedavi	19

3.1.7.1. Cerrahi	20
3.1.7.2. Radyoterapi	20
3.1.7.3. Kemoterapi	20
3.1.7.4. Adjuvant Tedavi	20
3.1.8. Prognoz	21
3.2. SERBEST RADİKALLER ve REAKTİF OKSİJEN TÜRLERİ	22
3.2.1. Serbest Radikal Oluşumunu Artıran Faktörler	23
3.2.2. Süperoksit Radikali (O_2^-)	24
3.2.3. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)	25
3.2.4. Hidroksil Radikali (OH)	25
3.2.5. Singlet Oksijen	26
3.2.6. Serbest Radikallerin Biyolojik Hedefleri	27
3.2.6.1. Serbest Radikallerin Membran Lipidlerine Etkileri	27
3.2.6.2. Serbest Radikallerin Proteinler Üzerine Etkileri	29
3.2.6.3. Serbest Radikallerin DNA Üzerine Etkileri	29
3.3. ANTİOKSİDANLAR	30
3.3.1. Antioksidan Enzimlerin Sınıflandırılması	31
3.3.2. Enzim Karakterli Antioksidanlar	31
3.3.2.1. Süperoksit Dismutaz	31
3.3.2.2. Katalaz	32
3.4. TOTAL ANTİOKSİDAN DURUM	33
3.5. SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİNİN KANSERLE İLİŞKİSİ	34
3.5.1. Oksidatif Stresin Tümör Başlamasındaki Rolü	35
3.5.2. Oksidatif Stresin Tümör Gelişmesindeki Rolü	36
3.5.3. Oksidatif Stresin Tümör İlerlemesindeki Rolü	37
3.6. ISIRGANOTU VE GENEL ÖZELLİKLERİ	37
3.6.1. Isırgan otunun İçeriği	37
3.6.2. Isırgan otunun Etkileri ve Kullanım Alanları	38
3.7. MNU (N-Metil-N-nitroso-Ürea)	41

4.GEREÇ VE YÖNTEM	42
4.1. Deney Hayvanları	42
4.1.1. Denek seçimi	42
4.1.2. Kimyasal ve Bitkisel Materyalin Hazırlanması	42
4.1.3. Örneklerin Alınması ve Hazırlanması	43
4.2. Kullanılan Yöntemler	43
4.2.1. Hemogloblin Ölçümü	43
4.2.2 Enzimatik Antioksidanların Ölçümü	44
4.2.2.1. GSH-Px Enzim Aktivitesi Ölçümü	44
4.2.2.2. SOD Enzim Aktivitesi Ölçümü	47
4.2.2.3. Eritrosit Katalaz Ölçümü	51
4.2.3. Plazma Lipid Peroksid Düzeylerinin Ölçümü	52
4.2.4. Total Antioksidan Durum Ölçümü	53
4.2.5. Eser Elementlerin Tayini	56
4.3. Histopatolojik İnceleme	57
4.4. İstatistik Analizleri	57
5. BULGULAR	58
5.1. Gruplar Arası Serum MDA ve Eritrosit Antioksidan Enzim Düzeyleri, Plazma Total Antioksidan Durum, Serum Zn ve Cu Düzeyleri ile Cu/Zn Oranları	58
5.2. Kanser Oluşturulan Gruplardaki Palpasyonla Tümör Görülme Sıklığı	64
5.3. Histopatolojik Bulgular	65
6. TARTIŞMA	67
7.KAYNAKLAR	81
8.ÖZGEÇMİŞ	96

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

- Tablo 1.** Meme kanseri ile ilişkili diğer herediter sendromlar 6
- Tablo 2.** Meme kanseri risk belirleyicileri 12
- Tablo 3.** Meme kanserinin semptom ve bulguları 13
- Tablo 4.** Meme Kanserinde Yeni Evreleme sistemi ... 17
- Tablo 5.** Reaktif oksijen türleri 22
- Tablo 6.** Gruplar arası eritrosit antioksidan enzim, plazma MDA ve plazma ... 59
TAS düzeyleri, serum Zn ve Cu düzeyleri ile Cu/Zn oranları
- Tablo 7.** Gruplarda palpasyon ile tespit edilen tümör görülme sıklığı 64

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

- Şekil 1.** Lipid Peroksidasyonu **28**
- Şekil 2.** Antioksidan Gruplar ve Görevleri ... **30**
- Şekil 3.** Glutasyon Döngüsü .. **33**
- Şekil 4.** SOD için standartlara ait %inhibisyon konsantrasyon eğrisi ... **50**
- Şekil 5.** SOD için standartlara ait %inhibisyon-log[konsantrasyon] eğrisi
50
- Şekil 6.** Gruplara ait MDA düzeyleri ... **58**
- Şekil 7.** Gruplara ait eritrosit SOD düzeyleri . **60**
- Şekil 8.** Gruplara ait eritrosit katalaz düzeyleri . **61**
- Şekil 9.** Gruplara ait eritrosit GSH-Px düzeyleri **61**
- Şekil 10.** Gruplara ait plazma total antioksidan durumu ... **62**
- Şekil 11.** Gruplara ait serum Zn düzeyleri **63**
- Şekil 12.** Gruplara ait serum Cu düzeyleri **63**
- Şekil 13.** Gruplara ait Cu/Zn oranları .. **64**
- Şekil 14.** Kontrol grubuna ait meme bezinin histolojisi **65**
- Şekil 15.** MNU uygulanan gruba ait meme bezinin histolojisi **66**
- Şekil 16.** MNU uygulanan+ısırgan verilen gruba ait meme bezinin histolojisi .. **66**

KISALTMALAR

AJCC: Amerikan Birleşik Kanser Komitesi

ATM: Ataksi Telenjektazi Geni

BCRA1: Breast Cancer Susceptibility Gene 1

BCRA2: Breast Cancer Susceptibility Gene 2

BT: Bilgisayarlı Tomografi

BMH: Bening Meme Hastalığı

CAT: Katalaz

cDNA: Komplementer DNA

CEA: Karsino Embriyojenik Antijen

DCIS: Duktal Karsinoma İn Situ

DHEA: Dehidroepiandrosteron

DHEAS: Dehidroepiandrosteron Sülfat

DMBA: Dimetilbenzantrasen

DNA: Deoksiribo Nükleik Asit

ER: Östrojen Reseptörü

GSSG: Okside Glutasyon

GSH: Redükte Glutasyon

GSH-Px: Glutasyon Peroksidaz

HIV: Human İmmunodeficiency Virüs

H₂O₂: Hidojen Peroksit

HO[·]: Hidroksil Radikali

HOCl: Hipoklorik Asit

8-OHdG: 8-hidroksi 2'deoksi Guanozin

IL: Interlökin

IκB-α: İnhibitör Kapa Beta- α

İİAB: İnce İğne Aspirasyon Biyopsisi

LOOH: Lipid Hidroperoksit

LOO· : Lipit Peroksil Radikali

MDA: Malondialdehit

MNU: N-Metil-N-nitroso-Urea

NF-κB: Nükleer Faktör- KappaBeta

O₂^{·-}: Süperoksit Radikali

OKS: Oral Kontraseptif

PR: Progesteron Reseptörü

SHBG: Sex Hormon Bağlayabilen Globulin

SOD: Süperoksid Dismutaz

SOR: Serbest Oksijen Radikalleri

TAS: Total Antioksidan Durum

TNF: Tümör Nekrotizan Faktör

UDA: Urtica Dioica Aglutinin

US: Ultrasonografi

WHO: Dünya Sağlık Örgütü

MEME KANSERİ OLUŞTURULAN RATLARDA İSIRGAN OTUNUN ANTIOKSİDAN ENZİMLER ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Meme kanseri kadınlarda en çok görülen kanser türü olup, kanserden ölümlerin başlıca sebebinin oluşturmaktadır. Reaktif oksijen metabolitlerinin kanser etyolojisindeki rolü bilinmektedir. Antioksidan etkiye sahip olan ısırgan otunun bazı kanserlerin tedavisinde etkisinin olabileceğine dair çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmada; meme kanseri oluşturulan ratlarda ısırgan otunun antioksidan enzimler, total antioksidan durum (TAS), Zn ve Cu üzerine etkilerinin tespit edilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada ratlar 4 gruba ayrıldı: standart rat yemi ile beslenen kontrol grubu (grup1, n=15), standart rat yemine ek olarak MNU uygulanan grup (grup 2, n=13 MNU 50 mg/kg dozunda intraperitoneal olarak tek doz halinde uygulandı), MNU uygulanan + ısırganotu verilen grup (grup3, n=15) ve ısırgan otu verilen grup (grup 4, n=15). Beşbuçuk ayın sonunda ratlar dekapite edilerek, çalışma materyali alındı.

Çalışmamıza göre serum MDA düzeylerinde grup 2'de grup 1 ve grup 4'e göre anlamlı yükseklik tespit edilmiştir ($p<0.05$, $p<0.01$). Eritrosit SOD aktivitesi grup 3'te diğer gruplara göre anlamlı bir azalma ($p<0.0001$) gösterirken, eritrosit katalaz düzeyleri grup 4'te grup 2 ve grup 3'e göre yüksek olarak tespit edilmiştir ($p<0.05$, $p<0.01$). Eritrosit GSH-Px düzeylerinde gruplar arası anlamlı farklılık bulunmamıştır. Plazma TAS düzeyleri grup 2'de grup 1 ve grup 4'e göre düşük bulunmuştur ($p<0.05$).

Serum Zn düzeyleri grup 2'de grup 3'e göre yüksek ($p<0.05$), Cu düzeyi ise grup 4'te grup 1, grup 2 ve grup 3'e göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur (sırasıyla $p<0.05$, $p<0.005$, $p<0.0001$). Cu/Zn oranı Grup 4'te grup 2 ve grup 3'e göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p<0.05$, $p<0.01$). Palpasyonla tümör varlığı grup 2'de %46.15, grup 3'te %13.33 olarak tespit edilmiştir.

Sonuç olarak ısırgan otunun; meme kanserinde lipid peroksidasyonunu azalttığı ve total antioksidan durumu arttırdığı görülmüştür. ısırgan otunun antioksidan enzimlerden katalaz enzimini belirgin olarak, diğer enzimleri ise hafif derecede arttırdığı tespit edilmiştir. Ayrıca ısırgan otunun meme kanserinin başlangıç ve ilerleyişini çeşitli mekanizmalarla geriletebileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Meme Kanseri, Antioksidan Enzimler, ısırganotu, MNU

EVALUATING OF THE EFFECTS OF URTICA DIOICA ON THE ANTIOXIDANT ENZYMES IN THE RATS WITH BREAST CANCER

Breast cancer is the most common cancer type and the main cause of death in women. The role of reactive oxygen metabolites on cancer etiology is known. There are some studies about antioxidant effects of *Urtica Dioica* (UD) on therapy of some cancer types. In this study we aimed to investigate the effects of UD on antioxidant enzymes, total antioxidant status (TAS), Zn and Cu in rats with breast cancer.

In the study rats were divided into four groups: a control group (n=15, group 1) feeded with standart rat food, a MNU group (n=13, group 2) given 50 mg/kg MNU intraperitoneally feeded with standart rat food, a MNU group treated with UD (n=15, group 3), a control group treated with UD (n=15, group 4). After 5.5 months rats were decapited, and materials were taken.

There was a significant increase in serum MDA levels of group 2 compared with group 1 and 4 ($p<0.05$, $p<0.01$). The erythrocytes SOD activity was decreased in group 3 than the other groups ($p<0.0001$), the levels of erythrocytes catalase was significantly increased in group 4 compared with group 2 and 3 ($p<0.05$, $p<0.01$). There was no significant difference in erythrocytes GSH-Px levels between groups. Plasma TAS levels was decreased in group 2 compared with group 1 and 4 ($p<0.05$).

Serum Zn levels of group 2 was higher than group 3 ($p<0.05$), the Cu levels of group 4 was decreased compared with group 1, 2, and 3 ($p<0.05$, $p<0.005$, $p<0.0001$, respectively). The ratio of Cu/Zn of group 4 was significantly lower than group 2, and 3 ($p<0.05$, $p<0.01$, respectively). The presence of tumour with palpation was 46.15% in group 2, and 13.33% in group 3.

In conclusion, it was seen that UD decreased lipid peroxidation, and increased total antioxidant status. We determined that one of antioxidant enzymes, katalaz was significantly elevated with UD, but the elevation of other enzymes were mild. Moreover it is thought that UD can regresse the onset and progression of breast cancer with various mechanisms.

Key words: *Breast cancer, antioxidant enzymes, Urtica Dioica, MNU.*

3. GİRİŞ

Kanser, normal dokuların gelişimini aşan, normal dokulara uyum göstermeyen ve kendisini meydana getiren uyarının yok olması durumunda bile aşırı seyrinde devam eden bir doku kitlesi olarak tanımlanmaktadır (1).

Kanser, içerisinde bulunduğumuz modern çağın en ciddi hastalığı olup, insan ölümlerine yol açan nedenler arasında önemli bir yere sahiptir. Gelişmiş toplumlarda kanserden kaynaklanan ölümler ilk sırada yer alırken gelişmekte olan ülkelerde ise giderek artmaktadır. Günümüzde kanser ile mücadelede çok ciddi çabalar ve inanılmaz miktarlarda bütçeler harcanmaktadır. Buna rağmen kanser insan sağlığını tehdit eden ilk faktör olma özelliğini muhafaza etmektedir (2).

Meme kanseri günümüzde birçok ülkede kadınlarda görülen en yaygın kanser türlerinden biri olup, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde kadınlarda görülen en önemli ölüm nedenidir (2).

Her yıl Avrupa'da 180 bin, ABD'de ise 182 bin yeni meme kanseri olgusu saptanmaktadır. Bu oranlar her yıl artış göstermekte olup, dünyada yılda yaklaşık bir milyon yeni olguya tanı konulmaktadır. Dünyada her 11 dakikada bir kadın meme kanseri nedeniyle hayatını kaybetmekte ve her 3 dakikada bir kadına meme kanseri tanısı konulmaktadır (3). Tüm dünyada 3. en sık kanser olan meme kanseri yüksek mortalite ve morbidite ile seyretmektedir (4).

Memenin Yapısı: Meme başlıca dört kısımdan oluşur: Lobcuk veya süt bezleri, süt kanalları, fibröz doku ve yağ dokusu. Meme, meme başından başlayarak ışınal şekilde yerleşmiş 15–20 lobdan oluşan tubuloalveolar tipte bir bezdir. Her lob ayrı bir kanalla meme başına açılır. Lobcuklar kanalcıklara sütü akıtır ve kanalcıklarda kanalları oluştururlar. 7–8 kanalda meme başına sütü akıtırlar (2).

3.1. MEME KANSERİ

Memeyi oluşturan hücrelerin kontrol dışı çoğalmaları ve vücudun çeşitli yerlerine giderek çoğalmaya devam etmesine meme kanseri denir. Meme kanseri lobül denilen süt yapan bezlerden ve lobülleri meme başına birleştiren kanallardan oluşan meme dokusundan başlar (1,2).

3.1.1. EPİDEMİYOLOJİSİ VE ETYOLOJİSİ

Meme kanseri görülme sıklığında 1973'den itibaren ABD'de yılda %1,8; dünyanın çeşitli ülkelerinde de %1–2 oranında artış gösterilmiştir (5). ABD, İngiltere, Danimarka, Hollanda ve Kanada gibi ülkelere ölüm oranları yüzbinde 25–30 arasında iken Japonya, Venezuela ve Meksika gibi ülkelere bu rakam yüzbinde 2–5 arasındadır. Meme kanseri sıklığı dünya üzerinde ülkeden ülkeye farklılık göstermektedir (6). Türkiye'de ABD ve diğer batılı ülkelerde olduğu gibi kadınlarda kanser vakaları arasında meme kanseri, %27 ile birinci sırayı kanserden ölümlerde ise üçüncü sırayı almaktadır (7).

Birçok ülkede meme kanseri ölüm oranındaki artış yaşam süresinin uzamasına bağlıdır. Bununla birlikte yaşa göre ayarlandığında dahi meme kanserinden ölüm oranı endüstrileşmiş ülkelerde 1960–1980 yılları arasında %43 lük artış göstermiştir. ABD'de görülme sıklığının sürekli artışı sonucu bugün her 11 kadından birinde meme kanseri görülmesi beklenmektedir (6).

İnsanlardaki meme kanserinin sebebi bilinmemektedir. Genetik, çevresel, hormonal, sosyobiyolojik ve psikolojik etkenlerin oluşumda rol aldığı kabul edilmekle birlikte, meme kanserli kadınların %70-80'i bu risk faktörlerine sahip değildir. Hayvanlarda ise bazı kimyasal maddeler, iyonizan radyasyon ve virüsler kanser oluşumuna neden olurlar. Tüm bu ajanların mutasyonlara neden olabileceği ve kromozomal mutasyonların da insanda kanser ortaya çıkış ve gelişimi ile yakından ilişkili olduğu gösterilmiştir (8).

3.1.1.1. GENETİK ETKENLER, HEREDİTER SENDROMLAR

3.1.1.1.1. GENETİK ETKENLER

Asyalı kadınlarla batı ülkelerinin kadınları arasında meme kanseri sıklığı ve mortalitesindeki belirgin farkların bulunması, meme kanserli kişilerin ailelerinde meme kanserinin iki üç kat artmış olması, meme kanseri oluşumunda genetik etkenlerin rol aldığını düşündürmektedir.

Genetik faktörün etkili bir biçimde rol oynadığı hastalıklardan biri de meme kanseridir. Olumlu aile anamnezine sıklıkla rastlanır. Bir meme kanserli kadında anne veya yakınlarından birinde yada birkaçında meme kanseri olduğu tespit

edilebilir. Ayrıca meme kanserine yakalanmış bir kadının kızlarında hastalığın ortaya çıkma ihtimali diğer kadınlara oranla beş kat daha fazladır (5).

Meme kanserinde aile hikayesi en iyi bilinen risk faktörüdür. 52 yeni epidemiyolojik çalışmada 80 yıllık yaşam süresi boyunca meme kanseri oluşma riski, birinci derece akrabaların (anne, kızkardeş veya kız) etkilenmediği durumda %7.8 iken, birinci derece yakınında meme kanseri hikayesi bulunanlarda riskin %13.3 olduğu, iki tane birinci derece yakında olması halinde ise riskin %21.1'e yükseldiği gösterilmiştir. Fakat meme kanserli kadınların %1'inden daha az kısmında aile hikayesi vardır (9). Meme kanseri aile hikayesi olan kişilerde meme kanserinin ortaya çıkma yaşı daha erken olup, hastalık bilateral olmaya eğilimlidir ve hastalığın ortaya çıkışı özellikle annesinde meme kanseri olanlarda daha da belirgindir (10).

Aile hikayesi veya genetik profilinin yüksek riskli olduğu düşünülen bir kadın grubunda konuyla ilişkili olabilecek bazı genler izole edilmiştir. BCRA1, BCRA2 en iyi bilinen sorumlu genlerdir. Bu genlerden ilki BCRA1 (Breast cancer susceptibility gene)dir. Otozomal dominant bir gen olan BCRA1 17. kromozom üzerinde yerleşmiş olup, mutasyonların oluşması sonrası BCRA1 geninin ailevi meme kanseri ve over kanserinde etyolojik rol oynadığı kabul edilmektedir.

BCRA2 geni ise 13. kromozom üzerinde bulunmaktadır ve ailevi olgularda hastalığın erken ortaya çıkışında ve bilateral hastalıkta rol oynayan gendir (11).

70 yıllık yaşam süresi boyunca, BCRA1 gen defektli kadınların %85 'inde ve BCRA2 defekti olan kadınların ise %87'sinde meme kanserine yakalanma riskinin olduğu belirlenmiştir (9).

13. Kromozomda bulunan resesif Retinoblastoma geni bir tümör supressör gendir, bu kromozomda heterojenitenin kaybı premenapozal meme kanserine neden olmaktadır. Kolon kanserinde olduğu gibi 17. kromozomdaki P53 supressör geni de meme kanseri gelişmesinde önemli bir gendir ve genin kaybı ile meme kanseri arasında ilişki olduğu gösterilmiştir. Yine erb-B-2 onkogeninin meme ve over kanseri prognozunu belirlemede önemli bilgiler verdiği gösterilmiştir (5).

3.1.1.1.2. HEREDİTER SENDROMLAR

Hereditör meme-over kanseri sendromu: Bu sendromlu tüm kişilerin mutant BRCA1 genini taşıdığı kabul edilmiş ve 70 yıllık yaşam boyunca meme kanseri oluşma riski de %85 olarak hesaplanmıştır (12).

Bölgeye spesifik hereditör meme kanseri: BRCA2 geniyle yakın ilişkili olan bu sendromda hastalık premenopozal dönemde erken yaşta ortaya çıkmakta ve bilateral başlangıç göstermektedir. Bu kişilerde meme kanseri oluşma riski % 90 olarak hesaplanmıştır (13).

Muir Sendromu: Multiple cilt tümörleri ve gastrointestinal sistemin multipl selim ve habis tümörleri ile seyreden otozomal dominant geçişli nadir bir sendromdur. Bu sendromda kadınlarda özellikle menopoz sonrası dönemde olmak üzere meme kanseri oluşma riski oldukça yüksektir (5).

Heterozigot ataksi telenjektazi geni (ATM): Bu geni taşıyanlarda meme kanseri riski beş kat artmıştır. 11q üzerindeki tek gen mutasyonunun bu hastalığa sebep olduğu gösterilmiştir. Yeni epidemiyolojik çalışmalar ATM mutant genini taşıyan %1 kadın popülasyonunda meme kanserinde belirgin artmış risk belirlenmiştir (11).

Tablo 1. Meme kanseri ile ilişkili diğer hereditör sendromlar (11).

	Sorumlu gen	Kromozomal lokalizasyon	Kanserle ilişkisi
Li-Fraumeni sendromu	P53	17p	Premenopozal meme kanseri, çocukluk çağı sarkomu, beyin tümörleri, lösemi, adrenokortikal karsinoma
Cowdens sendromu	PTEN	10q 23	Meme kanseri, tiroid ve gastrointestinal maligniteler
Peutz-Jeghers sendromu	STK11	19P	Meme, kolon, pankreas, mide, over maligniteleri

3.1.1.2. ENDOKRİN ETKENLER

3.1.1.2.1.REPRODÜKTİF ETKENLER

Menarş Yaşı: Menarş yaşının erken olması meme kanseri için bir risk faktörüdür. İlk menstruasyonun 12 yaşında veya önce başlaması, 15–16 yada 17 yaşından daha ileri yaşlarda başlamasına göre sırayla 2, 2.5 kat artmış meme kanseri riski ile birlikte dir. Menarşı geç başlayan kadınlarda anovulatu ar dönemlerin erken menarşlı kadınlara göre daha fazla olacağı dolayısıyla östrojene maruz kalmanın azalacağı gösterilmiştir (14).

Menopoz Yaşı: Menopoz ve meme kanseri riski arasındada ilişki mevcuttur. 50 yaşından sonra menapoza girenlerde 2–4 kat artmış meme kanseri riski gösterilmiştir. Aktif menstruasyon dönemi 40 yıl ve daha fazla süren kadınların meme kanser riski aynı dönemi 30 yıl yada daha az olan kadınlara göre iki kat daha fazladır (14).

İlk Hamilelik-İlk Doğum Yaşı: İlk hamileliğin ve ilk hamilelik yaşının meme kanseri riski ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Hiç doğum yapmamış kadınlarda, kanser riskinin doğum yapmış kadınlara göre 1,4 kat daha fazla olduğu gösterilmiştir (5). Tam bir gebelik yaşamayan bir kadında gebelik yaşayan bir kadına göre 1,5-2,5 kat risk artışı söz konusudur. Artmış çocuk sayısıyla da riskin azalacağı gösterilmiştir (14).

Hamileliğin ilk üç aylık döneminde kan östradiol düzeyindeki hızlı artış, ilk hamilelikte, takip eden hamileliklere nazaran çok daha belirgindir. Artmış östradiol düzeyi kişi için kısa zamanda çok sayıda ovulatu ar dönem geçirmeye eşdeğ erdir. Kanser yönünden getireceği olumsuz etkiye rağmen, erken yaşta hamileliğin hangi mekanizma ile kanser riskini azaltıcı etki gösterdiği henüz açıklığa kavuşmamıştır (15). İlk hamileliğin yıllar boyunca prolaktin düzeyinin düşük kalmasını sağlamadığı gösterilmiştir. Doğum yapmış kadınlarda prolaktin düzeyinin, doğum yapmamış kadınlara göre daha düşük olmasının, erken yaşta ilk doğumun koruyucu etkisini kısmen açıklayabilir (15).

Laktasyon: Postmenopozal kadınlardan, gebelik geçirmiş ve emzirmiş olanlarda meme kanseri riski 4-7 kat azalmıştır. Emzirme süresinin artması ile risk negatif bir ilişki içerisindedir (14). Bir çalışmada 4–12 ay arasında emziren kadınlarda riskin %11, iki sene veya daha fazla emzirenlerde ise %25 oranında azaldığı gösterilmiştir (15).

3.1.1.2.2. HORMONLAR

Östrojenler

Çok sayıdaki deneysel, klinik ve epidemiyolojik veriler, hormonların meme kanseri etyolojisinde önemli rol oynadığını göstermektedir. Hormonların memeye genetik etkisi yoktur, ancak östrodiol ve diğer steroid hormonların hücre bölünmesini, proliferasyonu artırıcı etkileri mevcuttur (16). Meme kanserinin, normal büyümesi hormonal kontrol altında olan bir organın, aşırı östrojenik stimülasyonu sonucu geliştiği düşünülmektedir. Sonuç olarak normal büyüme bozularak hiperplazi ve neoplazi gelişir. Östrojenler meme dokusundaki normal ve neoplastik hücrelerin büyümesini uyarırlar. Ayrıca tümör hücreleri üzerine direkt etkileri ile mitojenik büyüme faktörlerinin salgılanmasına sebep olurlar (17). Tamoksifen gibi antiöstrojenik ajanlar verildiğinde meme kanserinde erken etkili tedavi sağlanması, diğer memede meme kanseri insidansını azaltması ve primer meme kanseri oluşumunu azaltması östrojenin kanserojenik etkisini desteklemektedir (18).

Meme kanseri görülme sıklığının daha düşük olduğu Asyalı kadınlarda serum östradiol düzeylerinin daha düşük olduğu gösterilmiştir. Düşük riskli kadınlarda düşük östrojen düzeylerinin bulunması ovulatuvar dönemlerin daha az olduğunun bir göstergesi olabileceği düşünülmüştür (19).

Östradiol sex hormon bağlayabilen globuline (SHBG) bağlanmadığında meme epiteline rahatça girerek meme kanseri riskini arttırmaktadır (17).

Androjenler

Androjenlerin meme kanseri ile ilişkili bir risk olduğu gösterilmiştir. Postmenopozal hastalarda androjen düzeyinin yüksek olması bu düşüncüyü desteklemektedir. Özellikle androstenodion ve testesteron, dehidroepiandrosteron (DHEA) ve dehidroepiandrosteron sülfat (DHEAS)'a göre daha güçlü ilişki içindedir. Androstenodion ve testesteron tek basamakla östron ve östrodiol dönüşebilmektedir. Postmenopozal kadınların dolaşımında androjen düzeyleri, östrojen düzeylerinden daha yüksektir ve memede androjenler, östrojenlere dönüşerek memede östrojenin en önemli kaynağını oluşturmaktadırlar (18).

EKZOJEN HORMONLAR

OKS: Oral kontraseptifler (OKS) ve postmenopozal hormon replasman tedavisi gibi ekzojen seks steroidlerinin meme kanseri riski ile ilişkisi olduğu çokça rapor edilmiştir. Östrojen içeren OKS'lerin ovulasyonu suprese ederken, meme hücrelerindeki stimüle ederek, kanser riskini arttırdığına dair düşünceler hala çelişkilidir (11, 20). 10 yıl boyunca OKS kullanan genç bir kadında hiç OKS kullanmayan bir kadına göre meme kanseri oluşma riski %36 artmaktadır. İlk doğum öncesi OKS kullanımı ile meme kanseri riski arasında ilişki gösterilmiştir. (21). OKS kullanan kadınlarda hiç OKS kullanmayanlara göre her OKS kullanım yılı için meme kanseri riski %3.8 artmaktadır (22). Yeni bir çalışmada BRCA1/2 mutasyon taşıyıcılarında, OKS kullanımının meme kanseri riskini kullanmayanlara göre daha fazla arttırdığı tespit edilmiştir (11, 23).

Hormon Replasman Tedavisi: Menapoz nedeni ile uzun süre östrojen tedavisi (10 yıldan fazla) gören kadınlarda, meme kanseri oranı artmaktadır. Fakat, hormon tedavisi almayan kadınlarda da, kalp hastalıklarında ve osteoporoz gibi sorunlarda artış ortaya çıkmaktadır (5,6). Yapılan çalışmalarda beş yıl konjuge östrojen kullanımında meme kanseri relatif riski 1,1 iken; 10 yıl kullanımda ise 1,4 olarak verilmiştir. Daha kısa süreli tedavilerde meme kanseri riski için aile hikayesinin önemli olduğu belirtilmiştir. Östrojen/progesteron kombine edilmiş hormon replasman tedavisi sadece östrojen tedavisine göre daha yüksek risk gösterdiği kabul edilmektedir (24).

3.1.1.3.ÇEVRESEL ETKENLER

3.1.1.3.1. BESLENME

Meme kanserinde uluslararası farklılıklar risk olarak dietsel sebepleri akla getirmiştir. Çeşitli araştırmacılar yağdan fakir, meyve, sebze, lif ve kompleks karbonhidratlardan zengin beslenmenin meme kanseri için daha düşük risk olduğunu tespit etmişlerdir. Hayvan deneylerinde fazla doymuş yağ alımının meme tümör gelişim hızını arttırdığı gösterilmiştir. Fakat bu çalışmalarda meme tümör gelişimi için sorumlu olarak dietsel yağın yalnız başına mı yoksa fazla enerji alımından mı kaynaklandığı açık değildir (25). İnsanlarda düşük yağ ve yüksek lifli dietin, bazı

meme kanseri biomarkırları üzerine olumlu etkileri olduğuna dair kanıtlar mevcuttur (25).

Epidemiyolojik alışmalar, soya ürünlerinin meme kanseri riskini düşürdüğünü göstermiştir (25). Fitoöstrojenler dolaşımdaki konsantrasyona bağlı olarak zayıf östrojen etkili veya östrojen antagonisti olarak davranmaktadır. Premenapozal kadınlarda yüksek fitoöstrojen alındığında endojen strojenlerle yarışarak östrojene maruz kalan doku miktarını azaltmaktadır. Düşük endojen östrojen düzeyli postmenapozal kadınlarda, fitoöstrojenler östrojen aktivitesini arttırabilmektedir (26).

Vücut Ağırlığı: Postmenapozal meme kanseri gelişim riski, kilolularda veya obezlerde, zayıflara göre %30-%50 daha fazla bulunmuştur. Premenapozal dönemde tam ters olarak obezite ile daha düşük meme kanseri riski olduğu gösterilmiştir (25). Menapoz sonrası adipoz dokunun asıl olumsuz yanı androjenlerin aromatisasyonu ile östrojen üretmeleridir. Obezite aynı zamanda SHBG düzeylerini azaltmaktadır (11,25,27). Obez premenapozal kadınlarda azalmış risk gösterilmiştir. Bunlarda uzamış menstruasyon siklusları ve anovulatuar siklusa eğilim olduğundan hedef meme hücrelerinde net östrojen etkisinin azaldığından dolayı olduğu dşnlmştir (27).

3.1.1.3.2. VİTAMİNLER

A, C, E, folat ve karotenoidlerin alımıyla meme kanseri riskinin azaldığı ileri srlmştir.

A Vitamini: A Vitamininin içinde bulunduğu karotenoidler antioksidan özelliklere sahip olduklarından DNA hasarına yol açan reaktif oksijen radikallerine karşı hücresel savunmayı arttırarak; hücre büyümesini, farklılaşmasını ve ölümünü regüle ederek meme kanseri riskini azalttığı ileri srlmştir (28,29). Vitamin A immun fonksiyonları düzenleyerek conexin 43 geninin regülasyonunu artırır (29).

C Vitamini: Antioksidan etkisi mevcuttur. İmmun sistem modlatrleri ve sitokrom p-450 fonksiyonlarını etkiler. Folik asit ve E vitamininin stabilitesini ve kullanımını olumlu yönde etkiler (29).

3.1.1.3.3. SELENYUM

Selenyum hücre proliferasyonunu inhibe eden ve antioksidan bir enzim olan glutatyon peroksidazın önemli bir komponentidir. Hayvan çalışmalarında yüksek

miktarlarda verildiğinde kanserlere karşı koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir (30). Selenyum ve meme kanseri arasındaki ilişki hayvan deneylerinde araştırılmış ve düşük selenyum içeren diyetle beslenen farelerde meme tümörü insidansının selenyum içeren diyetle beslenenlere göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. (31).

3.1.1.3.4. ALKOL

Orta yada ağır dereceli alkol alımıyla meme kanseri gelişim riskinin arttığı epidemiyolojik birçok çalışmada saptanmıştır. Doz ile bağlantılı olarak riskin yükseldiğine dair deliller vardır (25). Alkol tüketimi ne olursa olsun hem premenapozal hem de postmenapozal meme kanseri için artmış riskin olduğu gözlenmiştir. Alkol alımı; folat, beta-karoten ve vitamin C gibi besinlerin alımını asgariye indirdiğinden zararları belirgin hale getirmektedir. Alkolün, karsinojen detoksifikasyonunu inhibe ederek, karsinojenlerin karaciğerdeki klirensini bozarak, DNA hasarına yol açarak veya inaktif metabolitleri aktif hale getirerek, kokarsinojen olarak rol oynadığı düşünülmektedir (32).

3.1.1.3.5. İYONİZAN RADYASYON

Radyasyona maruz kalmak meme kanseri riskini arttırdığı yıllardan beridir bilinmektedir (5,11). Puberte ve 30 yaş arası radyasyon tedavisi alanlarda belirgin meme kanseri riski mevcuttur. Bu meme dokusunun en aktif ve radyasyonun karsinojenik etkilerine en duyarlı olduğu dönemdir. Radyoterapinin bu yaşta risk arzeden bir faktör olması hormon temelinde gerçekleşmesine bağlı olabilir (33).

Meme kanseri nedeniyle radyoterapi uygulanan 41.109 kadında diğer memede meme kanseri oluşma riskini araştıran bir çalışmada, meme kanseri riskinin sadece 45 yaşın altındaki kadınlarda sınırlı bir anlamlılıkla arttığı bildirilmiştir (34).

3.1.1.3.6. FİZİKSEL AKTİVİTE

Yüksek düzeylerde fiziksel aktivitesi olan kadınlarda meme kanseri riskinin daha az olduğuna dair deliller mevcuttur. Bale, koşma gibi ağır sporlar yapan kızlarda yapmayanlara göre primer ve sekonder amenore, gecikmiş menarş ve düzensiz siklusların görülme insidansı daha yüksektir (25).

Adelolan ve erişkin dönemde yapılan egzersizlerin meme kanseri riski üzerine etkisi araştırılmış ve 40 yaşın altındaki kadınlarda meme kanseri riskini azalttığı gösterilmiştir. Haftada 4 saat veya daha fazla egzersiz yapan kadınlarda kanser riskinin hiç egzersiz yapmayanlara göre %60 daha az olduğu bildirilmiştir (35).

3.1.1.4. MEMENİN SELİM LEZYONLARI

Bening meme hastalığına (BMH) sahip kadınlarda kanser olma riskinin genel topluma göre iki kat daha fazla olduğu bulunmuştur. Meme kanseri için en fazla risk altındaki kadınlar, kanallarda hiperplazi ile az veya çok atipi bulunan meme hastalıklı kadınlardır. Bu kadınlar için meme kanseri riski BMH 'sız kadınlara göre 2,6 kat daha fazladır. BMH'nin spesifik histolojik tipleriyle meme kanseri riski artabilir. Yalnız fibroadenoma artmış risk ile bağımsız olarak bulunmuştur. Ancak hem atipisi olsun yada olmasın epitelyal hiperplazisi olan kadınlar ve hemde fibroadenoması olan BMH'ı olan kadınlar yüksek riske sahip olduklarından izlenmelerinin gerektiği düşünülmüştür (36).

Tablo 2. Meme kanseri risk belirleyicileri (11).

	Yok/düşük	Yüksek
Cinsiyet	Erkek	Kadın
Yaş	30–34	70–74
Menarş yaşı	>14	<12
OKS kullanımı	Yok	Var
İlk doğum yaşı	<20	>30
Emzirme	≥16 ay	Hiç
Doğum sayısı	≥5	Hiç
Ooferektomi	<35	Yok
Menapoz yaşı	<45	≥55
HRT	Hayır	Evet
Obezite (Vücut kitle indeksi) ²	<22.9	>30.7
Radyasyona alma		
<19 yaş	Yok	Var
20–29 yaş	Yok	Var
>30 yaş	Yok	Var
Aile hikayesi		
Hiç	Yok	Var
Birinci derece akraba	Yok	Var
Anne veya kızkardeş	Yok	Var
İkinci derece akraba	Yok	Var
BRCA1/2 mutasyonu	Yok	Var
Plazma östradiol	Düşük	Yüksek

3.1.2. KLİNİK BELİRTİ VE BULGULAR

Meme kanserli kadınların %70'ine yakınında ilk bulgu memede bir kitlenin varlığıdır. Çoğu kez kitle ağrısızdır ve kadın tarafından rastlantı sonucu bulunur (1,5). Hastaların %8-10'nda ise kitle ağrılıdır. Genelde kitle serttir, hareketsizdir. Kitle ve ağrıdan başka memebaşı akıntısı, meme derisinde yada memebaşında retraksiyon, meme derisinde ödem, ülserasyon, eritem ve kol ödemi görülebilir (37).

Tablo 3.Meme kanserinin semptom ve bulguları (38)

Erken Hastalık	İlerlemiş Hastalık
Ele gelen kitle (%75)	Kitlenin göğüs duvarına yapışması
Memede ağrı	Kolun şişmesi
Meme başında akıntı, çekilme veya ülserasyon	Ülserasyon
Deri büzüşmesi, ödem veya eritem	Akciğer, kemik, karaciğer ve beyin uzak metastazları
Aksillada kitle	Kilo kaybı (tümör kaşeksisi)
Meme başında pullanma	Hiperkalsemi

3.1.3. MEME KANSER ÇEŞİTLERİ

Meme kanserlerinin morfolojik incelenmesindeki iki temel noktanın tesbiti çok önemlidir:

1- Tümörün memenin glandüler bölümünde sınırlı (in situ) ya da stromaya invazyon yapmış (invaziv) olması.

2- Tümörün duktal ya da lobüler tipte olması (39).

Meme malignansilerinin %95'ten fazlası epitelden kaynaklanır ve karsinom olarak sınıflandırılırlar. Non-invaziv tümörler daha önceden bulunan yapılarda (duktus ve lobül) etraftaki stromaya invazyon göstermeden tümör hücrelerinin proliferasyonu ile karakterizedir. Tümör hücreleri etraftaki stromayı invaze ederlerse invaziv karsinom olarak sınıflandırılırlar (37).

Meme kanserlerinin sınıflamasında en yaygın olarak kullanılan sistem Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından önerilen sistemdir (39).

1-Noninvaziv

a- İntraduktal karsinoma in situ

b- Lobular karsinoma in situ

2-İnvaziv

a- İnvaziv duktal karsinoma

b- İnvaziv lobular karsinoma

c- Müsinöz karsinoma

d- Medüller karsinoma

e- Papiller karsinoma

f- Tübüler karsinoma

h- Sekretuar(juvenil) karsinoma

i- Apokrin karsinoma

j- Metaplastik karsinoma

k- Diğerleri

3.1.3.1. NONİNVAZİV KANSERLER

Duktal karsinoma in situ (DCIS)

Memenin primer malign neoplazmıdır. DCIS tüm meme kanserlerinin % 0.8-5' ini oluşturur. Bu lezyonlar duktusun içerisinde çoğalarak duktus boyunca yayılırlar ve bazal membranı aşmazlar (40). Nadiren palpasyon bulgusu verirler. Tümöral epitel hücrelerindeki farklılıklara göre üç tipe ayrılırlar. Komedo, kribriform ve papiller tip. Komedokarsinoma en malign tiptir. 1980 li yıllardan önce (DCİS) olguları malign meme lezyonlarının % 3-5 ini oluştururken bugün bu oran % 20 nin üzerindedir. Bu artış tarama mammografilerinin yaygın kullanımına bağlıdır (5)

Lobüler karsinoma in situ

Klinik, mammografik veya makroskopik olarak bir belirtisi yoktur. Bazı araştırmacılara göre, gerçek kanser olarak kabul edilmemekte, daha ziyade prekanseröz lezyon olarak düşünülmektedir. Ancak, son yıllardaki çalışmalar bu lezyonun

karsinom olarak ilerlediğini ve kanser riskinin her iki memede de birbirine eşit olduğu gösterilmiştir. En fazla 44–47 yaşları arasında premenopozal kadınlarda görülür (41). Tüm kanserlerin % 1–6 sını noninvaziv kanserlerin % 30 unu oluşturur. Lobüler karsinoma in situ saptanan hastalarda infiltratif duktal ve infiltratif lobüler karsinom gelişme riski normal popülasyona göre 9 kat daha fazladır (5,41).

3.1.3.2. İNVAZİV KANSERLER

Malign hücrelerin meme stromasına invazyon gösterdiği tümörlerdir. Bu tümörlerde aynı zamanda in situ tümöral lezyon da bulunabilir.

İnfiltratif duktal karsinoma

Klasik invaziv duktal karsinoma meme kanserleri içinde en önemli bölümü oluşturur. Meme kanserleri arasındaki sıklığı ülkeden ülkeye değişmekle birlikte % 47-75 kadardır. Tipik olguda sert çevreden net bir sınırlama göstermeyen çevre meme dokusu içinde yıldızsı uzantılar oluşturur. Nekroza oldukça sık rastlanır. Tümörün stromasının çok bol olduğu durumlarda tümör çok sert olarak palpe edilir ve geleneksel olarak sert kıvamlı (skirro) kanserler olarak isimlendirilir (5,39).

İnfiltratif lobüler karsinoma

Tüm invaziv meme kanserlerinin %1 ile %14 arasında bir bölümünü oluşturur. Meme kanserinin özel bir morfolojik tipidir. Tanınmaları iki açıdan önemlidir.1- Bilateral olma oranları %20 olması 2- Aynı meme içerisinde multisantrik olma oranlarının duktal karsinomaya göre yüksek olması. Lobüler karsinoma in situnun önemi infiltratif karsinomaya dönüşebilme olasılığından dolayıdır (42).

Medüller karsinoma

Duktal tip kanserlere göre daha genç hasta grubunda görülür. 35 yaşından genç kadınlarda görülen meme tümörlerinin % 11' i meduller kanserdir. Düşük grade'li ve iyi prognozlu tümörlerdir (43).

Kolloid karsinoma (Müsinöz karsinoma)

Genellikle postmenopozal kadınlarda izlenen bu karsinom genellikle yavaş büyür. Diğer meme kanserlerine oranla daha yumuşak kıvamlı ve mukus içeriğinden

dolayı jelatine benzer kesit yüzüne sahiptir. Tümör yavaş büyür ve gelişir, prognozu iyidir ve lenf nodu metastazı hemen hiç görülmez (5,39).

Papiller karsinoma

Memenin papiller kanserlerinin çok büyük kısmı in situ yada önemli oranda in situ komponent bulunduran kanserlerdir. Nadir görülen tümörlerdir (44)

Tübüler karsinoma

Eskiden iyi diferansiye invaziv duktal karsinoma kategorisi içinde yer alan ayrı bir antite olduğu yakın zamanlarda tanımlanmış, nispeten iyi prognoza sahip bir karsinomdur. Pleomorfizm çok nadirdir ve mitoz çok azdır (44).

Adenoid kistik karsinom

Memede oldukça az olarak görülen bu tümör, tükrük bezinde görülen tümörün analogudur. Memede görüldüğünde son derece iyi prognozludur (37,39).

Sekretuar(juvenil) karsinom

Nadir görülen bu form primer olarak çocuklarda görülür ancak yetişkinler de de rastlanabilir.

Apokrin karsinom

Tamamen ya da büyük bölümü apokrin hücrelerden oluşan oldukça nadir görülen bir tümördür (39).

Metaplastik karsinom

Skumöz ve sarkomatöz metaplaziler en sık invaziv duktal karsinomlarda, primer meme sarkomlarında ve phylloid tümörde görülebilen yassı hücreli, spindle mezenşimal büyüme ile karakterizedir. Genellikle az diferansiye tümörlerde görülürler ve kötü prognoz gösterirler. Meme kanserlerinde metaplastik değişiklikler seyrekdir (44).

3.1.4. EVRELENDİRME

Amerikan Birleşik Kanser Komitesi (AJCC) ve Uluslararası Kanser Merkezi (UICC) 1998 yılında TNM evreleme sisteminde değişiklik yapılmasına karar vermiştir (45).

Tablo 4. Meme Kanserinde Yeni Evreleme Sistemi

Primer tümör(T)		Bölgesel Lenf Bezi(N)	
Tx	Değerlendirilemeyen primer tümör	pNx	Değerlendirilemeyen bölgesel lenf bezleri
T0	Primer tümöre ait bulgu yok	pN0	Bölgesel lenf bezi metastazi yok
Tis	Karsinoma insitu	pN0(i-)	Histolojik olarak bölgesel lenf bezi metastazi yok (-) IHK
Tis(DCIS)	Duktal karsinoma insitu	pN0(i+)	Histolojik olarak bölgesel lenf bezi metastazi yok (+)IHK ancak tümör infiltrasyon alanı ≤ 0.2 mm
Tis(LCIS)	Lobüler karsinoma insitu	pN0(mol-)	Histolojik olarak bölgesel lenf bezi metastazi yok (-) moleküler bulgular (RT-PCR)
Tis(Paget)	Meme başının Paget hastalığı	pN0(mol+)	Histolojik olarak bölgesel lenf bezi metastazi yok (+) moleküler bulgular (RT-PCR)
T1	Tm ≤2 cm çapında	pN1mi	Mikrometastaz (>0.2 mm, ≤ 2mm)
T1mic	Mikrovaziyon ≤0.1 cm çapında	pN1	1-3 aksiller lenf bezi tutulumu ve/veya klinik veya radyolojik olarak görüntülenmeyen, ancak sentinel lenf bezi disseksiyonunda saptanan lenf bezinde metastaz
T1a	Tm çapı >0.1 cm, ≤ 0.1 cm	pN1a	1-3 aksiller lenf bezi tutulumu ve klinik veya radyolojik olarak görüntülenmeyen, ancak sentinel lenf bezi disseksiyonunda saptanan lenf bezinde metastaz
T1b	Tm çapı >0.5, ≤1cm	pN1b	Klinik veya radyolojik olarak görüntülenmeyen, sentinel lenf bezi disseksiyonunda saptanan lenf bezinde metastaz
T1c	Tm çapı >1, ≤ 2 cm	pN1c	1-3 aksiller lenf bezi tutulumu ve klinik veya radyolojik olarak görüntülenmeyen, ancak sentinel lenf bezi disseksiyonunda saptanan lenf bezinde metastaz
T2	Tm çapı >2 cm, ≤1cm	pN2	4-9 aksiller lenf bezi metastazi veya aksiller metastaz olmaksızın lenf bezlerinde klinik + radyolojik olarak görüntülenebilen tutulum
T3	Tm çapı > 5 cm	pN2a	4-9 aksiller lenf bezi metastazi, en büyük tümör infiltrasyon alanı >2 mm
T4	Tümör herhangi bir büyüklükte olup aşağıdaki dokulardan herhangi birine direkt yayılım göstermiş a-göğüs b-cilt	pN2b	Aksiller metastaz olmaksızın lenf bezlerinde klinik + radyolojik olarak görüntülenebilen tutulum
T4a	Pektoralis kasi altında göğüs duvarına yayılım	pN3	≥10 aksiller lenf bezi metastazi veya infiltaryükler lenf bezi metastazi veya klinik + radyolojik olarak belirgin lenf bezi metastazi ve en az 1 aksiller lenf bezi metastazi veya sentinel lenf bezi disseksiyonu ile tanımlanan mikroskopik lenf bezi metastazi ve 3'ten fazla aksiller lenf bezi metastazi veya supraklaviküler lenf bezi metastazi
T4b	Oderin 'peau d'orange', cilt ülserasyonu, aynı memede satelit cilt nodülleri	pN3a	≥10 aksiller lenf bezi metastazi (en küçük tm infiltrasyon alanı >2 mm) veya infiltaryükler lenf bezi metastazi
T4c	T4a ve T4b	pN3b	Klinik + radyolojik olarak belirgin lenf bezi metastazi ve en az 1 aksiller lenf bezi metastazi veya sentinel lenf bezi disseksiyonu ile tanımlanan mikroskopik lenf bezi metastazi ve 3'ten fazla aksiller lenf bezi metastazi
T4d	Enfiamatuar karsinom	pN3c	Supraklaviküler lenf bezi metastazi
Bölgesel Lenf Nodları(N)			
Nx	Değerlendirilemeyen lenf nodları		
N0	Bölgesel lenf bezi metastazi yok		
N1	Hareketli aynı taraflı lenf bezi metastazi veya metastazları		
N2	Çevre dokulara yaygın ipsilateral aksiller lenf bezi metastazi veya aksiller metastaz olmaksızın klinik veya radyolojik olarak görülebilen ipsilateral lenf bezi metastazi		
N2a	Çevre dokulara yaygın ipsilateral aksiller lenf nodu metastazi		
N2b	Aksiller metastaz olmaksızın klinik veya radyolojik olarak görülebilen ipsilateral lenf bezi metastazi		
N3	Ipsilateral infiltaryükler lenf bezi metastazi veya klinik + radyolojik olarak görülebilen ipsilateral lenf bezi metastazi		
		Uzak Metastaz	
		Mx	Değerlendirilemeyen uzak metastaz
		M0	Uzak metastaz yok
		M1	Uzak metastaz var

3.1.5. TARAMA YÖNTEMLERİ

Meme kanseri taramasında, kendi kendini muayene, fizik muayene ve mamografi en sık kullanılan yöntemlerdir. Meme kanserinde mortalite oranını düşürmek ve uzun yaşam elde etmenin en etkili yolu erken tanı ve erken tedavidir (9). Meme kanserinin erken belirlenmesi için Amerikan Kanser Derneği 20-40 yaşlarında asemptomatik kadınların her 3 yılda bir hekim tarafından fizik muayene ve aylık kendi kendine muayene yapmalarını, 40 yaşından sonra ise her yıl memenin hekim tarafından muayenesi aylık kendi kendine muayene yapmaları ve yıllık mamografi yapmalarını önermişlerdir (46).

3.1.6. TANI

Günümüzde mamografinin meme kanserindeki asıl rolü, tarama amaçlı olarak kullanımınıdır. Bunun yanında, tanı konulmuş hastalarda tedavi planlanması için ve tedavi sonrası takipte kullanılan ana görüntüleme yöntemidir (47). Düzenli yapılan mamografi 0.5 cm'den daha küçük kanserleri tanımlayabilir. Mamografi negatif olsa bile, şüpheli bir kitle üzerinde biopsi yapılmalıdır (38).

Mamografide saptanamayan palpabl kitlelerde, ultrasonografi (US) ile kitlenin solid kistik ayrımı yapılabilir. Birçok çalışmada mamografide görülemeyip sadece ultrasonografi ile saptanan meme kanserleri bildirilmiştir. US ile görülebilen lezyonlardan biopsi ve işaretleme yapılabilir (48). Ayrıca, Dijital Mamografi, Manyetik Rezonans görüntüleme (MR) ve Pozitron Emisyon Tomografisi (PET) gibi yeni gelişen yöntemler meme kanserinin tanı, evreleme ve tedavi sonrası takibinde büyük rol oynayacaktır (48).

Memede oluşan lezyonların, özellikle meme kanserinin kesin tanısı ancak biopsi ile konur. Memede görülen selim lezyonların ve meme kanserinin büyük çoğunluğu kendisini bir kitle olarak ortaya koyar. Bu kitlenin tanısı için başvurulacak çeşitli biopsi yöntemleri vardır. Bunlar; İnce İğne Aspirasyon Biopsisi (İİAB), Kesici İğne Biopsisi, Ensizyonel biopsi ve Eksizyonel Biopsi yöntemleridir (38).

Metastaz açısından akciğer, kosta ve omurgayı değerlendirmek için göğüs radiografisi uygulanır. Karaciğer metastazını tanımlamak için abdominal bilgisayarlı tomografi (BT) ve karaciğer fonksiyon testleride yapılır (38).

3.1.6.1. Tümör Belirleyicileri ve Prognostik Faktörler

Meme kanseri hormona bağımlı kanserlerin tipik bir örneğidir. Bu tip tümörlerde en önemli prognostik faktörler hastalığın yayılımı (lokal, bölgesel veya uzak metastazlar), biyolojik profil, morfolojik özellikler (grade, tümördeki nekroz), östrojen ve progesteron reseptörlerinin durumu, hücrenin çoğalma potansiyeli, tümörün büyüklüğü, hastanın yaşı ve tümör belirleyicileri düzeyleridir. Son yıllarda bunların dışında bağımsız faktör olarak tümör baskılayıcı genlerde allel kayıpları (p53 gibi), proliferasyon belirleyicileri (S-faz fraksiyonu, Ki 67 ve TLI) de sayılmaktadır (49).

Metastatik yayılım, tümör belirleyicileri ve radyolojik araştırmalarla birlikte çok erken saptanabilir. Tümör belirleyicilerinin serum düzeylerinin artışı ancak 4–6 ay sonra radyolojik olarak tümör yayılımı tespit edilmiştir. Çoklu metastazlarda karsinoembriyonik antijen (CEA) ile birlikte yüksek Ca 15–3 değerinin artışı %67 oranındadır. Bu iki belirleyici birlikte kullanıldığında nüks ve metastazın belirlenmesi çok erken aşamada mümkün olabilir (5).

Meme kanserinin tedavisinde yanıtı, nüksü ve metastazı belirleyebilmek için CEA ve Ca 15-3 tümör belirleyicileriyle birlikte MCA, Ca 549, CAM 26 ve CAM 29 gibi müsinöz kökenli tümör belirleyicilerin serum düzeylerini tayin etmek hastaya mali külfet getirmekte, sensitivite ve spesifiteyi arttırmamaktadır (50).

Meme kanserlerinde hormon reseptörlerinin varlığı ve bunların prognoz ve tedavi ile ilişkili olduğunun anlaşılması önemli bir gelişme olmuştur (39). Östrojen reseptörleri (ER) ve progesteron reseptörleri (PR) sitozolde bulunur. Meme tümör dokusunda ER ve PR pozitif bulunması, hastalara hormon tedavisi açısından şans getirmektedir. ER ve PR negatif olduğu durumlarda hormon tedavisine alınan yanıt oranı %15'lerde iken hem ER hemde PR reseptörleri pozitif hastaların yanıt oranı %70-80 arasında gözlenmiştir (51).

3.1.7. Tedavi

Tedaviyi planlayan ekip; aile hekimi, cerrah, medikal onkolog, radyasyon onkologu ve yardımcı servislerden oluşmaktadır. Tedavi, hastanın yaşı, klinik durumu, tümörün boyutu, tipi, evresi ve tümörde östrojen reseptörleri bulunup bulunmamasına göre planlanır (52).

3.1.7.1. Cerrahi

Meme kanserinin en iyi bilinen tedavi yöntemidir (52). Meme koruyucu cerrahi: Tümör, çevresindeki bir miktar normal doku ile birlikte çıkarılır. Lumpektomi ve segmentektomi meme koruyucu cerrahinin iki yöntemidir. Her iki yöntemde de koltuk altı lenf nodları alınır.

Mastektomi: Meme tümüyle çıkarılır. Meme rekonstrüksiyonu isteniyorsa mastektomi ile aynı seansta veya daha sonrası için planlanabilir. Total mastektomi, radikal mastektomi ve modifiye radikal mastektomi yöntemleri bu gruptadır. Koltukaltı ve göğüs kasları üstündeki lenf nodları mastektomi ile birlikte çıkarılır.

Erken dönem meme kanserinde (2-2,5 cm den küçük lezyonlarda) sadece meme koruyucu cerrahi ve radyoterapi radikal mastektomi kadar iyi bir kür oranı sağlamaktadır (53).

Meme kanserli kadın cerrahide iki ana konuyla karşılaşır. 1) Tedavi 2) Figürün korunması. Aile hekimleri hastalarının vücutlarının önceki yapılarına, simetri ve görünümüne kavuşmaları konularında hastaları üzerinde emosyonel ve fiziksel olarak pozitif etkiye sahiptirler (54).

3.1.7.2.Radyoterapi

Özellikle meme koruyucu cerrahiden sonra tümör alanındaki artık kanser hücrelerini yok edebilmek amacıyla radyoterapi uygulanır. Büyük veya cerrahi olarak çıkarılması zor tümörlerde ise tek başına veya kemoterapi ve adjuvan tedavi ile birlikte radyoterapi verilerek tümör boyutunu küçültülmesi amaçlanır (52).

3.1.7.3. Kemoterapi

Nodal yayılım var ve sadece cerrahi ile yetinilirse 10 yıl içinde rekürrens oranının %90 olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle nodal yayılım varsa kemoterapi uygulanması önerilir. Birçok kemoteropötik ajan ve tedavi protokolleri kullanılır (55).

3.1.7.4. Adjuvant tedavi

Doğurgan çağıdaki kadınlarda meme kanserlerinin % 35'i östrojen bağımlıdır. Yani östrojene bağlı olarak tümörler büyürler. Tümörün bu büyüme potansiyelini durdurmak için anti östrojen ilaçlar verilir. En sık kullanılan ajanlar tamoksifen (non-steroid anti-östrojen, parsiyel östrojenik agonist), megestrol asetat (progestasyonel

ajan), leuprolide (anti-östrojen ajan)'dir. Tamoksifen ile tedaviye % 30-60 cevap alınır. Diğer yandan bu hastalarda östrojenin majör kaynağı olan overlerin de çıkarılması semptomları belirgin şekilde azaltır (52). Tamoksifen'in genellikle 5 yıllık bir uygulama protokolü vardır. Devam eden çalışmalar yüksek riskli kadınlarda tamoksifen kullanarak kanser riskini azaltmayı amaçlamaktadır (16).

3.1.8. Prognoz

En önemli prognostik faktör aksiller lenf nodlarında metastazın olup olmamasıdır.

Nod-negatif hastalıkta; 10 yıllık beklenen yaşam süresi %82-%65,

Nod-pozitif hastalıkta; 10 yıllık beklene yaşam süresi %40- %25'tir.

Nod-negatif kadınların tedavisinde, kemoterapi veya adjuvant terapi ya da her ikisi birlikte düşünülmektedir. Çünkü bunların %30'un da mikrometastaz olduğundan bu tedaviye iyi cevap verirler. Lenf nodlarının artışı ve nodların seviyelerinin derinleşmesi prognozu daha da kötüleştirir.

Prognostik olarak östrojen reseptörleri pozitif olan hastalarda prognoz daha iyidir. 2.5 cm den küçük tümöre sahip olanlar daha iyi durumda olabildikleri gibi, 1 cm'den daha küçük tümöre sahip olanlar 10 yıldaki rekürrens oranları %10'dan daha azdır (52).

İyi differensiyel tümörler kemoterapiye daha iyi cevap verirler. (Bunlarda tümör hücrelerinin bölünme yüzdesi daha düşüktür). Meme kanseri olan bir kadında teşhisten sonra;

- 5 yıllık beklenen yaşam süresi (survey) % 83,
- 10 yıllık beklenen yaşam süresi % 65,
- 15 yıllık beklenen yaşam süresi %15'dir.
- 45 yaşın altındaki kadınların 5 yıllık beklenen yaşam süresi daha düşük (%78),
- 65 yaşın ve üstü kadınları 5 yıllık beklenen yaşam süresi % 86 dır.

Meme kanseri lokal durumda yakalanır ise 5 yıllık yaşam beklentisi % 96'ya çıkar ve % 90'a yakınının 20 yıllık takiplerinde hastaliksız bir dönem söz konusu olabilir. % 58 meme kanseri hastası lokal evrede yakalanmaktadır. Hedef organın erken belirlenmesi ve kapsamlı bir tarama ile daha çok kadının bu grupta yer alması amaçlanmaktadır (56). Meme kanserindeki aile hikâyesinde anne ve kızkardeşte olması, çift taraflı ve menapozdan önce olması özellikle çok önemlidir. Histolojik tip ve sosyo-ekonomik durum da prognozda rol oynar (5).

3.2. Serbest Radikaller ve Reaktif Oksijen Türleri

Serbest radikaller, bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron ihtiva eden atom veya moleküllerdir. Orbitali doldurup stabil hale gelmek için başka elektrona ihtiyaç duyduğundan ortaklanmamış elektronlar serbest radikalleri oldukça reaktif hale getirir (57). Bu bileşikler organizmada normal metabolik yolların işleyişi sırasında oluştuğu gibi, çeşitli dış etkenlerin etkisiyle de oluşmaktadır. Yaşam süreleri çok kısa olmasına rağmen, yapılarındaki dengesizlik nedeniyle çok aktif yapıda olan serbest radikaller tüm hücre bileşenleri ile etkileşebilme özelliğine sahiptirler. Aerobik metabolizması olan memelilerde serbest radikaller başlıca oksijenden türemektedir (58).

Bilindiği gibi, oksijen canlıların yaşamlarını sürdürmeleri için mutlak gerekli bir elementtir. Hücre içinde çeşitli reaksiyonlardan geçerek su haline dönüşmektedir. Bu sırada hücre kendisi için gerekli enerjiyi sağlamaktadır. Fakat bu süreçte oksijenin %1-3'ü tam olarak suya dönüşemez, süperoksit anyonu ve hidroksil radikali oluşur (59).

Tablo 5.Reaktif oksijen partikülleri (60).

Radikaller	Radikal olmayanlar
Süperoksit anyon radikali($O_2^{\bullet-}$)	Hidrojen peroksit (H_2O_2)
Hidroksil (HO^{\bullet})	Singlet oksijen ($*O_2$)
Peroksil (ROO^{\bullet})	Ozon (O_3)
Alkoksil (RO^{\bullet})	Hipokloröz asit ($HOCl$)
Nitrik oksit (NO^{\bullet})	Lipid hidroperoksit ($LOOH$)
Semikinon radikali (HQ^{\bullet})	Peroksinitrit ($ONOO^{\bullet}$)
Hemoproteine bağlı serbest radikaller	Azot dioksit (NO_2)
Organik radikaller R^{\bullet}	N-halojenli aminler ($R-NH-X$)
Organik peroksit radikali $RCOO^{\bullet}$	Hipohalöz asit (HOX)

Serbest radikaller üç farklı şekilde oluşur:

1- Normal bir molekülün kovalent bir bağının her kısmında bir ortaklanmamış bir elektron kalacak şekilde homolitik parçalanması

2-Normal bir molekülün tek bir elektronunu kaybetmesi

3-Normal bir moleküle tek bir elektron ilavesi

Serbest radikaller pozitif yüklü veya elektriksel olarak nötral olabilirler.

Elektron transferi ile radikal oluşumu: $A + e^- \longrightarrow A^-$

Homolitik füzyonla radikal oluşumu: $X:Y \longrightarrow X^+ + Y^-$

Heterolitik füzyonla radikal oluşumu: $X:Y \longrightarrow X^- + Y^+$

Biyolojik sistemlerde elektron transferi ile radikal oluşumu homolitik füzyondan daha yaygındır. Homolitik füzyon; yüksek sıcaklık, ultraviyole ışığı veya iyonize radyasyondan elde edilecek enerjiye ihtiyaç duymaktadır. Heterolitik füzyonda ise serbest radikaller oluşmamakta ve ürün olarak sadece yüklü gruplar meydana gelmektedir (61).

Serbest radikallerin zararlı etkilerini engellemek üzere organizmada antioksidan savunma sistemleri veya kısaca antioksidanlar olarak adlandırılan çeşitli savunma mekanizmaları gelişmiştir. Serbest radikallerin ve antioksidanların düzeyleri arasında denge korunamadığı takdirde hücre hasarına kadar giden bir çok patolojik değişiklik ortaya çıkmaktadır (62).

3.2.1.Serbest Radikal Oluşumunu Artıran Faktörler

A. Eksojen Faktörler

1. Diyetel faktörler: Çok doymamış yağ asitlerince beslenme, alkol, fazla kalorili beslenme (obesite), hayvansal proteinlerce zengin beslenme, az sebze ve meyve yenmesi, yiyeceklerin uygun olmayan ortam ve koşullarda hazırlanması.
2. Çevresel faktörler: Sigara dumanı, hava kirliliği (O_3 , NO_2 , SO_2 , Hidrokarbonlar), radyasyon diğer kirleticiler (Asbest, pestisitler, vs.)
3. İlaçlar: Antikanser ilaçlar, glutatyon tüketen ilaçlar.

B. Endojen Faktörler

1. Fiziksel egzersiz / sedanter yaşam
2. Stres

3. Yaşlılık
4. Doku hasarı ve kronik hastalıklar (Ateroskleroz, kanser, kronik inflamasyon, iskemi-reperfüzyon hasarı gibi)
5. Diyetset antioksidan alınımını etkileyen koşullar (iştahsızlık, malabsorbsiyon, kolestaz) (58).

3.2.2. Süperoksid Radikali ($O_2^{\cdot-}$)

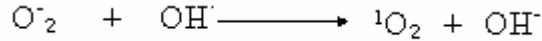
Zayıf reaktif bir serbest radikal olan süperoksid anyonu moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu meydana gelir. Süperoksid oluşumu özellikle mitokondri iç zarındaki solunum zincirinde elektrondan zengin aerobik ortamda spontan olarak meydana gelir. Süperoksid radikali ksantin oksidaz ve bir grup flovoenzimler tarafından oluşturulmaktadır. Diğer süperoksid üreten enzimler lipooksijenaz ve siklooksijenazdır. Fagositik hücrelerin NADPH bağımlı oksidaz enzim kompleksi fazla miktarda süperoksid radikali oluşturmaktadır. İki molekül süperoksid molekülü süperoksid dismutaz (SOD) tarafından hızla hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşür (63).

Ortamda biriken süperoksid radikallerinin girebileceği başlıca tepkimeler aşağıdaki gibi özetlenebilir (64):

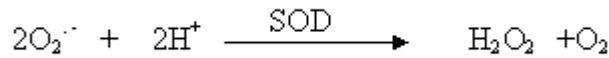
1. Ortamdan bir proton alarak perhidroksi radikali (HO_2^{\cdot}) oluşturabilir.
2. H_2O_2 ile tepkimeye girerek hidroksil radikali (OH^{\cdot}) ve singlet oksijen (1O_2) oluşturabilir.



3. Hidroksil radikali ile tepkimeye girerek singlet oksijen yapımına neden olur.



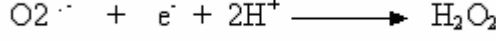
Serbest radikallere karşı organizmanın uzun süreli korumasız kalması bu maddelerin düşük konsantrasyonlarının bile biyolojik açıdan önemli moleküllerin tahribatı ile sonuçlanır ve sonuçta DNA'da mutasyona, doku tahribatına ve hastalıklara yol açar.



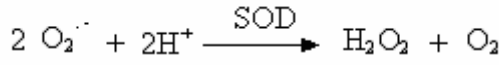
3.2.3. Hidrojen Peroksid (H₂O₂)

Hidrojen peroksit iki yol ile oluşur.

1- Oksijenin iki elektronla indirgenmesi sonucu H₂O₂ ortaya çıkar.



2- Biyolojik sistemlerde sıklıkla görülen süperoksidin üretimi yoluyla oluşmaktadır ve böylece iki süperoksid anyon radikali birbiriyle, hidrojen peroksit ve oksijeni verecek şekilde reaksiyona girerler (65).



Süperoksit radikallerinin temizlendiği bu tepkimeye dismutasyon tepkimesi denir. Bu reaksiyon SOD tarafından veya spontan olarak oluşabilir.

H₂O₂ bir serbest radikal değildir, fakat biyolojik membranlara kolaylıkla girebilmesinden dolayı oldukça önemlidir. Nötrofil fagozomlarında bulunan myeloperoksidaz enzimiyle çok reaktif serbest oksijen radikali olan HOCl oluşumuna sebep olur.



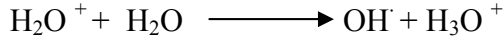
H₂O₂ geçiş metallerinin varlığında en önemli serbest oksijen radikali (ROS) olan OH[·] radikalinin oluşumunu sağlar. H₂O₂ 'nin diğer önemli bir görevinde intraselüler sinyal molekülü olarak rol almasıdır. H₂O₂ oluşuktan sonra katalaz, glutatyon peroksidaz ve peroksiredoksinler adında üç enzim sistemi tarafından uzaklaştırılır (63).

3.2.4. Hidroksil Radikali (·OH)

(·OH) biyolojik sistemlere diğer ROS'lardan daha fazla hasar veren, biyomoleküllerle reaksiyona girebilen güçlü bir radikaldir (63). Oluşması için ortamda geçiş metalleri gereklidir. 3 yolla oluşabilir.

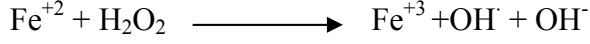
1- Radyasyon-Su



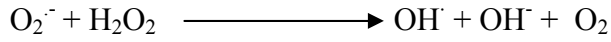


Radyasyon

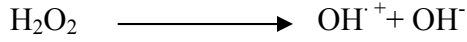
2- Fe- katalizli- Haber Weiss reaksiyonu (Fenton Reaksiyonu)



Katalize olmayan Haber Weiss reaksiyonunda ise, süperoksidin direk olarak hidrojen peroksitle reaksiyona girmesidir.



3- Hidrojen peroksidin fotolizi ile,



Fotoliz

OH[·] radikali canlı hücrelerde bulunan bütün moleküllerle reaksiyona girebilmektedir (61). Lipid peroksidasyonunu başlatabilir, DNA iplikçiklerinde kırılmalara neden olabilir ve hemen her organik molekülü, ayırım yapmadan okside edebilir (65).

3.2.5. Singlet Oksijen

Enerji absorpsiyonu ile oksijenin paylaşılmamış dış elektronlarını değiştirerek aynı veya farklı orbitale yerleşebilirler. Uyarılmış haldeki bu oksijene singlet oksijen denir. Reaktif olmayan ancak reaktif oksijen radikallerinden biri olan singlet oksijenin sigma ve delta diye iki tipi vardır (66). Sigma formu çok enerjik olduğundan yarı ömrü kısadır, hızlıca bozularak delta formuna dönüşür (67).

Singlet oksijen radyasyon sonucu oluşabileceği gibi *invivo* olarak sitokrom P-450, prostaglandin endoperoksit sentetaz ve miyelopereksidaz reaksiyonlarıyla da oluşabilmektedir. Karotenler, bilirubin, histidin, methionin, 2-5-difenilfuran, 1,4-diazbisikloalefan, singlet oksijeni temizlerler (66).

Singlet oksijen, DNA, RNA, proteinler, lipitler ve sterollerini kapsayan çok sayıda biyolojik hedeflerle reaksiyona girerek hücrede zararlı etkilere sebep olur (67).

3.2.6. Serbest Radikallerin Biyolojik Hedefleri

Serbest radikaller hücre ve dokularda birçok zarara yol açmaktadır. Bu zararlar şöyle sıralanabilir:

- a) DNA 'nın tahrip olması,
- b) Nükleotit yapılı koenzimlerin yıkımı,
- c) Lipid peroksidasyonu zar yapısı ve fonksiyonunun değişmesi,
- d) Enzim aktivitelerinde ve lipit metabolizmasındaki değişiklikler,
- e) Protein ve lipitlerle kovalan bağlantılar yapması,
- f) Zar proteinlerinin tahribi, taşıma sistemlerinin bozulması,
- g) Seroid ve yaş pigmenti denilen bazı maddelerin birikimi
- h) Proteinlerin tahrip olması ve protein " turnover" nin artması
- i) Tiollere bağımlı enzimlerin yapı ve fonksiyonlarının bozulması, hücre ortamının tiol/disülfid oranının değişmesi
- j) Kollagen ve elastin gibi uzun ömürlü proteinlerdeki oksido-redüksiyon olaylarının bozularak kapillerlerde atrofibrotik değişikliklerin oluşması
- k) Mukopolisakkaritlerin yıkımı şeklinde özetlenebilir (58).

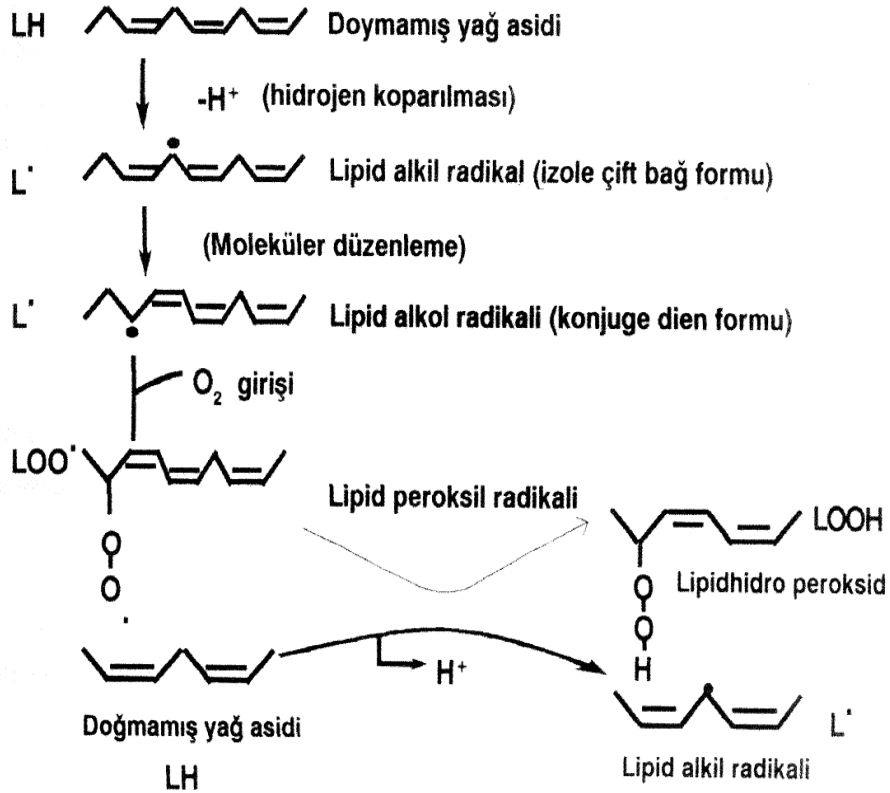
3.2.6.1. Serbest Radikallerin Membran Lipidlerine Etkileri

Biyomembranlar ve hücre içi organeller (mitokondri, endoplazmik retikulum), membran fosfolipidlerindeki doymamış yağ asitlerinin varlığı dolayısıyla oksidatif ataklara duyarlıdır (68). Membrandaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Poliansature yağ asitlerinin oksidatif yıkımı, lipid peroksidasyonu olarak bilinir ve oldukça zararlıdır. Çünkü kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler. Lipid peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür.

Lipid peroksidasyonu, organizmada oluşan bir serbest radikal etkisi sonucu membran yapısında bulunan poliansature yağ asidi zincirindeki α - metilen gruplarından hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlar (69). Biyolojik sistemlerde bu serbest radikalın süperoksit anyonu ve hidroksil radikali olduğu kabul edilmektedir. Lipid peroksidasyonunda asıl etkili radikalın (OH \cdot) olduğu benimsenmektedir.

Yağ asidi zincirinden hidrojen atomunun uzaklaşması, bu yağ asidi zincirinin radikal niteliği kazanmasına neden olmaktadır. Oluşan lipid radikali (L) dayanıksız bir bileşik olup bir dizi değişikliğe uğramaktadır. Öncelikle, molekül içi çift bağ aktarılması ile dien konjugatları oluşmaktadır. Daha sonra lipid radikalın oksijen ile reaksiyonlaşması ile lipid peroksit radikali (LOO[•]) meydana gelir. Bu radikalde zardaki poliansature yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumunu sağlamakta ve kendileride açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid hidroperoksitlerine dönüşmektedir. Böylece olay kendi kendini katalizleyerek devam eder (58,69).

Lipid peroksidasyonu, lipid hidroperoksitlerinin aldehit ve diğer karbonil bileşiklere dönüşmesi ile sona ermektedir. Bu bileşiklerden biri olan malondialdehit (MDA) miktarı, tiyobarbitürik asit testi ile ölçülmekte ve bu yöntem lipid peroksit düzeylerinin saptanmasında sıklıkla kullanılmaktadır. Peroksidasyon sırasında oluşan dien konjugatlarının ölçümü de, in vivo lipid peroksitlerinin düzeyini yansıtması açısından giderek önem kazanmaktadır. Lipid hidroperoksitlerinin parçalanması ile oluşan etan, bütan ve pentan gibi gazların tayini de, son yıllarda lipid peroksidasyon göstergesi olarak değerlendirilmektedir (70).



Şekil 1.Lipid peroksidasyonu.

Organizmadaki etkileri;

- a) Lipid peroksidasyonu sonucu membran akışkanlığı azalır ve normalde hücre içine geçemeyen maddelerin hücre içine girişleri artar.
- b) Lipid peroksitler ve alkoksil radikaller, triptofan ve sistein gibi protein kısımlarına ataklar yaparak protein yapısını bozar ve hasar meydana getirirler.
- c) Lipid peroksidasyonu sırasında aktiviteleri için sülfidril ve amino grubuna gereksinim duyan, özellikle hormonal uyarılara hücrenin cevap verme imkanı sağlayan yüzey reseptörlerini inhibe ederler (G6P-az ve Na-K ATP-az gibi)
- d) Hücre membranına yakın yerleşimdeki DNA molekülleri de lipid peroksidasyonundan hasar görürler ve bazen DNA'nın replikasyonu yapılamaz.
- e) Bazı aldehitler biyolojik sıvılarda kemotaktik etki gösterirler.
- f) MDA gibi aldehitler, LDL'yi modifiye ederek metabolik yolu değiştirebilirler (68).

3.2.6.2. Serbest Radikallerin Proteinler Üzerine Etkileri

Serbest radikaller bazı aminoasitlerle reaksiyona girerek enzimlerin aktivitelerini ortadan kaldırarak modifiye, fonksiyon görmeyen proteinlerin oluşmasına sebep olmaktadır. En çok sorumlu tutulan aminoasitler sülfür içerenlerdir (63). Triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin gibi halkalı amino asitler oksidasyona en fazla maruz kalmaktadırlar. Oksidasyon sonucu proteinlerin sekonder ve tersiyer yapılarında oluşan değişiklikler fonksiyonlarını etkilemektedir. Enzim veya reseptör fonksiyonuna sahip membran proteinleri, özellikle serbest radikallerin modifikasyonuna duyarlı oldukları için protein oksidasyonu ile önemli hücresel ve membran fonksiyonlar bozulmaktadır. Protein yapısındaki hasarın gösterilmesi için, protein karbonillerinin belirlenmesi yaygın olarak kullanılan bir göstergedir (69).

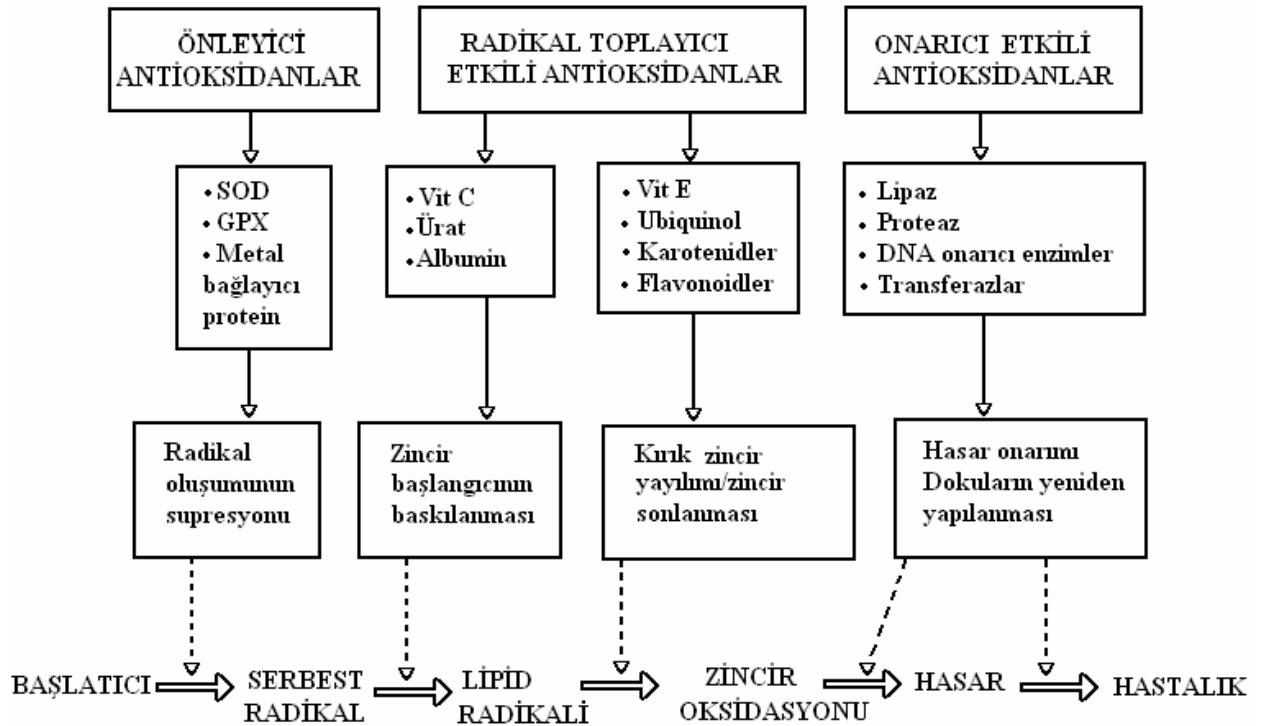
3.2.6.3. Serbest Radikallerin DNA Üzerine Etkileri

Serbest radikaller DNA'nın kimyasal modifikasyonu ile mutagenik etkilerini göstermektedir. Özellikle OH[•] radikali, serbest radikallerin sebep olduğu bir takım değişimlere (DNA ayrılması, DNA-protein çapraz bağlanımı, pürinlerin oksidasyonu gibi) sebep olmaktadır. DNA onarım sistemi hemen DNA'yı rejenere etmezse

replikasyon sırasındaki yanlış baz çifti mutasyonla sonuçlanacaktır. Bu mekanizma oksidatif strese maruz kalmış kişilerdeki artmış kanser prevalansını açıklamaktadır. Serbest radikal vasıtasıyla oluşan apoptozis bazı vakalarda serbest radikale bağlı DNA hasarının bir parçasıdır (63).

3.3. ANTIÖKSİDANLAR

Vücutta serbest radikaller meydana geldiğinde organizmayı oksidatif stresten korumak için antioksidan sistem devreye girer. Birinci defans hattını, peroksidaz ve metal bağlayan proteinlerin süpresyonu ile serbest radikallerin meydana gelmesini önleyen antioksidanlar oluşturur. İkinci defans hattını, Vitamin C ve vitamin E gibi radikal temizleyici antioksidanların zincir oksidasyonunun başlamasını inhibe etmesi ve zincirleme reaksiyonların yayılımını önlemesi oluşturmaktadır. Üçüncü olarak hasarı onarma ve eski haline getirmeye çalışan onarıcı ve yeniden yapılandırıcı enzimler (lipazlar, proteazlar, DNA onarıcı enzimler ve tranferazlar gibi) defansta rol alırlar (57).



Şekil 2. Antioksidan gruplar ve görevleri (57).

3.3.1. Antioksidan Enzimlerin Sınıflandırılması

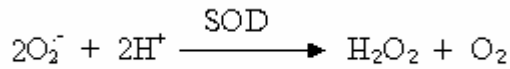
Antioksidanlar çeşitli kriterlere göre gruplandırılabilirler:(62)

1. Yapılarına göre
 - a.Enzim karakterli antioksidanlar
 - b.Enzim karakterli olmayan, küçük moleküller
2. Kaynaklarına göre
 - a.Organizmaya ait olanlar (endojen antioksidanlar)
 - b.Dışardan alınanlar (eksojen antioksidanlar)
3. Çözünürlüklerine göre
 - a.Suda çözünenler
 - b.Lipidlerde çözünenler
4. Yerleşimlerine göre
 - a.Hücre içinde bulunanlar
 - b.Plazma ve diğer ekstraselüler sıvılarda bulunanlar

3.3.2. Enzim Karakterli Antioksidanlar

3.3.2.1.Süperoksid Dismutaz (SOD, EC 1.15.1.1.)

Oksijeni metabolize eden bütün hücrelerde bulunan SOD, süperoksidin H₂O₂ dismutasyonunu katalizleyen bir metalloenzimdir (60).



SOD'ın diğer bir görevi de serbest radikalleri inaktive ederek dehidratazları korumasıdır.

Dört çeşit SOD tanımlanmıştır.

1- Mangan içeren dismutaz (Mn SOD): Homotetramer yapıdadır. Mitokondrideki solunum zinciri ve oksijen radikalinin major kaynağıdır. Mn-SOD süperoksit radikalini uzaklaştıran primer antioksidan enzimdir. Fe-SOD ile homologtur.

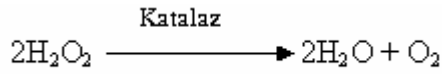
2- Bakır ve çinko içeren dismutaz (Cu/Zn SOD): 32 kDa ağırlığında dimerik yapıdadır. Sitoplazmada bulunur.

3- Ekstraselüler dismutaz (EC-SOD): İnterstisyel alanda ve plazma, lenf ve sinovial sıvılarda bulunan tetramerik yapıda bakır ve çinko içeren bir enzimdir.

4- Nikel içeren dismutaz (Ni-SOD): Streptomyces sp ve Streptomyces coelicolor'un sitozolik fraksiyonundan saflaştırılmıştır. Aminoasit kompozisyonu diğer SOD'lardan farklıdır. Siyanid ile inhibe olmaktadır (71).

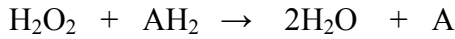
3.3.2.2. Katalaz (EC, 1.11.1.6)

Katalaz 60 kDa ağırlığında 4 aynı yapıda tetrahedral subunitler içeren hemenzimdir. 240 kDa molekül ağırlığında her molekülde 4 adet ferriprotoporfirin içerir. Katalaz, hidrojen peroksidi oksijen ve suya parçalayan reaksiyonu katalizler (71).

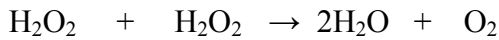


Katalaz, peroksizomlarda yerleşmiş olup kan, kemik iliği, müköz membranlar, karaciğer ve böbrekte yüksek miktarlarda bulunmaktadır.

Katalaz düşük hızlarda hidrojen peroksitin olduğu durumlarda veya ortamda yüksek miktarda elektron alıcısı bulunduğunda peroksidatif tepkime ile,

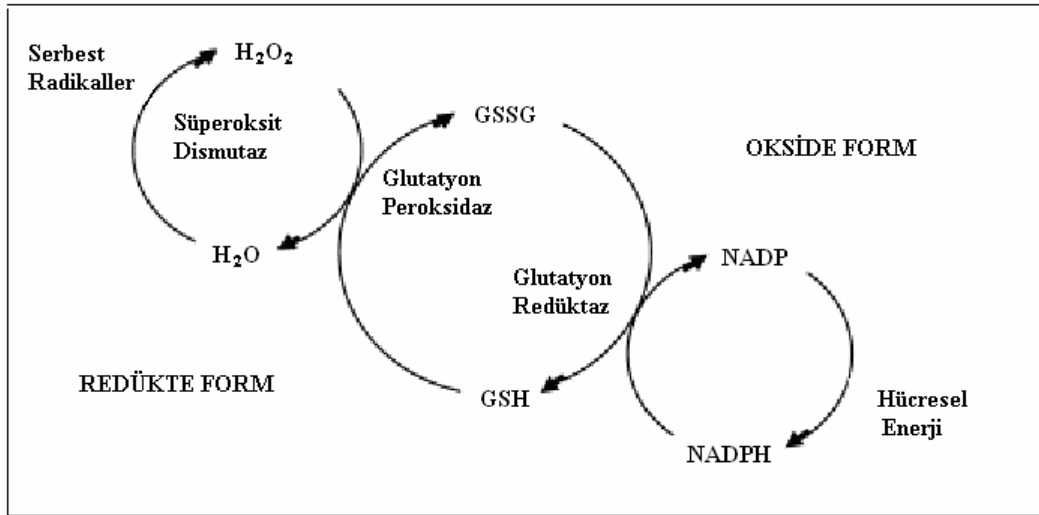


Hidrojen peroksid oluşum hızının yüksek olduğu durumlarda ise katalitik tepkimeyle hidrojen peroksidi suya dönüştürerek ortamdan uzaklaştırmaktadır (60).



3.3.2.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px, EC 1.11.1.9) ve Glutasyon Redüktaz

Glutasyon peroksidaz, glutasyon tarafından hidroperoksitlerin (ROOH ve H₂O₂) indirgenmesini sağlayarak, memeli hücrelerini oksidatif hasara karşı koruyan selenyum içeren bir enzimdir. (71). Glutasyon peroksidaz enziminin selenyuma bağlı ve bağımsız 2 izomeri mevcuttur. Selenyuma bağlı izoenzimi selenosistein formunda bulunmaktadır. Bu enzim hem hidrojen peroksiti hem de organik peroksitleri (örneğin, kümen hidroperoksit) kullanabilir. Selenyumdan bağımsız GSH-Px ise, hücrenin mitokondri (%30) ve sitozol (%70) fraksiyonlarında lokalize olup, yalnızca lipid hidroperoksitlerini metabolize edebilmektedir (72).



Şekil 3. Glutatyon döngüsü.

H_2O_2 , suya indirgenirken glutatyon (GSH), glutatyon disülfide (GSSG) yükseltgenir. Antioksidan defans sistemini normal işleyişi sırasında indirgenmiş GSH, hidrojen peroksiti GSH-Px ile detoksifiye eder. Ayrıca Glutatyon redüktazda, hidrojen peroksiti GSH'a dönüştürerek hidrojen peroksidin detoksifikasyonuna katkıda bulunmasından dolayı önemlidir. Glutatyon redüktaz oksitlenmiş NADPH'ın elektronunu kullanarak GSSG'yi GSH'ye çevirir. H_2O_2 'nin detoksifikasyonunun devamı için NADPH'ın sağlanması gereklidir (73).

3.4. Total Antioksidan Kapasite:

Antioksidan kapasite biyolojik sistemlerdeki 4 genel antioksidan kaynağı açıkça ortaya koymaktadır.

- 1- Enzimler: (örneğin, SOD, GPx ve katalaz)
- 2- Büyük moleküller: (albumin, seruloplazmin, ferritin ve diğer proteinler)
- 3- Küçük moleküller: (askorbik asit, glutatyon, ürik asit, tokoferol, karotenoidler, polifenoller)
- 4- Bazı hormonlar: (östrojen, anjiyotensin, melatonin vs.) (74).

Antioksidan kapasite (AC) ölçümü plazma ve vücut sıvılarında bulunan bütün antioksidanların kümülatif etkisini yansıtmaktadır. Böylece ölçülebilen antioksidanların ayrı ayrı toplamından daha bütün bir değerdir. Bilinen ve bilinmeyen antioksidan

kapasiteyi ve sinerjik etkileşimi ölçtüğünden dolayı *invivo* oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki hassas dengeyi kavramayı sağlar. Plazma AC ölçümü insanlarda fizyolojik, çevresel ve beslenme faktörlerinin redoks durumunu değerlendirmeye yardım eder. Plazma AC'nin tespiti *invivo* oksidatif durumun değiştiği durumları ayırtetmeye yarar (ROS'a maruz kalma ve antioksidan alımı). Bitkisel antioksidan alımı veya antioksidandan zengin yiyeceklerin alımından sonra plazma AC'deki değişiklikler besinsel bileşimlerin biyoyararlanımı ve absorpsiyonu hakkında bilgi sağlayabilir. Hücrelerin AC'si başlıca enzim sistemini yansıtırken plazma ise dietsel orjinli küçük molekül ağırlıklı antioksidanları yansıtır. Plazma AC hem radikal fazla yüklenimini hem de dietsel antioksidan alımını düzenler ve tek seçilmiş antioksidan konsantrasyonuna göre *invivo* oksidasyon ürünleri ve antioksidanlar arasındaki dengeyi daha fazla temsil ettiği kabul edilmektedir (75).

Geleneksel antioksidan kapasite ölçümleri primer olarak plazmadaki aköz kompartmanın antioksidan kapasitesini ölçmektedir. Bu nedenle başlıca askorbik asit, ürik asit ve protein tiolleri gibi suda çözünen antioksidanlar bu ölçümü etkilemektedir. Fakat tokoferol ve karetenoidler gibi yağda çözünen antioksidanlar küçük bir role sahiptir. Ancak plazmanın hidrofilik ve lipofilik kompartmanlarında lokalize olmuş antioksidanlar arasında etkileşim vardır. Lipit kompartmanının sebep olduğu radikalleri ve proteinin etkilerinin maskelenmesini önlemek için lipit peroksidasyonunu izlemek ve lipolik antioksidanlar ile aktif olarak etkileşen yağda çözünen antioksidanlara ek olarak suda çözünen antioksidanları da açığa çıkarmak için yeni yaklaşımlar geliştirilmiştir (76).

3.5. Serbest Oksijen Radikallerinin Kanserle İlişkisi

Serbest oksijen radikallerinin (ROS) fazla oluşumu veya antioksidan korunma ve onarım mekanizmalarının yetersizliği sonucunda oksidatif stres gelişebilir. Bunu geriye dönüşümlü veya dönüşümlü olmayan hücre hasarı izler. Oksidatif stres DNA'da mutajenik değişikliklere neden olmuşsa hücre malign özellikler kazanır. Son yıllarda yapılan birçok çalışmada ROS'un gerçekten karsinojen olduğu gösterilmiştir. Kanser başlama ve gelişmesi basit olarak üç evrede incelenmiştir (16, 77).

1- Başlama(Initiation) 2- Gelişme (Promotion) 3- İlerleme (Progression)

Serbest radikallerin karsinogenezin her üç evresinde de etkili olduğu ancak ilerleme safhasında daha belirgin olduğu gösterilmiştir. Başlama evresi tek başına kansere neden olamaz. Promatörler uyarılmış hücreyi stimüle ederek kanser hücresine çevirebilirler ve bu etkinin reversibl olduğu düşünülmektedir (77).

3.5.1.Oksidatif Stresin Tümör Başlamasındaki Rolü

Oksidatif strese bağlı kanser oluşumunun ilk basamağıdır. OH[•] radikali DNA hasarı yoluyla modifiye pürin ve pirimidin bazları oluşumuna sebep olur. Hergün insanlardaki normal hücrelerdeki her DNA molekülünün 106 bazının oksidatif darbeye maruz kaldığı tahmin edilmektedir. Serbest radikallerle oluşan endojen DNA hasarı yaşa bağlı kanser oluşumuna neden olmaktadır (57).

DNA modifikasyonları: Oksidatif DNA hasarı kimyasal veya yapısal olabilir. Kimyasal modifikasyon her zaman yapısal değişikliğe neden olur. Bunlar DNA baz modifikasyonları ve DNA heliks değişiklikleri olarak görülebilir (77).

DNA baz modifikasyonları: Çeşitli kanser türlerinde ROS artışına bağlı DNA modifikasyonları bulunmuştur. Örneğin OH[•] radikali DNA'nın bütün komponentleri ile deoksiriboz iskeleti, pürin ve pirimidin bazları ile reaksiyona girebilir. Adenin ve guanine etkisi sonucu halkada açılma, replikasyonda blok oluşması ve sonuç olarak nokta mutasyonuna yol açar.

DNA'da en sık rastlanan oksidatif baz modifikasyonu 8-hidroksi-2'-deoksiguanazinin (8-OHdG) dir. Oksidatif stres için güvenilir bir belirteç olduğu düşünülmektedir. Serbest radikallerle oluşan DNA hasar ürünlerinden 5-hidroksimetilurasil, 8-OHdG, ve DNA oksidasyon ürünleri çeşitli çalışmalarda ölçülmüştür.

Hücre bölünmesini bloke eden p53 tümör supresör genindeki mutasyon, kanser gelişiminde önemli bir faktördür. P53 geni inaktive olduğunda hücre siklusuna hasarlı DNA ile girer (57). Bunun sonucunda ROS ilgili nokta mutasyonları sonucu onkogenlerin aktivasyonu ile karsinogenezdeki ilk adım başlar. Bunlar aynı zamanda son safha olan ilerleme döneminde de etkilidirler.

DNA heliks değişiklikleri: DNA heliksindeki değişiklikler heliksin kıvrılması, tek veya çift iplik kırılması, iplikler arası çapraz bağlar ve kromozomal değişiklikler sayılabilir (78). Tek veya çift iplik kırılması serbest radikal etkisiyle oluşabildiği gibi ROS ile ilgili enzimatik DNA bölünmesinin uyarısı ile de olabilir (77).

3.5.2. Oksidatif Stresin Tümör Gelişmesindeki Rolü

Serbest oksijen radikallerinin neden olduğu mutasyon, kanserin başlama ve ilerlemesine neden olduğu gibi, oksidatif stres mutant hücre klonlarının yayılmasına ve proliferasyonuna ve hücre ölümüne de neden olur. Son çalışmalar, ROS'nin benign tümörleri malign tümörlere dönüştürürken kanserin evresini de ilerlettiğini göstermiştir (79).

Ca²⁺ aracılığı ile tümör gelişmesi (Promotion): Kalsiyum homeostazının serbest radikaller tarafından bozulması da karsinogenezde önemli rol oynar. Hücre zarının normal yapısının serbest radikal etkisi sonucu bozulması hücre içi kalsiyum miktarının artmasına sebep olur (69).

Oksidanlar Ca²⁺ bağlı epigenetik yolu uyarırlar. Bunu polipeptid büyüme faktörlerini ve hormonları kullanarak hücre replikasyonunu uyarmakla sağlarlar. Protoonkogenlerin aktivasyonu olur, örneğin protoonkogen C-FOS'un düşük doz ROS ile indüksiyonunun sitolitik Ca²⁺ aracılığı ile geliştiği gösterilmiştir (80). Kalsiyum-kalmodulin etkileşimi birçok protein kinaz enzimini aktive eder. Protein kinazlar da S6 kinazı aktive ederler. Hem protein kinaz hem de S6 kinazlar çeşitli fosforilasyon yollarıyla transkripsiyon faktörlerinin aktivitesini regüle ederler ve bu şekilde ROS'nin hücre proliferasyonuna olan etkilerinin başlatmasına aracı olurlar (69, 77).

Tümör gelişmesinde diğer mekanizmalar:

Çok sayıda genin aktivitesi redoks reaksiyonları ile kontrol edilir. Serbest radikaller de redoks reaksiyonlarını başlattıklarından dolayı oksidatif stres, bazı genlerin aktifleşmesine sebep olur. Böylece serbest radikaller onkogenleri aktive ederek hücre çoğalmasını arttırırlar. Nitekim hücre çoğalması ve farklılaşmasında rol alan transkripsiyon faktörlerini kodlayan c-fos, c-myc, c-jun ve b-aktin genleri ile bir transkripsiyon faktörü olan NF_kB geni serbest radikaller tarafından aktifleştirilirler (69).

Oksidanların kanser oluşturma özelliği hücre replikasyonunu ve DNA sentezini artırabilme yeteneklerine bağlı gibi görülmektedir. Oksidatif strese bağlı tümör geninin gelişmesinin hücrenin antioksidan kapasitesinin artırılmasıyla durdurulabileceği ileri sürülmektedir (81).

3.5.3. Oksidatif Stresin Tümör İlerlemesindeki Rolü

Tümör hücrelerinde ROS oluşumunun artması, oksidatif stresin kalıcı ve devamlı olmasını sağlayarak genomik stabil olmayan durumu arttırır (81). ROS ile genomik instabilitede sonucu oluşan TP-53 genindeki mutasyon insan kanserlerinde en sık rastlanandır. P53 'ün esas fonksiyonu karsinogenezde ROS'a karşı koruyucu olmasıdır. P53 proteini onkogen ürünlerini bağlayarak bazı tümörlerin oluşumunu geciktirebilir (77). Oksidatif stres, yüksek invaziv ve metastatik kanser hücrelerinin proliferasyon ve apoptozisinin devamını sağlar. Bu hücreler, kanser hücrelerinin devamlılığında sinyal molekülü olan hidrojen peroksitin büyük miktarlarda oluşumunu sağlar. Antioksidanlar, hidrojen peroksit sinyal molekülünü ve kanser hücre proliferasyonunu suprese ederler (82).

3.6. ISIRGANOTU VE GENEL ÖZELLİKLERİ

Birçok kanser hastası medikal tedaviye ek olarak tamamlayıcı veya alternatif tedavileri de kullanmaktadır. Alternatif tedavi sekiz katerogide özetlenmiştir: 1-Diet, 2-Beslenme, 3-Zihin-vücut teknikleri, 4-Bioelektromagnetikler, 5-Geleneksel halk ilaçları, 6-Farmakolojik ve biyolojik tedaviler, 7- Elle iyileştirme metodları ve 8- Şifalı bitkiler.

Şifalı otlar bazı kültürlerde yüzyıllardan beri kullanılmaktadır. Şifalı ot kombinasyonları geleneksel Türk tedavilerinin can alıcı kısmını oluşturmaktadır. Şifalı otlardan başlıca ısırganotu kanser hastalarında en sık kullanılan ilaçtır. Kökleri ve yaprakları genellikle kaynatıldıktan sonra kullanılmaktadır (83). Isırganotu Urticaceae (nettle) ailesinden olup dünyada ılıman bölgelerde yetişen yabani bir ottur. Isırganotu; kök ve tohumdan çoğalan yavaş yayılan yıl boyunca sürekli bulunan bir bitkidir. Yaprakları ve gövdesi yakıcı tüylerle kaplanmıştır. Taze ısırgan otunun yakıcı tüylerine dokunulduğunda deride asetilkolin, histamin, 5-hidroksitriptamin ve serotonin salınımına sebep olarak yakıcı etki gösterir (84).

3.6.1. ISIRGAN OTUNUN İÇERİĞİ

Isırgan otu; formik asit, yüksek oranlarda klorofil, flavonoidler, bitki steroller, bitki enzimleri, fenilpropanlar, kumarinler, terpenoidler, potasyum tuzları, vitamin C, polisakkaritler, bitki lignanları ve köklerinde küçük molekül ağırlıklı lektin (Urtica

dioica aglutinin(UDA)) içermektedir (83,85). Yapılan bir çalışmada ısırgan otundaki Ca miktarı, bulunması gereken referans değerden dört kat fazla bulunmuştur (86). Isırgan otunda kolin, asetilkolin ve serotonin gibi kolin asetiltransferazın varlığı da gösterilmiştir.

Bitkinin köklerinden elde edilen aköz metanolik ekstraktta 7 tane flavonol glikozidleri (kaempferol-3-glukozid ve -3-O-rutinoside, kuarsetin-3-O-glukozid, ve -3-O-rutinoside, isorhamnetin-3-O-glukozid, -3-O-rutinoside ve -3-O-neohesperidoside) izole edilmiştir. Bitkide rutin ve isokuersitrin ile birlikte kaffeoil malik ve klorogenik asitte mevcuttur (84).

3.6.2. ISIRGAN OTUNUN ETKİLERİ VE KULLANIM ALANLARI

Anti-inflamatuar etki: Deneysel çalışmalarda ısırgan otunun anti-enflamatuar etkisi gösterilmiştir. Ekstrakt kısmen 5-lipooksijenazın aktivitesini inhibe etmekte ve siklooksijenaz sentez reaksiyonlarında doz bağımlı inhibisyon göstermektedir (87).

Isırgan otunun hem yaprakları hemde köklerinin, $TNF\alpha$, $IL-1\beta$ gibi proenflamatuar sitokinlerin aşırı stimülasyonunu önlediği gösterilmiştir. Sitokinler immun sistemin mesajcıları olarak düşünülebilir. Gerçektende hemen hemen bütün immun bozukluklarda (HIV'dan, kansere ve otoimmun hastalıklara kadar) alerjik durumlarda (astım gibi) ve obezite/insülin rezistansında metabolik düzeyde fonksiyonel düzensizliğin bir parçası olarak karakteristik olarak sitokin düzeylerinde dengesizlik vardır (88).

Anti-viral ve immun denge: Isırganotu kökünden UDA (Urtica dioica agglutinin) süper lektin denen küçük molekül ağırlıklı lektin elde edilmiştir. UDA N-asetilglukozamin spesifik lektin olarak kabul edilmektedir. Bu süper lektinin HIV, soğuk algınlığı ve influenzadan sorumlu virusleri inhibe ettiğine dair kanıtlar mevcuttur (89).

Ayrıca UDA T hücre sitümülanıdır. $CD4+$ ve $CD8+$ T-hücrelerinin her birini ayırtedebildiği gibi T hücre aktivasyonu ve sitokin üretimine neden olabilme kapasitesinden dolayı diğer klasik T hücre stimülanlarından farklıdır. Isırganotundaki süper lektin dengelyi korumak için immun sistemi stimüle etmektedir (90).

UDA süper lektinin deneysel oluşturulan sistemik lupus erimatosuslu ratlarda progresyonu önlediği gösterilmiş ve çalışmada UDA-lektinin lupus ve nefritin açık klinik belirtilerinin gelişmediği gözlenmiştir (91).

Aköz kök ekstraktından izole edilen polisakkaritler *invivo* olarak hem T lenfositleri hemde kompleman sistemi sitümüle etmektedirler. T lenfositler üzerine izolektin karışımının doz bağımlı immunmodülatör aktivitesi ve ısırgan otu aglutininin direkt hücre proliferasyonunu inhibisyonu antiprostatik aktivitenin görülmesine sebep olmaktadır (86).

Antioksidan etkileri: Isırgan otu yaprak ekstraktlarının lipid peroksidasyonu üzerine belirgin inhibitör etkileri gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada ısırgan otunun, serbest radikal oluşumunun bir belirleyicisi olan MDA'nın, yükselmiş düzeylerini azaltması bir antioksidan adayı olabileceğini göstermiştir. Yine bir çalışmada ısırgan otu ekstraktının serbest radikal oluşumu üzerine etkili azaltıcı gücü ve metal şelatör aktivitesi olduğu gösterilmiştir. Linoleik asit peroksidasyonunda ısırgan otu ekstraktlarının ilaç olarak verilmesi α -tokoferolden daha fazla antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirtilmiştir (92).

Isırgan otunun aköz ekstraktından çok sayıda flavanol glikozidler izole edilmiştir (86). Flavonoidler; antioksidan, antikanser (kuersetin p53 mutant geninde down-regülasyon yapar), antiinflamatuvar, antibakteriyel, immun stimulan, antiallerjik, östrojenik, antifosfolipaz A₂, siklooksijenaz ve lipooksijenaz inhibitör görevleri vardır (93). Bazı araştırmacılar birçok bitki türündeki total fenol ile antioksidan aktivite arasında pozitif bir bağlantı olduğunu açıklamışlardır. Fenoller hidroksil gruplarından dolayı temizleme yeteneğine sahiptirler. Isırgan otu ekstraktında fenollere denk olan pirokatekol varlığı gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada fenolik komponentlerin antioksidan aktivitesinin olduğunu ve lipid peroksidasyonunu durdurduğunu belirtmişlerdir (92). Polifenollerin günlük 1gr'ın üzerinde sebze ve meyvelerden zengin diyetlerle alınmasının mutagenез ve karsinogenezi inhibe ettikleri savunulmaktadır (94). Isırgan otu yaprak ekstraktı etkili bir şekilde transkripsiyon faktör NF- κ B'yı inhibe eder. Bunu ısırgan otu ekstraktının T hücreleri, makrofajlar fibrosarkoma ve epitel hücreleri gibi değişik hücre tiplerindeki inhibitör etkilerinin NF- κ B yolundaki ortak hedefi engelleyerek ortaya çıkardığı sanılmaktadır. Isırgan otu ekstraktı lipooksijenazdan kaynaklanan enflamasyon ürünlerinin oluşumunu önleyerek inhibitör I κ B- α 'yı stabilize etmektedir. Ayrıca ısırgan otunun antiinflamatuvar etkilerinin NF- κ B

aktivasyonunun üzerine inhibitör etkilerinden dolayı olduğu sanılmaktadır. Ek olarak NF-κB aktivasyonunun önlenmesi antioksidan etkilerin ortaya çıkışından sorumlu olabileceği ileri sürülmüştür (95).

Isırgan otu ekstraktının, primer antioksidanlar gibi serbest radikallere karşı serbest radikal inhibitörü ve temizleyicisi olarak görev yaparak vücudu zararlı etkilerden koruduğu gösterilmiştir. Ayrıca ekstraktın belirgin indirgeme kapasitesinin olması potansiyel antioksidan aktivitesini sağlamaktadır (94).

Bening prostat hipertrofisi ve Prostat kanseri: Isırganotu köklerinin kaynatılması ile elde edilen çayın, bening prostat hipertrofil hastaların yaşam kalitesini artırması poliüri ve nokturiyi azaltmasına bağlı olduğu gösterilmiştir. UDA gibi kökteki bileşimler prostat hücrelerinde membran Na⁺ -K⁺ -ATPazını inhibe ederek prostat hücre metabolizma ve büyümesini süprese etmektedirler. Bu lektin immunstimulasyon aktivite göstermekte ve epidermal büyüme faktör reseptörü ile etkileştiği varsayılmaktadır (96).

Isırganotunun köklerinden elde edilen %20 metanolik ekstrakt, prostat büyümesini %51.4 inhibe ettiğinden en etkili ekstraktır. Bu ekstraktın prostat epitel hücre ve stromal hücrelerin proliferasyonunu açıkça azalttığı gösterilmiştir (96, 97).

Köklerden elde edilen aköz ekstrakt doz bağımlı olarak insan prostat membranlarındaki seks hormon bağlayıcı globulin (SHBG) reseptörlerini inhibe edebilmektedir. Kökten elde edilen lignanların SHBG reseptörlerinin inhibisyonunu sağlayarak antitümöral aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir. Anti SHBG aktivitesi testosteron metabolizması üzerine pozitif etkiler göstermektedir (97).

Allerjik rinitteki etkileri: Isırganotu yaprakları alerjiler için araştırılmıştır. Çift kör randomize bir çalışmada ısırganotunun etkileri plasebo ile karşılaştırılmış ve hastalarda düzelme görülmüştür (98).

Diğer etkiler; Isırgan otu yaprak ve kökleri kan temizleyicisi ve diüretik olarak, bitkinin infüzyonu ise nasal ve menstrual kanama, diabet, romatizma egzema anemi, saç kaybı ekspektoran ve antidiyareal olarak kullanılmaktadır (86). Kuzeydoğu Morocco'da hipertansiyon tedavisinde geleneksel olarak kullanılmaktadır. Kardiovasküler etkileri, insan lenfosit proliferasyonunu stimüle ettiği, nötrofiller üzerine güçlü immun stimulasyon etkileri gösterilmiştir (92). Isırgan otu ekstraktının antibakteriyel aktivite gösterdiği ve yine aynı çalışmada ülser insidansını famotidine göre daha etkili azalttığı ispatlanmıştır (94).

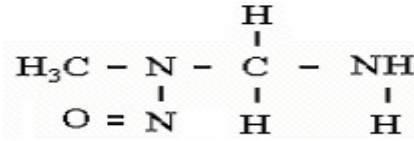
3.7. MNU (N-Metil-N-nitroso-Ürea)

Kimyasal karsinojenler iki grupta sınıflandırılabilirler.

1- Direkt karsinojenler: Kimyasal aktivasyona uğramaksızın DNA ile direkt reaksiyona girerler (örnek: N-Metil-Nitroso-Ürea=MNU)

2- Bazı kimyasal karsinojenler organizmaya girdikten sonra önce enzimatik yolla aktif şekle dönüşür, sonra makromoleküllerle reaksiyona girerler (örnek: Dimetilbenzantrasen)

Tüm direkt ve indirekt etkili karsinojenler ortak bir özelliğe sahiptir. Bu karsinojenler hücrelerde nükleofilik yerlerle reaksiyona giren elektrofilik yapıları oluştururlar (99).



N- Metil-Nitroso-Urea (MNU)

MNU direkt alkilleyici bir ajandır. MNU anhidroz durumda kimyasal olarak stabildir. Sulu ortamda nonenzimatik olarak hidroliz olur. Alkilleyici kalıntısı ayrılır. N-alkil-N-Nitrosoürelerin karsinojenliği onların alkil zincirinin kimyasal yapısına bağlıdır. MNU yaklaşık %65 oranında guaninin 7.azotunu metillendirir. DNA'nın pürin ve pirimidin bazlarından guaninin 6.oksijeni, sitozinin 3.azotu, adeninin 1. ve 3. azotları gibi diğer atomları da daha az derecede olmak üzere alkilenebilir (100).

MNU ile kanserler farklı grup hayvanlarda farklı yollarla oluşur. Karsinojenin verilme yolu, dozajı, verilme zamanı, sıçanın boyu önemlidir. MNU gastrik yolla verildiğinde mide sinir sistemi, böbrek ve akciğer tümörleri görülebilmekte fakat ancak yarısından fazlasında kanser oluşabilmektedir (101).

İnsan meme kanseri çalışmaları için, ratlarda MNU ile meme tümörünün oluşturulmasının sebebi, hormon bağımlı olması, patogenezinin, histolojik sınıflandırılmasının ve immunokimyasal belirteçlerinin benzer olmasından dolayı tüm dünyada en sık meme kanser modeli olarak kullanılmaktadır (102). MNU ile oluşan kanser tipi adenokarsinomdur (103).

Son yıllarda alternatif tıbbın kanser tedavisinde kullanılması ve bazı kanser türlerinde olumlu etkilerinin tespit edilmesi bu alanda yeni çalışmaların yapılmasını teşvik etmiştir. Yapılan bazı çalışmalarda ısırgan otunun meme kanseri gibi hormon bağımlı bir kanser olan prostat kanserinin gelişimini geriletmediğini tespit edilmesi, bizi ısırgan otunun meme kanseri üzerindeki etkilerini araştırmaya yöneltmiştir. Bu çalışmada; meme kanseri oluşturulan ratlarda ısırgan otunun antioksidan enzimler, TAS, Zn ve Cu düzeyleri ile tümör gelişimi üzerine ne şekilde etki göstereceğinin tespit edilmesi amaçlanmıştır.

4.GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. Deney Hayvanları

4.1.1. Denek seçimi

Çalışmamızda 21 günlük 60 adet dişi Wistar ratı kullanıldı. Ratların bakım ve beslenmeleri F.Ü.Deneysel Tıp Araştırma Biriminde (FÜTDAM) yapıldı.

Denekler 4 gruba ayrıldı ve her grup 15 rattan oluştu.

Grup 1 (Kontrol grubu): Kanser oluşturulmayan ve sadece bazal diyetle beslenen grup.

Grup 2 (MNU uygulanan grup): 21 günlük dişi ratlara 50 mg/kg N-Metil Nitroso Ürea (MNU) periton içine (i.p.) enjekte edildi ve bazal diyetle beslenmeleri sağlandı. Bu grupta 2 rat öldüğünden dolayı 13 rat ile çalışmaya devam edildi.

Grup 3 (MNU uygulanan + ısırgan otu verilen grup): Bu gruptaki ratlara da ikinci grup ile aynı zamanda ve aynı dozda MNU uygulandı. 21 günlük ratlar 5,5 ay boyunca kg yem başına 50 gr ısırgan otu olacak şekilde yem hazırlanıp deney sonuna kadar beslenmeleri sağlandı. Ayrıca litre başına 50 gr olacak şekilde ısırgan otu kaynatılıp su olarak ta bunun tüketilmesi sağlandı (Yemler haftalık olarak hazırlandı ve suyla birlikte buzdolabında muhafaza edildi).

Grup 4 (Isırgan otu verilen grup): 21 günlükten itibaren üçüncü gruptaki beslenme şekliyle aynı olmak üzere ısırgan otu verildi.

4.1.2. Kimyasal ve Bitkisel Materyalin Hazırlanması:

MNU, rat başına 50 mg/kg olarak tek doz halinde uygulandı. MNU birkaç damla %3'lük asetik asitte çözüldü. Sonra stok solüsyonu 10 mg MNU/ml olacak şekilde distile su ile sulandırılarak iki saat içinde ratlara ip. olarak enjekte edildi (104).

Isırgan otu Elazığ'daki yerel aktarlardan elde edildi. Kurutulmuş olarak alınan ısırgan otu blender ile toz haline getirildi. Toz halindeki ısırgan otunun 20 gr'ı 400 ml su ile 15 dakika kaynatıldı ve süzgeçten geçirildikten sonra 5,5 ay boyunca ratların bu su ile beslenmesi sağlandı (94). Yine 5,5 ay boyunca, kg yem başına 50 gr olacak şekilde toz halindeki ısırgan otu toz halindeki rat yemiyle harmanlanarak su ile şekil verildi ve ratlar bu şekilde beslendi.

4.1.3. Örneklerin Alınması ve Hazırlanması

Palpasyon ile meme dokusunda tespit edilen kitlenin patologlar tarafından histopatolojik olarak tümör olduğu doğrulandıktan sonra, ratlar dekapite edilerek kan örnekleri alındı. Elde edilen kanın bir kısmı plazma ve hemolizat hazırlanması için EDTA'lı tüplere alındı ve plazmada MDA, hemolizatta ise katalaz çalışılmak üzere saklandı. Bir kısım kan ise heparinli tüplere alınarak elde edilen plazmada total antioksidan durum (TAS), hemolizatta ise SOD çalışılmak üzere -20°C derecede saklandı. Heparinli tüpe alınan tam kanın 1ml'si ise GSH-Px tayininde kullanılmak üzere saklandı. Geri kalan kan ise serum elde etmek için antikoagülan içermeyen tüplere aktarıldı. Antikoagülan içermeyen tüplere alınan kan ise 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve elde edilen serum Zn ve Cu çalışılmak üzere saklandı. Meme dokuları alınarak histopatolojik inceleme için patoloji laboratuvarına %10'luk formol içerisinde gönderildi. Alınan meme dokuları malignitenin tespiti için patologlar tarafından kullanıldı.

4.2. Kullanılan Yöntemler

4.2.1. Hemoglobın Ölçümü

Hemoglobın miktarı Drabkin yöntemi ile ölçüldü. Bu yöntemde ferrisiyanür, hemoglobindeki demiri oksitleyerek iki değerlikli Fe iyonlarını üç değerlikli Fe iyonlarına çevirir ve methemoglobine dönüşmesini sağlar. Bunu takiben potasyum siyanid ile kararlı bir pigment olan siyanmethemoglobın meydana gelir. Siyanmethemoglobının absorbanısı spektrofotometrede 546 nm'de okunur (105).

Ayrıraçlar:

1. Drabkin çözeltisi: 50 mgr KCN, 200 mgr $K_3Fe(CN)_6$, 1 gr $NaHCO_3$

Yukarıda miktarı belirtilen kimyasal maddeler bir miktar distile suda çözüldükten sonra litreye tamamlanır. Drabkin çözeltisi koyu renkli şişede ve oda ısısında ağzı sıkıca kapalı vaziyette bir yıl boyunca saklanabilir.

2. Hemoglobın Standardı: Sigma-Aldrich 18 gr liyofilize hemoglobın standardı 100 ml distile suda çözüldü. Bu standart 18 gr/dL hemoglobın içermektedir.

İşlem :

	Kör	Standart	Örnek
Drabkin çözeltisi (ml)	5.0	5.0	5.0
Hemoglobin Std (ml)	---	0.02	----
Hemolizat (ml)	----	---	0.02
Distile su (ml)	0.02	---	---

Tüpler iyice karıştırıldı ve oda ısısında 20 dakika bekletildikten sonra 546 nm’de köre karşı diğer tüplerin absorbansları ölçüldü.

Hesaplama:

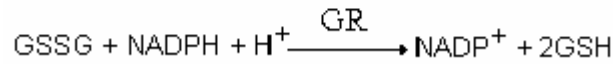
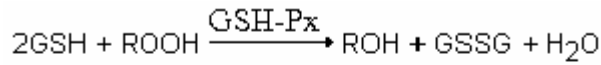
$$\text{gr /dL Hemoglobin} = \frac{\text{Örnek Absorbansı}}{\text{Std Absorbansı}} \times 18$$

4.2.2 Enzimatik Antioksidanların Ölçümü

Eritrosit SOD ölçümü ve GSH-Px ölçümü: Randox firmasına ait ticari kitler (Randox Laboratories, Diamond Road, Crumlin, Co. Antrim, United Kingdom, BT29 4QY) kullanılarak her iki enzimin ölçümü yapıldı.

4.2.2.1.GSH-Px Enzim Aktivitesi Ölçümü

Glutasyon peroksidaz (GSH-Px), kumen peroksid (ROOH) varlığında indirgenmiş glutasyonun (GSH) yükseltgenmiş glutatona (GSSG) dönüşmesini katalizler. Kümen peroksidin bulunduğu ortamda oluşan GSSG, glutasyon redüktaz (GR) ve NADPH yardımıyla GSH’a indirgenir. GSH-Px aktivitesi, NADPH’ın NADP⁺’ye yükselmesi sırasında absorbans farkının 340 nm’de okunması ile ölçülür.



Örneğin Hazırlanması:

GSH-Px ölçümü için heparinize tam kan kullanıldı ve diğer peroksidazların sebep olacağı yüksek sonuçların elde edilmemesi için, heparinize tam kan örneğine çift güçlü Drabkin ayırıcı ilave edilir. Bunun için 0.05 ml tam kan örneği 1,0 ml seyreltici

solüsyon ile seyreltilerek GSH-Px indirgenmiş formda tutulur. Seyreltici ilavesinden 5 dakika sonra 1.0 ml çift güçlü Drabkin ayıracağı ilave edilir ve iyice karıştırıldıktan sonra ölçümler yapılır. Örneklerle Drabkin ilavesinden sonra 20 dakika içinde tüm ölçümler yapılmış olmalıdır. Glutasyon peroksidaz aktivitelerinin ölçümleri OLYMPUS AU 600 (Olympus Optical Co., LTD. Japan) otoanalizörüne uyarlanmış Ransel firmasının Ransel adlı ticari kiti kullanılarak yapıldı.

Ayıracağılar; Çift güçlü Drabkin ayıracağı: aşağıdaki kimyasal maddeler 1000 ml saf suda çözülür.

Sodyum bikarbonat :	2 gram
Potasyum ferrisiyanid :	0.4 gram
Potasyum siyanid :	0.104 gram

İçerik

Konsantrasyon

1. Ayıracağı	Glutasyon 4 mmol/l, Glutasyon redüktaz \geq 0.5 U/l, NADPH 0.34 mmol/l
2. Tampon	Fosfat tamponu 0.05 mol/l ve pH 7.2, EDTA 4.3 mmol/l
3. Kumen hidroperoksid	0.18 mmol/l
4. Seyreltici solusyon	

Ayıracağıların hazırlanması:

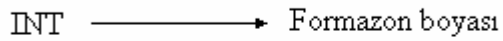
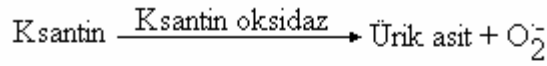
1. Bir şişe ayıracağı 1: 10 ml tampon 2 de çözülür ve bu son ayıracağı oda ısısında 8 saat, 2-8°C de ise 48 saat kararlılığını koruyabilir.
2. Tampon: Kullanıma hazır durumda olup, 2-8°C'de saklanırsa son kullanma tarihine kadar bozulmadan kalabilir.
3. Kumen hidroperoksid: 10 µl kumen hidroperoksid 52 ml saf suya ilave edilir. Kumen zor çözüldüğünden uzun süre ve güçlü bir şekilde karıştırılmalıdır. Bu çalışma ayıracağı taze olarak hazırlanıp kullanılmalıdır. Ancak konsantre kumen hidroperoksid 2-8°C'de son kullanma tarihine kadar saklanabilir.
4. Seyreltici ayıracağı: Bir şişe ayıracağı 4, 200 ml saf su ile seyreltilir ve oda ısısında 3 gün, 2-8°C'de ise 4 hafta saklanabilir.

RANSEL Glutasyon Peroksidaz'ın OLYMPUS AU 600 cihazına uyarlanması

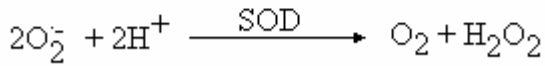
TEST NUMBER			*
TEST NAME			Ransel
SAMPLE TYPE			Whole blood
SAMPLE VOLUME		µl	5
DILUENT VOLUME		µl	10
REAGENT VOLUME (R1)		µl	200
DILUENT VOLUME		µl	10
REAGENT VOLUME (R2)		µl	50
DILUENT VOLUME		µl	0
WAVELENGTH MAIN		nm	340
WAVELENGTH SUB		nm	380
METHOD			Rate
REACTION			-
POINT 1	FIRST		15
	LAST		21
POINT 2	FIRST		-
	LAST		-
LINERITY	FIRST		-
	SEC		-
NO LAG TIME			NO
MINIMUM OD	L		0.2
MAXIMUM OD	H		2.0
REAGENT O.D. LIMIT	FIRST	L	0.7
		H	2.0
	LAST	L	0.7
		H	2.0
DYNAMIC RANGE		L	0
		H	840
CORRELATION FACTOR		A	1.0
		B	0.0
ON BOARD STABILITY PERIOD			1
CALIBRATION			
CALIBRATION TYPE			MB
FORMULA			1
COUNT			3
PROCESS			CONC
1 POINT CALIBRATION POINT			-
MB TYPE FACTOR			10784
CALIBRATOR STABILITY PERIOD			-

4.2.2.2. SOD Enzim Aktivitesi Ölçümü

Oksidatif enerji üretimi sırasında oluşan süperoksid radikalleri dismutasyona uğratarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüştürülür. Bu yöntemde ksantin ve ksantin oksidaz kullanılarak oluşturulan süperoksid (O_2^-) radikallerinin 2-[4-iyodofenil]-3-[4-nitrofenol]-5-feniltetrazolium klorür (p-iyodonitrozolium violet: INT) ile oluşturduğu kırmızı renkli formazon boyasının 505 nm dalga boyunda verdiği optik dansitenin okunması esas alınmaktadır. Örnekte bulunan SOD, süperoksid radikalini ortamdan uzaklaştırarak formazon reaksiyonunu inhibe etmektedir. Sonuçta oluşan kırmızı renkteki azalmanın tespiti ile SOD aktivitesi ölçülmektedir. Kırmızı rengin şiddeti ile SOD aktivitesinin büyüklüğü arasında ters bir ilişki mevcuttur.



veya



Örneğin hazırlanması

Heparinli kan örnekleri kullanıldı. Örneğin 0.5 ml'si 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra plazmaları ayrıldı. Kalan eritrositler her defasında 3 ml %0.9'luk NaCl solüsyonu ile 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek dört kez yıkandı. Yıkanmış eritrosit paketi soğuk saf su ile 2 ml'ye tamamlandıktan sonra karıştırıldı ve - 20°C'de saklandı. Lizatlar çalışma öncesinde derin dondurucudan çıkartıldı ve oda ısısında çözünmeye bırakıldı (15–20 dakika). Daha sonra örneklerin % inhibisyonunu % 30- %60 arasına düşürmek için, 0.01mmol/L fosfat tamponu (pH'sı 7,0) ile lizat 25 kat sulandırıldı ve hesaplamalarda sulandırma faktörü 100 olarak alındı.

Ayırıcılar

İçerik

Başlangıç konsantrasyonu

Örnek (ml)	-	(2-6)	0.05
Standart (ml)	-	0.05	-
Fosfat tamponu (S1) (ml)	0.05	-	-
Karma substrat (ml)	1.7	1.7	1.7

Bütün tüpler iyice karıştırılır

Ksantin oksidaz (ml)	0.25	0.25	0.25
----------------------	------	------	------

Bütün tüpler tekrar karıştırıldıktan 30 saniye sonra çalışma körünün, standardın ve örneğin 37°C ve 505 nm'deki absorbanları (A1) havaya karşı alınır. Aynı anda kronometre çalıştırılır ve 3 dakika sonra son absorbanları alınır (A2).

Hesaplama:

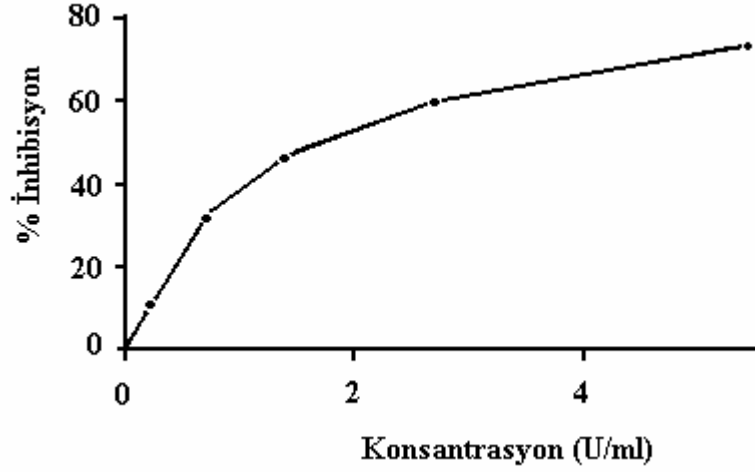
$$A/\text{dakika} = \frac{A_2 - A_1}{3 \text{ dakika}}$$

$$\text{Standartlar için \% inhibisyon} = 100 - \frac{\Delta A_{\text{Std./dakika}}}{\Delta A_{\text{Çalışma körü/dakika}}} \times 100$$

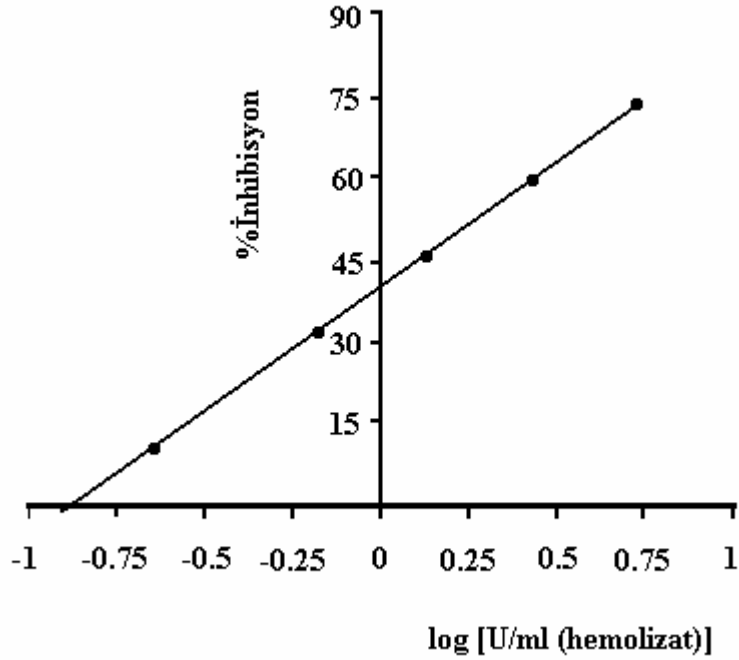
$$\text{Örnekler için \% inhibisyon} = 100 - \frac{\Delta A_{\text{Örnek/dakika}}}{\Delta A_{\text{Çalışma körü/dakika}}} \times 100$$

Çalışma körüne ait değer, inhibisyona uğramamış olarak kabul edilir ve değeri %100 olarak alınır. Tüm standartlar ve örnekler için % inhibisyon değeri aşağıdaki formüle göre hesaplanır.

Standart hazırlama tablosunda verilen tüm standart konsantrasyonlarına göre çalışma yapılarak, her standart bulunan % inhibisyon değeri Y eksenine ve standart konsantrasyonlarının değerleri (U/ml) de X eksenine yerleştirilerek hiperbolik bir eğri elde edilir (Şekil 4). Standart hazırlama tablosunda verilen tüm standart konsantrasyonlarına göre çalışma yapılarak, her standart bulunan % inhibisyon değeri Y eksenine ve standart konsantrasyonlarının logaritmik dönüşüm değerleri de X eksenine yerleştirilerek standart eğri grafiği çizilir (Şekil 5). Böylece değerlendirilmelerde bu doğru grafik kullanılır.



Şekil 4. SOD için standartlara ait %inhibisyon-konsantrasyon eğrisi

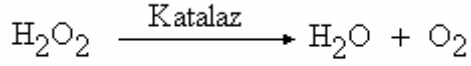


Şekil 5. SOD için standartlara ait %inhibisyon-log[konsantrasyon] eğrisi

Örneklere ait % inhibisyon değerlerine karşılık gelen lizat SOD aktivitelerinin logaritmik değerlerinin antilogaritmaları alınarak eritrositlere ait SOD aktivitesi bulunarak dilüsyon faktörü ile çarpılır. U/ml olarak bulunan bu son değer örneğe ait hemoglobin değerine oranlanır ve U/gHb cinsinden enzim aktivitesi bulunur.

4.2.2.3. Eritrosit Katalaz Ölçümü:

Katalaz, katalitik aktivitesi ile hidrojen peroksidi suya ve moleküler oksijene çevirir. Hidrojen peroksit 240 nm dalga boyunda maksimum absorbanı vermektedir. Katalaz ölçüm metodu ile, 240 nm dalga boyunda maksimum absorbanı veren hidrojen peroksidin azalan absorbanı ölçülerek, katalaz aktivitesi hesaplandı (106).



Örneğin hazırlanması:

Katalaz analizi için EDTA'lı tüpe alınan kan örnekleri 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra dikkatli bir şekilde plazma pipetle alındı ve geriye kalan kırmızı hücreler dört kez %0.9'luk NaCl ile iyice yıkandı. Son yıkamadan sonra kırmızı hücreler 1/1 oranında iki defa saflaştırılmış soğuk ile sulandırılarak hemolizat paketi hazırlandı. Hazırlanan lizatlar ileride kullanılmak üzere derin dondurucuda (-20°C) saklandı. Çalışma öncesinde oda ısısında lizatların çözümleri sağlandıktan sonra enzim kaynağı olarak kullanılmak üzere lizatlar fosfat tamponu (pH 7.5) ile 50 kat sulandırıldı.

Ayıraçlar:

1. Fosfat tamponu (pH 7,5): 50 mM Na₂HPO₄'den 587 ve 50 mM KH₂PO₄'den de 413 ml alınarak pH ayarlanması yapılır.
2. Hidrojen peroksit (240 nm'de absorbanı 0,5 olacak şekilde): %30'luk H₂O₂ çözeltisinden 34 µl alınarak hazırlanan fosfat tamponunun 100 ml'sine ilave edilir. Hazırlanan bu çözeltinin absorbanı 240 nm'de yaklaşık olarak 0,5'tir. Bu değerin altındaki absorbanlarda küçük miktarlarda H₂O₂ ilavesi ile absorban ayarlanmalıdır.

Deneyin yapılışı:

Oda ısısına getirilmiş ve fosfat tamponu ile 50 kat seyreltilmiş hemolizat enzim kaynağı olarak kullanılır ve aşağıdaki tablodaki gibi çalışma devam ettirilir.

	Çalışma körü	Örnek
Fosfat tamponu (ml)	3.0	-
H ₂ O ₂ çözeltisi (ml)	-	2.99
Hemolizat (ml)	-	0.01

Hemolizat ilavesinden hemen sonra, 240 nm’de köre karşı 15 saniyelik aralıklarla 60 saniye boyunca absorbans değişimleri alındı. Hesaplamalarda ilk ve son absorbanslar kullanıldı. Diğer absorbanslar ise ölçümleri kontrol amacı ile alındı. Hesaplamalarda aşağıdaki bağıntı kullanıldı.

$$\text{KATALAZ (U/gHb)} = \frac{2.3}{60} \log \frac{[A1/A2]}{\text{gHb / ml}} \times 5000$$

A1: İlk absorbans

A2: Son absorbans

60: Saniye cinsinden reaksiyon süresi

5000: Seyreltme faktörü

4.2.3. Plazma Lipid Peroksid Düzeylerinin Ölçümü

Serum lipid peroksid düzeylerinin (malondialdehit) ölçümü Satoh (107) ve Yagi’den (108) modifiye edilen bir yöntemle spektrofotometrik olarak ölçüldü. Bu yöntemin prensibi, pH’nın 3,4 olduğu oksijenli bir ortamda serumun tiyobarbitürik asit (TBA) ile 95°C derecede inkübasyonu sonucu oluşan ürünün renginin 532 nm’de ölçülmesidir. Oluşan renkli kompleks, lipid peroksidin sekonder ürünü olan malondialdehitin (MDA)’ya aittir.

Ayırıcılar

1. %10’luk fosfotungustik asit (FTA)
2. 0.083 N Sülfürik asit (H₂SO₄)
3. Tiyobarbitürik asit (TBA) ayırıcı: Eşit hacim %0.67 TBA ile glasiyel asetik asit karıştırılarak hazırlanır.
4. n-Butanol.
5. 4.1 nmol/ml standart (1.1.3.3 tetraetoksipropan) çözeltisi.

Deneyin yapılışı

	Kör	Standart	Örnek
Serum veya plazma (ml)	-	-	0.3
0.083 N H ₂ SO ₄ (ml)	-	-	4.0
%10 FTA (ml)	-	-	0.3

Tüpler iyice karıştırıldı ve oda ısısında 5 dakika bekledikten sonra 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atıldıktan sonra çökelek üzerine 1.5 ml distile su eklenerek iyice karıştırıldı ve tekrar 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant tekrar atıldı ve çökelek deneyin bundan sonraki aşamasında kullanıldı.

Saf su (ml)	4.0	3.0	4.0
TBA ayracı (ml)	1.0	1.0	1.0
Standart (4.4 nmol/l)(ml)	-	1.0	-

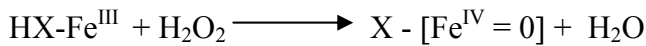
Tüpler iyice karıştırıldıktan sonra üzerine cam bilye konularak kaynar su banyosunda 60 dakika kaynatıldı. Bu süre sonunda ani soğutma yapıldı ve bütün tüplere 3.0 ml n-bütanol eklendi ve iyice karıştırıldıktan sonra tüpler 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Daha sonra örnek ve standardın n-bütanol fazı 532 nm'de köre karşı okundu.

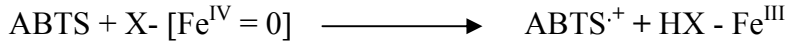
Hesaplama:

Serum MDA (nmol/ml) = 4.1 x [Örnek absorbansı/Standard absorbansı] x (1/0.3)

4.2.4.Total Antioksidan Durum Ölçümü

ABTS (2,2'-Azino-di-[3-aehtylbenzthiazolinesulphonate]) peroksidaz (metmyoglobin) ve H₂O₂ ile ABTS^{•+} radikal katyon oluşturmak için okside olur. Bunun sonucunda 600 nm'de ölçülen sabit mavi-yeşil renk oluşur. Eklenen örnekteki antioksidanlar konsantrasyonları ile orantılı olarak renk oluşumunu bir dereceye kadar engellerler (109).





$\text{HX} - \text{Fe}^{\text{III}}$ = Metmyoglobin

$\text{X} - [\text{Fe}^{\text{IV}} = \text{O}]$ = Ferrylmyoglobin

ABTS = 2,2'-Azino-di-[3-aehtylbenzthiazoline sulphonate]

Örnek Hazırlanması

Serum veya heparinli plazma kullanılır. Örneklerin hemoliz olması önlenmelidir. Örnek 2-8 °C'de 36 saate kadar saklanabilir. Plazma/serum ise 14 güne kadar dondurulabilir. Tekrar dondurulup çözülmesi önlenmelidir.

İçerik	Testteki konsantrasyonu
1. Tampon	
Fosfat Tomponu	80mmol/L, pH 7.4
2. Kromojen	
Metmyoglobin	6.1 µmol/L
ABTS	610 µmol/L
3. Substrat	
Hidrojen peroksit (sabit formda)	250 µmol/L
4. Standart	
6-hidroksi- 2, 5,7,8-tetrametilkroman	1.55 mmol/L
-2- karboksilik asit	

Ayıracıların hazırlanması

1. Tampon kullanım için hazırdır. 2-8 °C'de saklandığında son kullanma tarihine kadar kararlılığını korur.
2. Kromojen: Bir şişe kromojen 2, tampon 1'in 10 ml'si ile sulandırılarak hazırlanır ve 2-8 °C'de 2 gün veya 15- 25 °C'de 8 saat kadar kararlılığını korur.
3. Substrat: 1 ml substrat 3, 1,5 ml tampon 1 ile sulandırılır. 2-8 °C'de 24 saat kadar kararlılığını muhafaza eder. 2-8 °C'de sulandırılmadan son kullanma tarihine kadar saklanabilir.

4. Standart: Bir şişe standart, 1ml bidistile su ile sulandırılır. 2 gün içinde kullanılmalı yada -20C'de bir ay saklanabilir.

Çalışma Prosedürü

Dalga boyu	600 nm
Küvet	1cm'lik ışık yolu
Isı	37 °C
Ölçüm	Havaya karşı

	Çalışma körü	Standard	Örnek
Bidistile su	20µl	-	-
Standart	-	20µl	-
Örnek	-	-	20µl
Kromojen	1ml	1ml	1ml
	Tüpler iyice karıştırılıp 37 °C'ye getirilip başlangıç absorbans okunur (A1)		
Substrat	200µl	200µl	200µl

Bütün tüpler tekrar karıştırılır ve aynı anda kronometre çalıştırılır. Tam 3.dakikada absorbans okunur(A2)

Hesaplama:

$$A_2 - A_1 = \Delta A \text{ örnek/standart/kör}$$

Total Antioksidan Durum:

$$\text{Faktör} = \frac{\text{Standardın konsantrasyonu}}{(\Delta A_{\text{kör}} - \Delta A_{\text{standart}})}$$

$$\text{mmol/L} = \text{Faktör} \times (\Delta A_{\text{kör}} - \Delta A_{\text{örnek}})$$

4.2.5.Eser Elementlerin Tayini

Cu ve Zn analizleri SHIMADZU marka AA-6701F model Atomik Absorbsion spektrofotometresi ile yapıldı. Atomik absorbsiyon spektrofotometre ile eser element tayininde bütün aşamalarda plastik tüpler kullanıldı. Bu metoda göre (110) çinko tayini için deiyonize su ile beş kat sulandırılmış serum, atomik absorbsiyon alevine aspire edilir ve elde edilen sinyaller gliserol ile sulandırılarak (5 mL/dL) hazırlanmış çinko standardı ile mukayese edilerek örnekteki çinko düzeyi tespit edilir. Bakır ve çinko için sonuçlar cihaz tarafından hesaplanarak verilmektedir.

Çinko tayini:

Ayraçlar:

1. Sulandırılmış gliserol: 50 ml saf gliserol deiyonize su ile litreye tamamlanarak hazırlanır. Bundan sonraki aşamalarda bu ayraç kullanılır.
2. Stok Standard: Konsantrasyonu belli (1g/L) ve ticari olarak hazırlanmış standart kullanıldı.
3. Çalışma standartları: stok standarttan 25, 50, 100, 200 µg/L Zn konsantrasyonlarında çalışma standartları hazırlanarak çalışma grafiği çizildi.

Çalışmanın yapılması için cihaz için gerekli şartlar: Çinko için seçilecek dalga boyu 213,9, yarık genişliği (slit width) 0.5 nm ve yakıcı gaz karışımı olarak hava-asetilen karışımı kullanılır.

İşlem:

1. Serum veya plazma oda ısısına getirilir ve dikkatlice karıştırılır.
2. 0.5 ml örnek 16-mm'lik plastik test tüpüne alınır ve deiyonize su ile 2.0 ml'ye tamamlanarak hemen dikkatli bir şekilde karıştırılır.
3. Cihazın ön hazırlıkları yapılarak cihaz hazır hale getirilir.
4. Standartlar sırası ile aspire edilerek kararlı bir absorbsiyon elde edilir (± 0.002 A). Sonuçların değerlendirilmesi için çalışma grafiği çizilir ve örneklerin aspirasyonu yapılarak çinko sonuçları alınır.

Bakır tayini:

Eşit hacimde deiyonize su sulandırılarak AAS'sine aspire edilen örneğe ait bakır konsantrasyonu, gliserol ile (10 mL/dL) sulandırılmış bakır standardı ile mukayese edilmesi sonucu tayin edilir. Deneysel aşama çinko tayinine benzer şekildedir. AAS'nun bakıra karşı olan duyarlılığı çinkodan az olduğundan örneklerin iki kat sulandırılması daha uygundur (110).

Çalışmanın yapılması için cihaz için gerekli şartlar: Bakır için seçilecek dalga boyu 324.8, yarık genişliği (slit width) 0.5 nm ve yakıcı gaz karışımı olarak hava-asetilen karışımı kullanılır (110).

4.3. Histopatolojik İnceleme

Bu çalışmada dekapitasyon işleminden sonra kontrol meme dokusu, MNU uygulanan grupta palpasyonla tespit edilen meme tümör dokuları ve MNU+ ısırgan uygulanan gruptaki ratlardan birkaç meme dokusu çıkarıldı. Alınan doku örnekleri %10'luk formolün içerisinde tespit edildikten sonra rutin takip işlemine alındı. Parafine gömülen dokulardan elde edilen 4µm kalınlığında kesitler Hemotoksilen-Eozin (H-E) ile boyanarak olympus BX50 ışık mikroskobu altında incelendi.

4.4. İstatistik Analizleri

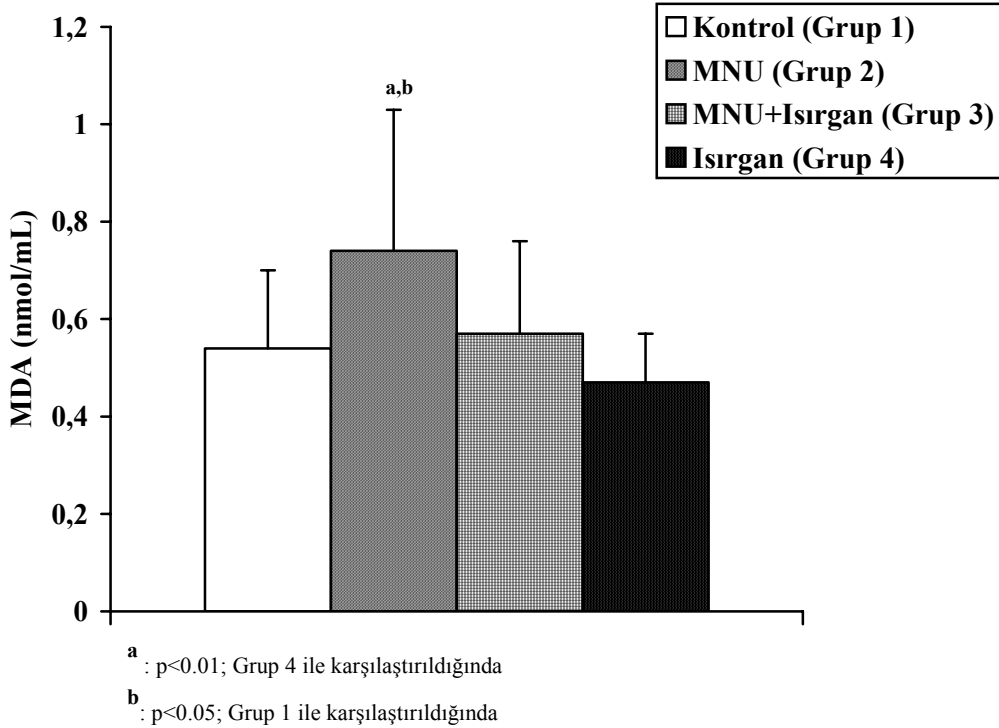
Bu çalışmada istatistik analizlerde SPSS 10 (Statistical Program for Social Sciences) paket programı kullanıldı. Bütün sonuçlar aritmetik ortalama \pm standart sapma şeklinde ifade edildi. İstatistiksel analizlerde tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılarak Tukey HSD testi ile gruplar arası karşılaştırmalar yapıldı. Anlamlılık derecesi olarak $p < 0.05$ kabul edildi.

5. BULGULAR

Bu çalışmada 58 rat; kontrol grubu (Grup 1), MNU uygulanan + ısırganotu verilen grup (Grup 3) ve ısırgan verilen grup (Grup 4) 15'er rattan, MNU uygulanan grup (Grup 2) ise 13 rattan oluşmak üzere 4 gruba ayrılmıştır. Gruplarda antioksidan enzimlere bakılmış ve gruplar arasındaki değişimler ortaya konulmaya çalışılmıştır. Ayrıca total antioksidan durum belirlenerek gruplar arasındaki değişimler değerlendirilmiştir. Eser elementlerden Zn, Cu düzeyleri ve Cu/Zn oranı tespit edilmiş ve anlamlılık derecelerine bakılmıştır.

5.1. Gruplar Arası Serum MDA ve Eritrosit Antioksidan Enzim Düzeyleri, Plazma Total Antioksidan Durum ve Serum Zn, Cu Düzeyleri ile Cu/Zn Oranları

Gruplar arasında MDA düzeyleri karşılaştırıldığında; grup 2'nin MDA düzeyleri grup 4'e ve grup 1'e göre istatistiksel olarak anlamlı artış göstermiştir (sırasıyla $p < 0.01$ ve $p < 0.05$). Grup 1 ve grup 3 karşılaştırıldığında grup 3'ün kontrol değerlerine yakın olduğu görülmektedir. Grup 2 ve grup 3 karşılaştırıldığında grup 3'te bir azalma tespit edilmiş ancak istatistiksel anlamlılık göstermemiştir ($p > 0.05$) (Tablo 6) (Şekil 6).

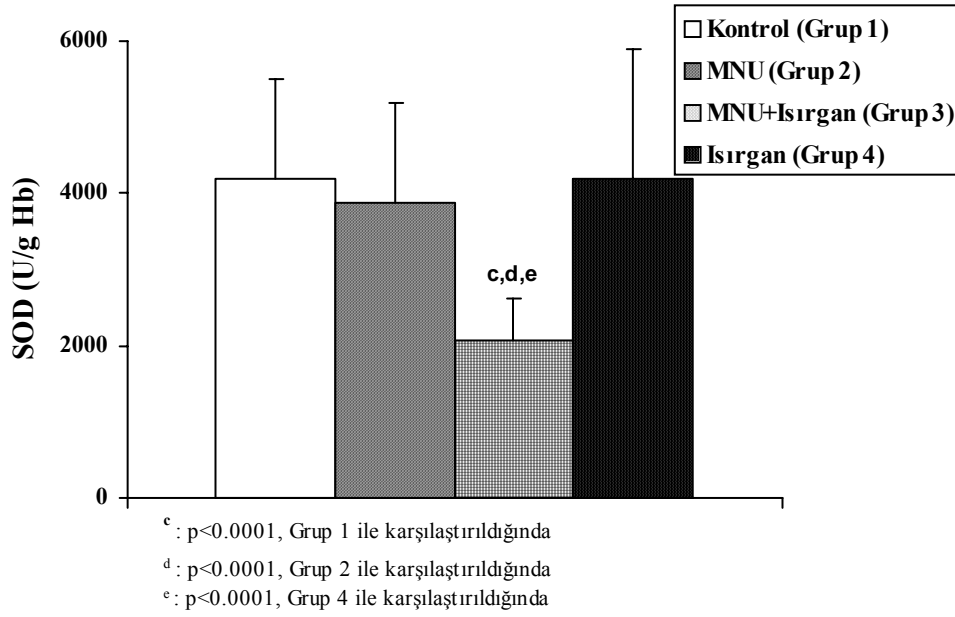


Şekil 6. Gruplara ait MDA düzeyleri.

Tablo 6. Gruplar arası eritrosit antioksidan enzim, plazma MDA, plazma TAS düzeyleri ve serum Zn, Cu düzeyleri ile Cu/Zn oranları. Sonuçlar aritmetik ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.

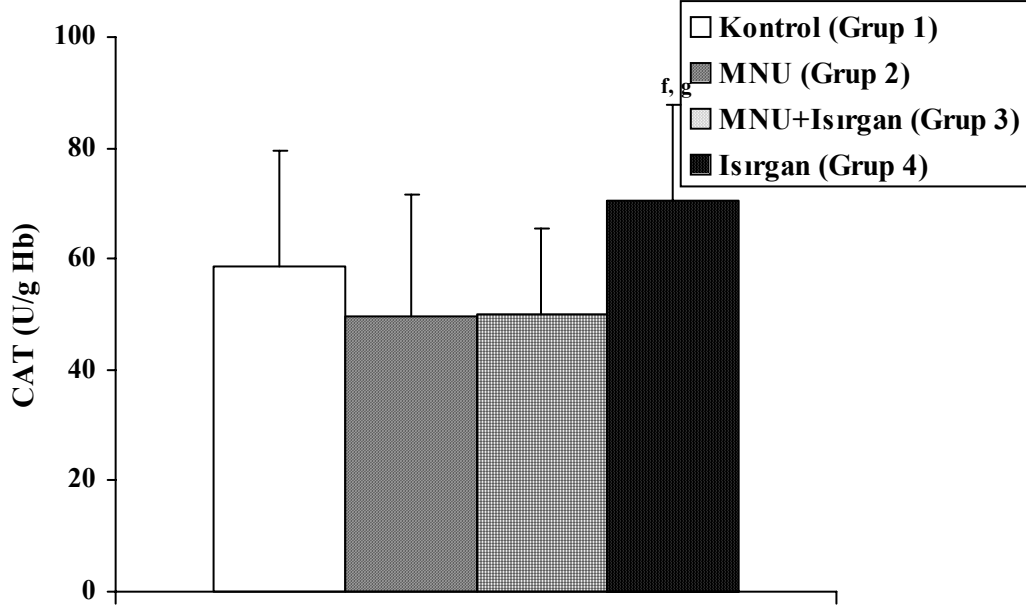
	KONTROL (Grup 1, n=15)	MNU (Grup 2, n=13)	MNU+ISIRGAN (Grup 3, n=15)	ISIRGAN (Grup 4, n=15)
MDA (nmol/mL)	0.54 \pm 0.16	0.74 \pm 0.29 ^{a,b}	0.57 \pm 0.19	0.47 \pm 0.1
SOD (U/gr Hb)	4189.37 \pm 1315,09	3878.15 \pm 1297,37	2072.21 \pm 558,93 ^{c,d,e}	4193.54 \pm 1689.01
CAT (U/gr Hb)	58.49 \pm 20.96	49.68 \pm 21.90	50.14 \pm 15.28	70.42 \pm 17.30 ^{f,g}
GSH-Px (U/gr Hb)	29.92 \pm 6.89	31.27 \pm 6.68	30.66 \pm 10.15	33.91 \pm 11.06
TAS (mmol/L)	1.10 \pm 0.50	0.62 \pm 0.50 ^{h,i}	1.06 \pm 0.65	1.23 \pm 0.71
Zn (μ g/dL)	140.13 \pm 32.70	172.81 \pm 56.21 ^j	128.58 \pm 34.62	141.60 \pm 30.67
Cu (μ g/dL)	126.80 \pm 44.47	140.66 \pm 37.04	156.86 \pm 35.48	83.76 \pm 47.15 ^{k,l,m}
Cu/Zn	0.87 \pm 0.33	1.06 \pm 0.49	1.22 \pm 0.41	0.62 \pm 0.44 ^{n,o}
^a p <0,01, grup 4 ile karşılaştırıldığında		^f p<0.05, grup 2 ile karşılaştırıldığında		^k p<0.0001, grup 3 ile karşılaştırıldığında
^b p <0.05, grup 1 ile karşılaştırıldığında		^g p<0.01, grup 3 ile karşılaştırıldığında		^l p<0.005, grup 2 ile karşılaştırıldığında
^c p<0.0001, grup 2 ile karşılaştırıldığında		^h p<0.05, grup 4 ile karşılaştırıldığında		^m p <0.05 grup 1 ile karşılaştırıldığında
^d p<0.0001, grup 4 ile karşılaştırıldığında		ⁱ p<0.05 grup 1 ile karşılaştırıldığında		ⁿ p<0.05, grup 2 ile karşılaştırıldığında
^e p<0.0001, grup 1 ile karşılaştırıldığında,		^j p<0.05, grup 3 ile karşılaştırıldığında		^o p<0.01, grup 3 ile karşılaştırıldığında

Gruplar arası SOD düzeyleri karşılaştırıldığında; grup 3'ün SOD aktivitesinin, grup 1'e, grup 2'ye ve grup 4'e göre anlamlı şekilde düşük olduğu tespit edilmiştir ($p<0.0001$). Grup 2'deki SOD düzeyleri grup 1 ile karşılaştırıldığında grup 2'de azalma tespit edilmiş ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0.05$). Grup 2 ve grup 1, grup 4 ile karşılaştırıldığında grup 4'te artış olduğu görülmüş ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0.05$). (Tablo 6) (Şekil 7).



Şekil 7. Gruplara ait eritrosit SOD düzeyleri.

Gruplar arası katalaz düzeyleri karşılaştırıldığında; grup 2 ve grup 3 birbirine yakın değerler olarak elde edilmiştir. Ancak grup 4 ile grup 2 ve grup 3 karşılaştırıldığında, grup 2 ve grup 3 belirgin azalma göstermiştir (sırasıyla $p<0.05$ ve $p<0.01$). Grup 2 ve grup 3 kontrol grubuna göre belirgin azalma göstermiş ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0.05$). Grup 4 ile grup 1 karşılaştırıldığında grup 4'te artış tespit edilmiş ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0.05$). (Tablo 6) (Şekil 8)

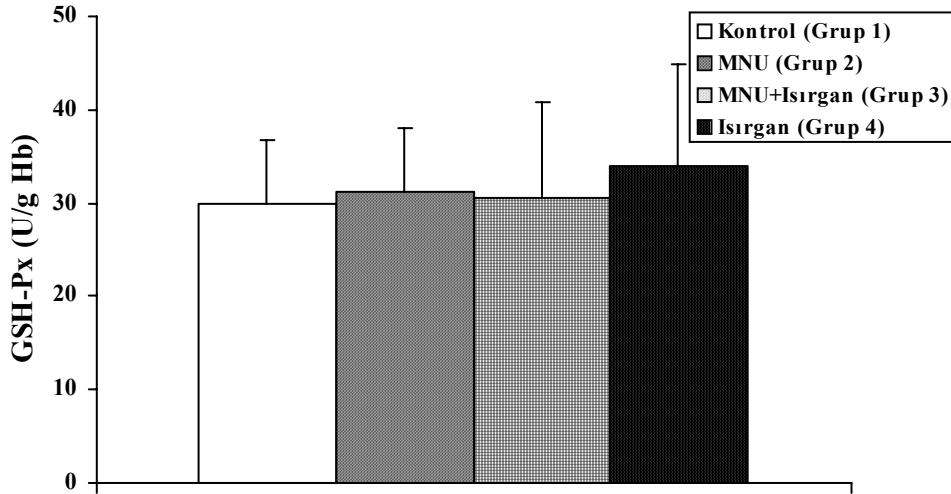


^f: p<0.05, Grup 2 ile karşılaştırıldığında

^g: p<0.01, Grup 3 ile karşılaştırıldığında

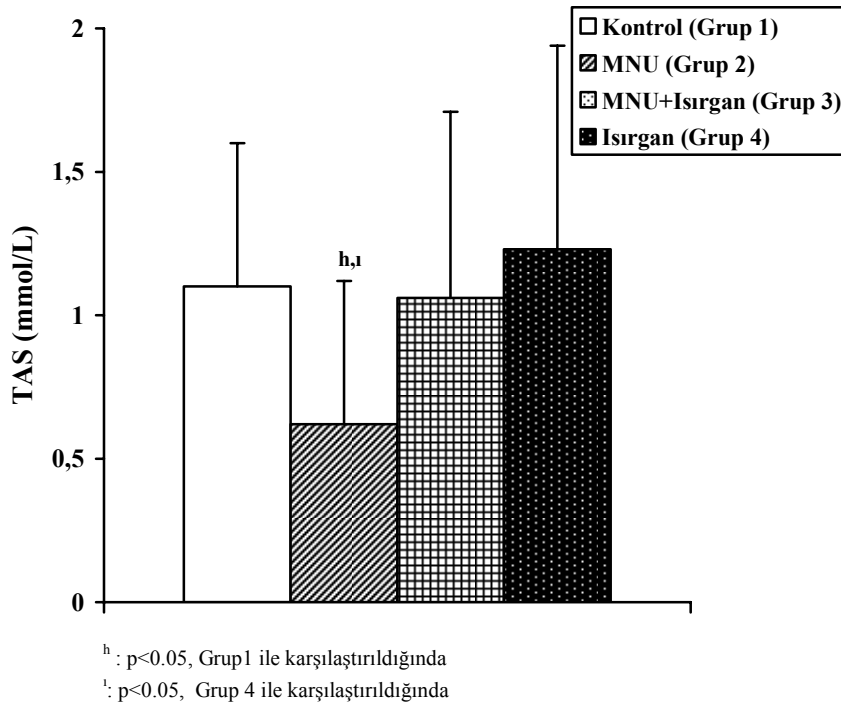
Şekil 8. Gruplara ait eritrosit katalaz düzeyleri.

Gruplar arasında GSH-Px düzeyleri karşılaştırıldığında; grup 4'deki GSH-Px düzeyleri grup 1, grup 2 ve grup 3'e göre hafif bir artış göstermiş ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0.05$). Gruplar arası GSH-Px aktiviteleri birbirine çok yakın bulunmuş ve istatistiksel bir anlamlılık tespit edilememiştir ($p>0.05$). (Tablo 6) (Şekil 9)



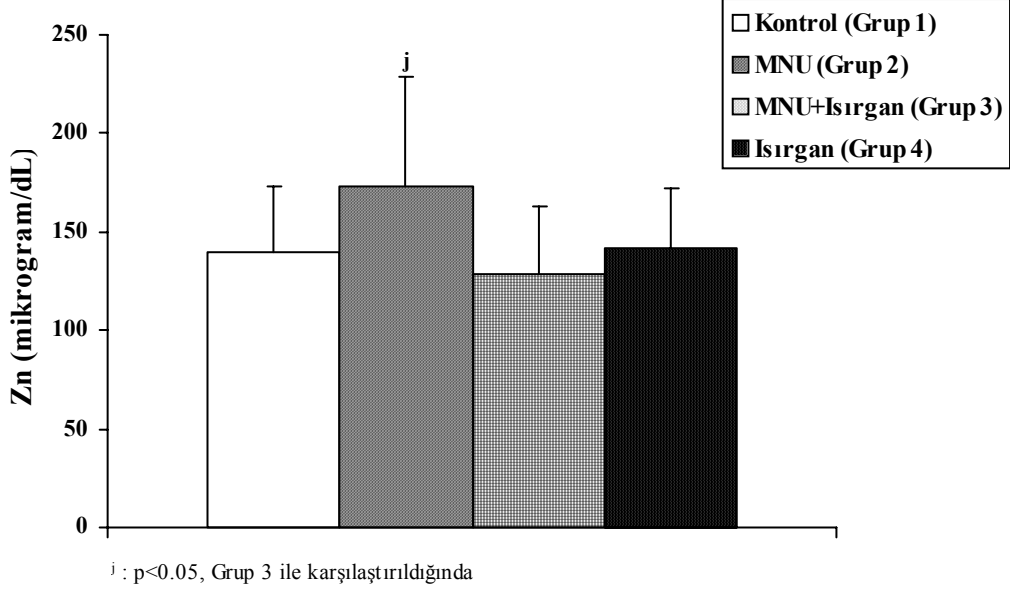
Şekil 9. Gruplara ait eritrosit GSH-Px düzeyleri.

Gruplar arası TAS düzeyleri karşılaştırıldığında; grup 2'nin TAS düzeyleri grup 1 ve grup 4'e göre anlamlı bir şekilde azalma göstermiştir ($p<0.05$). Grup 3 ile grup 1 karşılaştırıldığında grup 3'ün kontrol değerlerine yakın olduğu görülmüştür. Grup 4 ile grup 1 karşılaştırıldığında grup 4'te artış görülmüş ancak istatistiksel anlamlılık tespit edilememiştir ($p>0.05$). Grup 3 grup 2 ile karşılaştırıldığında grup 3'te bir artış görülmüş ancak istatistiksel anlamlılık tespit edilememiştir ($p>0.05$). (Tablo 6) (Şekil 10).



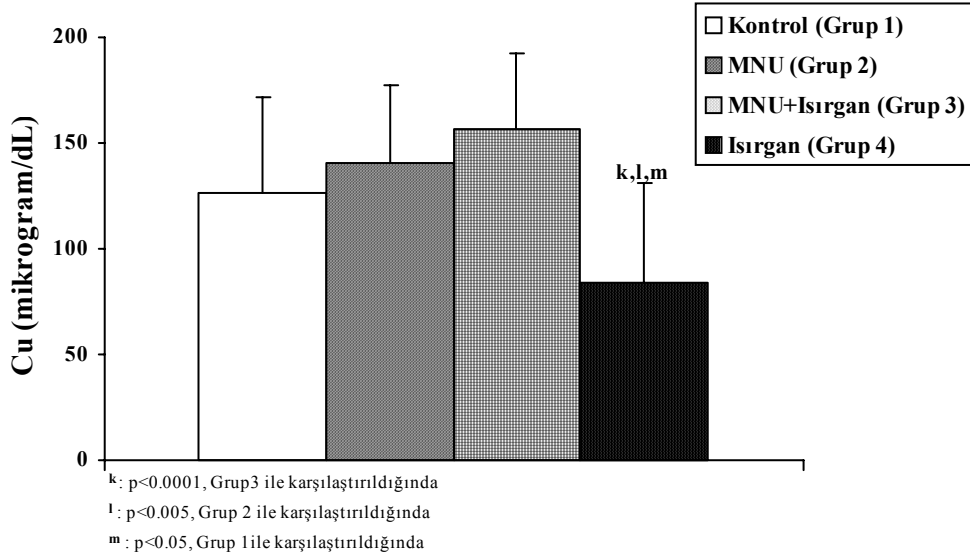
Şekil 10. Gruplara ait plazma total antioksidan durumu.

Gruplar arası Zn düzeyleri karşılaştırıldığında; grup 2'nin Zn düzeyleri grup 3'e göre anlamlı bir şekilde artış göstermiştir ($p<0.05$). Grup 2 Zn düzeyleri grup 1 ve grup 4'e göre artış göstermiş ancak istatistiksel anlamlılık bulunamamıştır ($p>0.05$). Grup 4 ile grup 1 karşılaştırıldığında grup 4'ün kontrol değerlerine yakın olduğu görülmüştür. (Tablo 6) (Şekil 11)



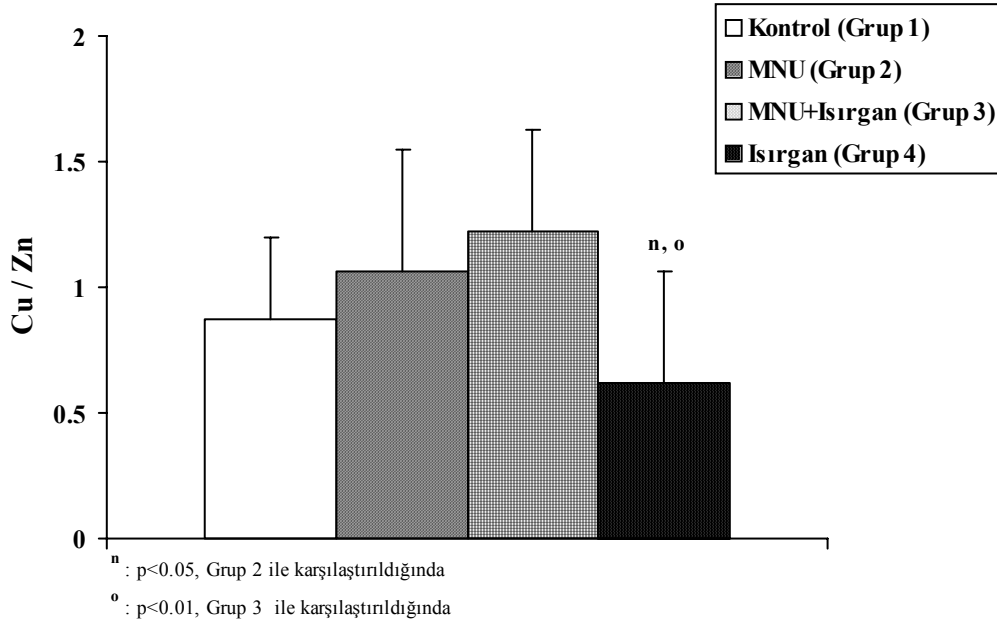
Şekil 11. Gruplara ait serum Zn düzeyleri.

Gruplar arası Cu düzeyleri karşılaştırıldığında; grup 4'ün Cu düzeyleri grup1, grup 2 ve grup 3 ile karşılaştırıldığında grup 4'teki belirgin azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (sırasıyla $p<0.05$, $p<0.005$ ve $p<0.0001$). Grup 2 ve grup 3 kontrole göre bir artış göstermiş ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0.05$). Grup 3 ile grup 2 karşılaştırıldığında grup 3'te artış tespit edilmiş ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0.05$). (Tablo 6) (Şekil 12)



Şekil 12. Gruplara ait serum Cu düzeyleri.

Gruplara ait Cu/Zn oranları karşılaştırıldığında; grup 4 Cu/Zn oranı grup 2 ve grup 3'e göre belirgin azalma göstermiş ve istatistiksel olarak anlamlı olarak bulunmuştur (sırasıyla $p<0.05$ ve $p>0.01$). Grup 1 ile grup 2 ve grup 3 karşılaştırıldığında grup 2 ve 3'te artış bulunmuş ancak istatistiksel anlamlılık göstermemiştir ($p>0.05$). Grup 4 ile grup 1 karşılaştırıldığında grup 4'teki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0.05$). (Tablo 6) (Şekil 13).



Şekil 13. Gruplara ait Cu/Zn oranları.

5.2. Kanser Oluşturulan Gruplardaki Palpasyonla Tümör Görülme Sıklığı

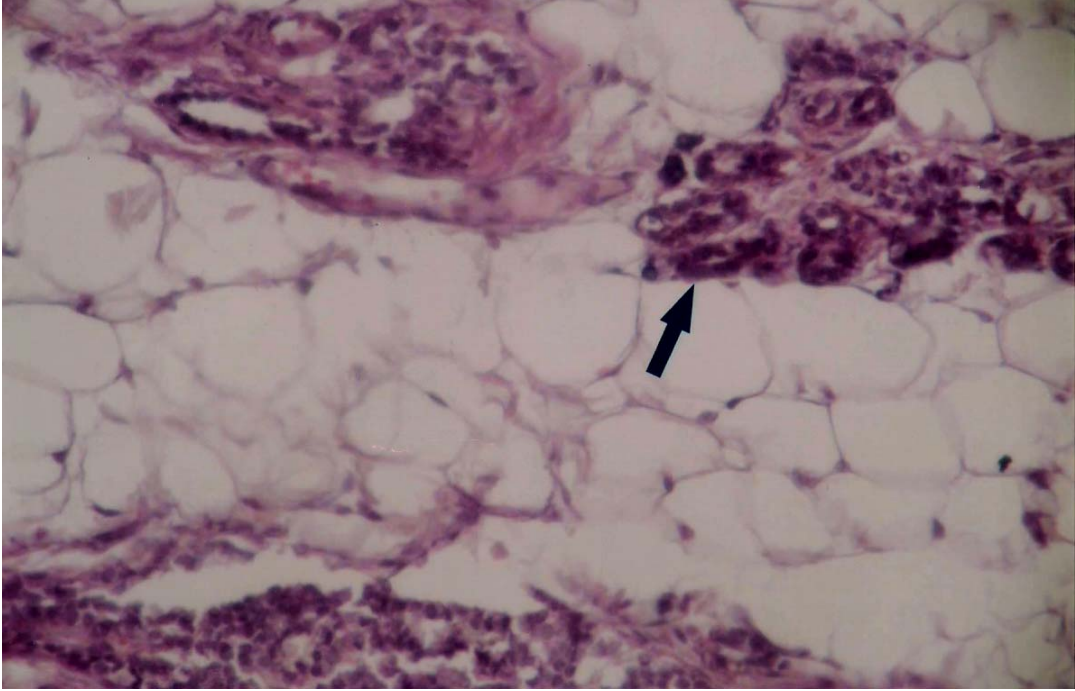
Grup 2 ile Grup 3'te palpasyonla tümör görülme sıklığı tablo 7'de sunulmuştur.

Tablo 7. Gruplarda palpasyon ile tespit edilen tümör görülme sıklığı

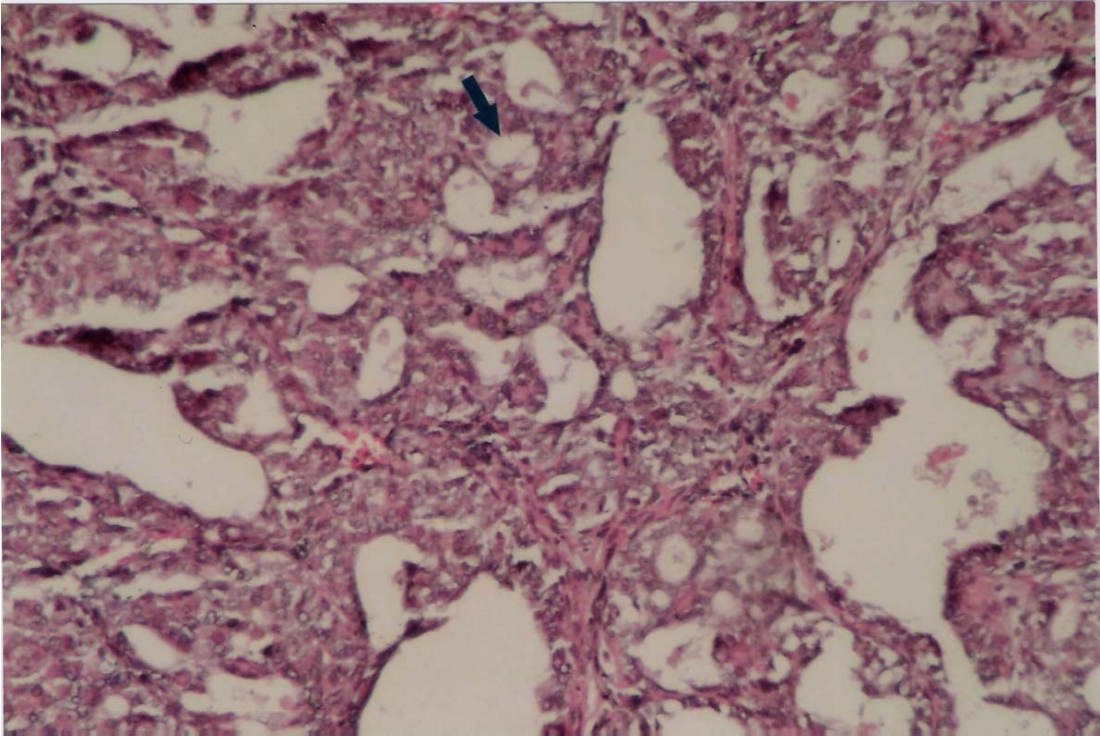
Gruplar	Grupların hayvan sayısı	Palpasyon ile tümör tespit edilen hayvan sayısı	Tümör görülme oranı	MNU uygulamasından sonra tümörlerin görüldüğü aylar		
				3.	4.	5.
MNU Grubu	13	6	%46.15	2	2	2
MNU+ısırgan	15	2	%13.33	1	1	—

5.3.Histopatolojik Bulgular

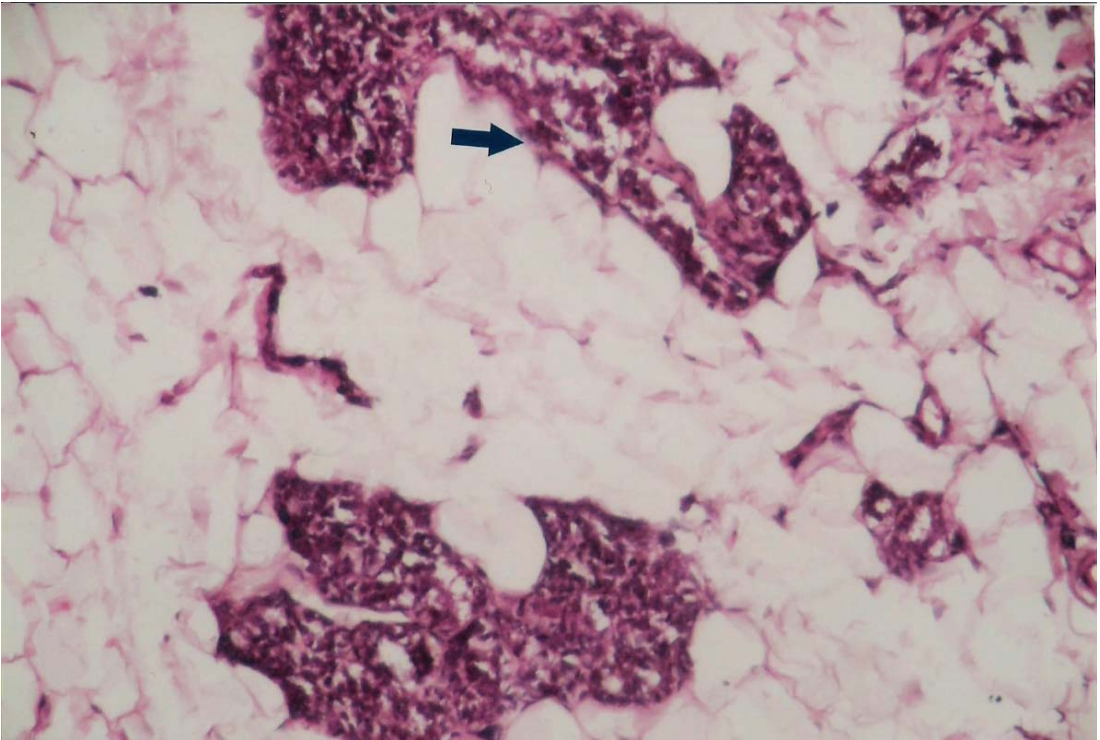
Kontrol grubu, MNU uygulanan grup ve MNU uygulanan+ısırgan otu verilen gruba ait meme bez yapılarının histopatolojik görünümü Şekil 14, 15, 16’te gösterilmiştir. Grup 2’de düzensiz şekilli yer yer birleşme eğilimi gösteren bezlerin oluşturduğu tümöral alanlar görülmektedir. Tümörü oluşturan hücreler pleomorfik hiperkromatik nüveli olup yer yer belirgin nükleollere rastlanmıştır. Bu gruptaki meme örneklerinin birkaçında invazyona kadar ilerlemiş patolojik bulgular gözlenmiştir. Grup 3’te ise küçük, yuvarlak veya ovoid, dar, soluk sitoplazmalı uniform hücrelerin oluşturduğu intralobüler epitel proliferasyonu görülmüştür.



Şekil 14. Kontrol grubu rat memelerine ait bez yapılarının histolojik görünümü (HE×200).



Şekil 15. MNU uygulanan grupta oluşan tümördeki bez yapılarının histolojik görünümü (HE×200).



Şekil 16. MNU + ısırgan uygulanan grupta bez epitelinde belirgin epitel proliferasyonunun histolojik görünümü (HE×200).

6. TARTIŞMA

Meme kanseri tüm dünyada kadınlarda en çok görülen kanser türü olup kanserden ölümlerin başlıca sebebinin oluşturmaktadır. Genelde yaşam boyunca on kadından biri meme kanseri olma, bunların üçte biri ise meme kanserinden hayatını kaybetme tehlikesi ile karşı karşıyadır (7). Meme kanserinin bilinen risk faktörlerinin (yaş, cinsiyet, aile hikayesi gibi) çoğu değiştirilemez. Ancak özellikle yaşam tarzı ve çevre ile ilişkili değiştirilebilir risk faktörlerinin rolü ilgi çekmiştir. Beslenme meme kanseri oranlarını etkileyebilecek bir yaşam tarzı bileşeni olarak kabul edilmiştir. Geniş kapsamlı hayvan ve insan çalışmaları diyetel faktörlerin tüm kanser ölümlerinin %35'lik kısmını kapsadığını göstermiştir (111). Diyetler, mutajen ve karsinojen bileşiklerin yanı sıra antimutajen ve antikarsinojen özellikteki bileşikler de içerirler. Bu nedenle insanlarda beslenmenin ya kanser oluşumuna neden olacağı veya kanserin önlenmesinde yardımcı bir faktör olarak rol alacağı düşünülmektedir.

Meme kanseri nedenleri arasında lipit peroksidasyonunun düşünülme başlanması; çalışmaları çeşitli besinsel antioksidanların kanser oluşumu üzerine etkilerini araştırmaya yöneltmiştir (112). Antioksidanların karsinogenezin başlama ve gelişme dönemini inhibe ettikleri, hücre ölümü ve transformasyonunu önledikleri bulunmuştur (7).

Sebze, meyve ve şifalı bitkiler, antioksidan etkiye sahip fenolik bileşikler (fenolik asit, flavonoidler, kumarinler vs.), nitrojen bileşikler (alkaloidler, aminler vs.) vitaminler, terpenoidler gibi birçok serbest radikal temizleyiciyi içerirler. Doğal antioksidanların alımı kanser, kardiovasküler hastalıklar, diabet ve yaşa bağlı diğer hastalıkları azalttığı savunulmaktadır. Ancak bu alanda hala çelişkili düşünceler vardır. Halen birçok kanserin tedavisini sağlayacak çok sayıda ilaç mevcut değildir, üstelik, çoğu kanserin tedavisi de oldukça pahalıdır. 1960'dan beri bitkilerin antitümör aktiviteleri araştırılmakta ve şifalı bitkilerden izole edilen birçok doğal bileşim yeni antikanser ilaçların kaynağı olarak kullanılmaktadır (113). Deneysel çalışmalar gibi klinik ve epidemiyolojik çalışmalarda da singlet oksijen (O_2^1), süperoksit anyonu (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali ($\cdot OH$) gibi reaktif oksijen metabolitlerinin kanser etyolojisindeki rolünü desteklediği gösterilmiştir. ROS'un mutagenез, sitotoksitate ve gen ekspresyonundaki değişiklikler ile sonuçlanacak çok miktarda hücrel ve moleküler etkileri mevcuttur (114).

Meme kanseri prooksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengesizlik sonucu oluşan oksidatif stresin yol açtığı kompleks bir hastalıktır. DNA, proteinler, hücre membranı ve mitokondri hasarı meme kanseri oluşumunda önemli rol oynar (115).

Meme epitelinin ROS'a maruz kalması, fibroblast proliferasyonunu, epitelyal hiperplaziyi, hücre atipi ve meme kanserinin oluşumunu başlatabilir. Özellikle ROS'un sebep olduğu lipid peroksidasyon ürünleri, DNA ile reaksiyona girerek protoonkogenlerde ve tümör süpresör genlerde mutasyona öncülük ederek, normal epitelini malign forma dönüşümünü sağlarlar (116).

Çoklu doymamış yağ asitlerinin serbest radikaller ile reaksiyonu sonucu ortaya çıkan lipid peroksidasyonunun son ürünü mutlak bir aldehit olan MDA, lipitler, proteinler ve nükleik asitler ile çapraz bağlanmaya neden olmaktadır (114). Lipid peroksidasyonu; kanser, ateroskleroz, romatoid artrit, inflamasyon, reperfüzyon hasarı, diabetes mellitus ve lupus gibi bir grup hastalığın oluşumuna sebep olur (117). Lipid peroksidasyonunun ikincil ürünü olan MDA, doku zincir reaksiyonlarının hız belirleyicisidir. Lipid peroksidasyon ürünlerinin DNA hasarına yol açtığı belirlenmiştir. Lipid hidroperoksitler direkt olarak DNA zincir kırılmasını yol açarken, lipid peroksil ve alkoksil radikalleri DNA'da baz oksidasyonuna neden olur. İn vivo olarak peroksit ve hidroperoksitlerin tümör ilerletici etki gösterdikleri ispatlanmıştır. Ayrıca lipid peroksidasyonunun prokarsinojenleri son karsinojene çevirmede indirekt rol alabileceği gösterilmiştir. Portakal ve ark. (118), yaptıkları çalışmada meme kanserli dokunun MDA düzeylerini, çevre normal dokuya göre yüksek olarak bulmuşlar ve bu yüksekliğinde nekroz varlığında yetersiz kanlanma sonucunda ortaya çıktığını düşünmüşlerdir. Khanzode ve ark. (115), çalışmalarında meme kanserli hastaların serum MDA düzeylerini kontrole göre belirgin olarak yüksek bulmuşlardır. Bu bulgu meme kanserli hastalarda plazma MDA düzeylerinin artmış bulunduğu ilk çalışmaları desteklemiştir. Huang ve ark.'da (119), çalışmalarında meme kanserli hastaların plazma MDA düzeylerini kontrole göre yüksek olarak bulmuşlar ve artmış oksidatif stresin bir göstergesi olan MDA düzeylerinin yükselmesi, çeşitli kanser hastalarında oksidatif stresin mutageneze sebep olarak kanser oluşumunda önemli rol oynayabileceğini düşünmüşlerdir. Yeh ve ark. (120), yaptıkları bir çalışmada meme kanserli hastalarda plazma MDA düzeylerini ve süperoksit anyon radikali (O_2^-) düzeylerini kontrol ile karşılaştırıldığında belirgin olarak yüksek bulmuşlardır. MDA hücresel bileşenlerin

birçok fonksiyonel grubu ile ilişkiye girebildiğinden tümör ilerlemesini arttırdığı düşünülmüştür.

Gerber ve ark. (121), çalışmalarında meme kanserli hastaların plazma MDA düzeylerini kontrole göre düşük bulmuşlar ve sonuçta çoğalma için selektif bir avantaj sağlayan düşük lipid peroksidasyonunun ve yüksek antioksidan düzeylerinin tümör için karakteristik olabileceğini bildirmişlerdir. Gerber ve ark. (122), başka bir çalışmalarında plazma MDA düzeylerinin tümörün çapı ve ilerleyişiyle azaldığı ve vitamin E düzeylerinin arttığını tespit etmişlerdir. Bu değişikliklerin premenopozal kadınlarda menopozal kadınlara göre belirgin olduğu belirtilmiştir. MDA konsantrasyonu yaş ve tümör büyüklüğüne göre karşılaştırıldığında; tümör çapı arttıkça konsantrasyonun azaldığı ve gençlere göre yaşlı kadınlarda daha yüksek konsantrasyon gösterdiği tespit edilmiştir. Çoğalan hücrelerin, yüksek antioksidan ve düşük oksidan düzeyi ile oksidan-antioksidan durumu gelişmelerinin devamını sağlayacak şekilde düzenledikleri düşünülmüştür.

Boyd ve ark. (123), 24 saatlik zaman periyodunda idrarla MDA atılımı yönünden mamografik displazili premenopozal kadınlarla, bu radyolojik değişikliklerin olmadığı kontrol grubunu karşılaştırmışlar, displazili premenopozal kadınlarda MDA atılımının belirgin olarak yüksek olduğunu bulmuşlardır. İdrar ile atılan MDA miktarının diyetdeki veya dokulardaki lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olduğu ve lipid peroksidasyonunun kanserin ilerlemesi ile ilgili olabileceğini düşünmüşlerdir. Mascarinec ve ark. (124), ise sebze ve meyvelerin kanser koruyucu mekanizmalarını gözlemlemek için diyetin 3.ve 6. ayında plazma fenol ve MDA düzeyleri tespit edilmiştir. Ancak meme kanserli hastalarda sebze ve meyvelerin miktarını arttırmakla MDA düzeylerinde bekledikleri düşüşü elde edemediklerini görmüşlerdir.

Yaptığımız çalışmada grup 1 (kontrol grubu), grup 2 (MNU uygulanan grup), grup 3 (MNU uygulanan + ısırgan otu verilen grup) ve grup 4 (ısırganotu verilen grup) arasında MDA düzeylerindeki değişimlere baktık. Grup 2 MDA düzeylerinin grup 4'e göre anlamlı olarak yüksek olduğunu tespit ettik ($p<0.01$). Grup 2'nin MDA düzeyleri grup 1 ile karşılaştırıldığında grup 2'de artış tespit edildi ve bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$). Grup 3'ün MDA düzeyleri kontrol grubu MDA düzeylerine çok yakın bulundu. Çalışmamızda ayrıca grup 4'ün MDA düzeylerinin kontrol grubundan bile daha düşük olduğu görüldü. Grup 2'ye göre, grup 3'te MDA

düzeylerindeki %33 lük bir azalma ısırgan otunun etkin bir şekilde lipid peroksidasyonunu önlediği şeklinde yorumlanabilir. Meme kanseri oluşturulan grupta diğer literatürleri destekler şekilde lipid peroksidasyonu artmış bulduk. Bu da proliferen olan hücrelerde artmış lipid peroksidasyonundan veya azalmış antioksidan sistemden (hem enzimatik hem nonenzimatik) kaynaklanmış olabilir. Grup 4 MDA düzeylerinin kontrol grubu değerlerinden daha düşük olması muhtemelen ısırgan otunun antioksidan etkisiyle oksidatif stresi azaltmasından dolayıdır.

Hücreyel savunma sistemi içinde yer alan antioksidan enzim sistemi serbest radikallere karşı en önemli savunma mekanizmasıdır. Bu sistem içinde Cu, Zn süperoksit dismutaz (Cu, ZnSOD), Mn süperoksit dismutaz (Mn-SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz ve glukoz-6-fosfat dehidrogenaz enzimleri yer almaktadır. SOD, katalaz ve glutatyon peroksidaz oksijenin indirgenmesi neticesinde oluşan ara metabolitlere karşı koruyucu rolü olan ve takım halinde çalışan enzim grubudur (7).

Plazmada üretilen ve eritrosit hücre membranını geçebilen hidrojen peroksit ve süperoksit iyonları eritrositlerde toplanır (125). Eritrositler devamlı olarak oksidatif strese maruz kalmaktadırlar. Normal eritrositin indirgeme potansiyeli yükseltgeme potansiyelinden 250 kat daha fazladır (121). Bu açıdan eritrositler önemli bir radikal havuzu olup hidrojen peroksidin detoksifikasyonu için GSH-Px ve CAT, süperoksit iyon radikallerinin dismutasyonu için SOD gibi hücre içi antioksidan defans sistemleri devreye girerek daha toksik hidroksil radikallerinin oluşmasını engellerler (125).

SOD süperoksit anyon radikalini hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalize eden antioksidan bir metalloproteinazdır. Mn-SOD mitokondri matriksinde lokalizedir. Mn-SOD, hücreyel metabolizmanın ürünü olan ve yüksek reaktif bir oksidan olan $O_2^{\cdot-}$ 'in hücreyel konsantrasyonunun düzenlenmesinde ve oksidatif hücre hasarına karşı korumada rol alır. Birçok tümör hücresinde Mn-SOD ekspresyonunun düşük olduğu gösterilmiştir. Mn-SOD'ın insan melanoma hücrelerinde meme kanser hücrelerinde ve glioma hücrelerindeki overekspresyonu tümör oluşumunu baskılayan tümör süpresör gen olabileceğini düşündürmüştür (126).

Li ve ark. (127) kültürde üretilmiş insan meme kanser hücresi olan MCF-7'ye Mn-SOD cDNA transfer ederek artmış Mn-SOD fonksiyonunun hücredeki etkilerini tespit etmek istemişlerdir. Mn-SOD overekspresyon klonu, kontrole vektör transfer

edilen hücreler ile MCF-7'ye tranfer edilen hücreler ile karşılaştırılmış ve Mn-SOD overekspresyon hücreleri MCF-7 hücrelerinin 5.6 kat daha fazla artmış Mn-SOD aktivitesi gösterdiğini saptamışlardır. Mn-SOD cDNA enjekte edildikten sonra MCF-7'nin klon oluşumunu sağlayan bölümünde azalma görmüşlerdir. Farelere aktarıldığında ise MCF-7 ve kontrol plazmid hücreleri ile karşılaştırıldığında MCF-7 hücrelerinde Mn-SOD overekspresyon hücrelerinin tümör gelişimini belirgin olarak inhibe ettiği görülmüştür. Ray ve ark. (114) meme kanserli hastalarda O_2^- üretiminin kontrole göre belirgin yüksek olduğunu bulmuşlardır. H_2O_2 üretimi özellikle stage III ve postmenopozal meme kanserli hastalarda kontrole göre belirgin yüksek bulunmuş ve bütün meme kanserli gruplarda SOD ve GSH-Px aktivitelerinin belirgin artmış olduğu tespit edilmiştir.

Di Silvestro ve ark (128), çalışmalarında 24 gün boyunca izoflavondan zengin soya verdikleri meme kanserli hastaların bakır bağımlı SOD-1 aktivitelerinin arttığını görmüşler ve bu yüksekliğin soyadaki Cu miktarı düşük olduğundan soyanın alımıyla ilişkisi olmadığını tespit etmişlerdir. DNA oksidan ürünü olan 8-deoksihidroksiguanozin miktarının idrardaki miktarında bir değişiklik görülmemiş buda diyet süresinin kısa olmasına bağlanmıştır.

Koksoy ve ark. (129), benign ve malign meme hastalıklarında SOD aktivitesinin belirgin artmış olduğunu tespit etmişlerdir. SOD aktivitesinde değişiklerin görülmesi reaktif oksijen radikallerinin benign ve malign tümör gelişiminde patolojik bir rol oynadığı düşünülmüştür. Kumaraguruparan ve ark. (116), meme kanserli hastaların menopoz durumlarına ve evrelerine göre antioksidan durumlarına bakmışlar ve SOD düzeylerini normal dokulara göre belirgin olarak yüksek bulmuşlardır. SOD aktivitesi premenopozal kadınlarda postmenopozal kadınlara göre hafif bir yükseklik gösterirken, evre ilerledikçe SOD aktivitesinde artış tespit etmişlerdir. SOD ve CAT; O_2^- ve H_2O_2 gibi ROS'ları elimine eden primer antioksidan enzimler olarak kabul edildiğinden SOD ve CAT'ın kanser oluşumunda başlangıç ve gelişme/transformasyon evrelerini inhibe ederek antikarsinojen olarak görev aldıkları düşünülmektedir. Birkaç çalışmada meme kanseri gibi birçok malignitede total ve mitokondrial SOD mRNA ekspresyonunda artış olduğu bildirilmiştir. Portakal ve ark. (118) çalışmalarında Mn-SOD, total SOD, katalaz ve GSH-Px aktivitelerini meme tümörlü dokularda çevre dokulara göre belirgin yüksek bulmuşlardır.

Kumar ve ark. (130), meme kanserli hastaların eritrositlerinde bütün antioksidan enzimlerin (SOD, katalaz, glutatyon peroksidaz) azaldığını tespit etmişlerdir. Bu enzimlerin eksiklik sebebi olarak, kanser durumunda eritrositlerde meydana gelen biyokimyasal anormalliklerin antioksidatif enzimlerin üretim ve fonksiyonlarını azalttığını düşünmüşlerdir ve bunun sonucu olarakta vücudun serbest radikallerin kontrolünde yetersiz kaldığını belirtmişlerdir. Bir diğer açıklama ise bu enzimlerin dolaşımdaki inhibitörlerinin bu enzimleri etkili bir şekilde bozan tümörün kendisi tarafından üretiliyor olabileceği şeklinde yorumlamışlardır. Bewick ve ark. (131) lenfomalı hastaların eritrosit antioksidan enzimlerinde eksiklik olduğunu tespit etmişlerdir. Değişik tipteki tümörlerde antioksidan sistemin etkili bir şekilde baskılandığı tahmin edilmiştir.

Çalışmamızda gruplara ait eritrosit SOD aktivitelerini karşılaştırdığımız zaman; grup 3'ün SOD aktivitesi, grup 1, grup 2 ve grup 4'e göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gösterdi ($p < 0.0001$). Grup 2 ile grup 1 SOD aktiviteleri karşılaştırıldığında ise grup 2'de gözlenen azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Grup 4 SOD aktivitesi kontrol grubuna göre hafif bir artış gösterdi ($p > 0.05$). Grup 3'ün SOD aktivitesinin diğer gruplara göre belirgin azalışı ilgi çekiciydi. Grup 1'e göre grup 2'deki azalış muhtemelen süperoksid radikallerinin ortamdan temizlemesi esnasında tüketilmesinden kaynaklanmış olabilir. Yapılan bir çalışmada ısırgan otunun çok güçlü bir süperoksit anyon temizleyicisi olduğu bildirilmiştir (92). Grup 3'teki belirgin azalan SOD aktivitesinin sebebi, ısırgan otunun antioksidan olarak süperoksit radikali temizleyicisi olması ve SOD'un gen ekspresyonunu baskılanması olabilir.

Katalaz peroksizomlarda bulunan antioksidan bir enzimdir (60). Katalaz, hidrojen peroksidi oksijen ve suya parçalayan reaksiyonu katalizler (71). GSH-Px ise hidrojen peroksit ve diğer peroksitlerin yıkımını katalize eden önemli bir antioksidandır.

Perumal ve ark. (132), deneysel olarak oluşturdukları meme kanserinde eritrosit katalaz, SOD, GSH-Px gibi antioksidan enzim düzeylerinin azaldığını tespit etmişlerdir. Daha sonra ağız yoluyla 28 gün boyunca tamoksifen ile birlikte koenzimQ10 vermişler ve bu ajanların belirgin derecede hücrel büyüme önlemeye uygun aktivite kazandırdıklarını tespit etmişlerdir. Kumaraguruparan ve ark. (133), fibroadenomalı, meme kanserli ve normal hastaların antioksidan enzim profiline bakmışlar ve meme kanserli vakalarda fibroadenomalı ve normal vakalara göre SOD, CAT, GSH-Px ve

GSH aktivitelerinde azalma tespit etmişlerdir. Bu antioksidan enzimler eritrositleri lipid peroksidasyon sonucu oluşan O_2^- ve H_2O_2 'ye karşı korurlar. Meme kanserli hastalarda artmış lipid peroksidasyonu azalmış SOD ve CAT aktivitesiyle korele bulunmuştur. Malign hücrelerin tümörün gelişimini sağlayabilmek için antioksidan enzimleri dolaşımdan ayırabileceği öne sürülmüştür. Meme kanserli hastalarda SOD, CAT ve GSH-Px gibi enzimlerin eksikliği tümör hücreleri tarafından lipid peroksidasyonunun temizlenmesi için artmış kullanımından dolayı olabileceği düşünülmüştür.

Tas ve ark. (134), Ray ve ark. (114), gibi meme kanserli hastalarda kontrole göre lipid peroksidasyonu, SOD ve GSH-Px düzeylerinde belirgin artış tespit etmelerine rağmen katalaz düzeylerinde belirgin azalış tespit etmişlerdir. Ayrıca Ray ve arkadaşlarının çalışmalarında meme kanserli hastalarda O_2^- ve H_2O_2 üretim hızının belirgin olarak arttığı görülmüştür. SOD, O_2^- 'ı H_2O_2 'ye dönüştürür. Daha sonra GSH-Px ve katalaz CAT ile etkisiz hale dönüştürülmeye çalışılır. Katalaz aktivitesi düşük olduğunda GSH-Px aktivitesi H_2O_2 'yi tamamen H_2O 'ye dönüştürmede yetersiz kalır. Sonuç olarak H_2O_2 birikimi artmış MDA üretimi ile sonuçlanacak fazla miktarda. OH radikal oluşumuna sebep olur. Artmış ROS üretimi ve MDA konsantrasyonu ve düşük katalaz düzeyleri meme kanserli hastalarda oksidatif stresi gösterir. Polat ve ark. (135), lipid peroksidasyonunu ve antioksidan enzim defans sistemini tespit etmek için malign meme tümürlü ve benign meme hastalıklı vakaları kontrol ile karşılaştırmışlardır. Meme kanserli hastalarda katalaz dahil bütün antioksidan enzimlerin arttığını bulmuşlardır. Yalnızca GSH-Px ve SOD benign meme hastalıklı vakalarda da yüksek bulunmuştur. Artmış eritrosit antioksidan enzimlerinin meme kanserli hastalarda yükselmiş oksidatif strese kompensatuar bir cevap olarak artmış olabileceği düşünülmüştür.

Çoban'ın (136) yaptığı çalışmada bireyler arasında katalaz enzim aktivitelerinde oldukça büyük farklılıklar gözlemlenmiştir. Hastaların 9'unda tümürlü doku katalaz enzim aktivitesi kontrol dokuya göre düşme göstermiş, 7 hastanın tümör dokusunda artmış, 13'ünde değişmemiş ve 11 hastada ise aktivite saptanmamıştır. Araştırmadaki farklılıkların nedeni bireysel farklılıklara bağlanmıştır. Singh ve ark. (137), GSH-Px ve glutatyon redüktaz enzimleri ile ilgili çalışmalarında meme tümör dokusu ve kontrol dokusu arasında farklılık bulamamıştır.

Çalışmamızda gruplara ait katalaz aktiviteleri karşılaştırıldığında; grup 4'ün katalaz aktivitesi grup 2 ve grup 3'e göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdi

(sırasıyla $p < 0.05$, $p < 0.01$). Grup 2 katalaz aktivitesinde grup 1'e göre azalma tespit edildi fakat istatistiksel olarak anlamlı bulunamadı ($p > 0.05$). Grup 4'ün katalaz aktivitesi kontrol grubuna göre yaklaşık %18'lik bir artış gösterdi ancak istatistiksel olarak anlamlılık tespit edilemedi ($p > 0.05$). Grup 3'ün katalaz aktivitesinde ise grup 2'ye göre çok az bir artış tespit edildi. Isırgan otunun, meme kanserinde oluşan oksidatif stresi ve lipid peroksidasyonunu azaltması ve ısırgan otu uygulanan gruptaki CAT aktivitesini kontrole göre arttırması önemli ölçüde antioksidan etkisinin olduğunu bir kez daha göstermiştir.

Gruplara ait GSH-Px aktiviteleri karşılaştırıldığında; Singh ve ark (137), çalışmalarına benzer şekilde gruplar arası GSH-Px aktivitelerinde istatistiksel olarak anlamlılık tespit edilemedi ($p > 0.05$). Ancak grup 4'te diğer gruplara göre GSH-Px aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir artış tespit edildi. Tümör dokusunda SOD enzim aktivitesinde artış olduğunda, H_2O_2 'nin detoksifikasyonunu sağlayabilmek için GSH-Px aktivitesi de artar. Nitekim SOD enzim aktivitesindeki artışa katalaz ve/veya GSH-Px enzim aktivitelerinin eşlik etmesi gerektiği ileri sürülmüştür. H_2O_2 'nin detoksifikasyonu için katalaz enziminin devreye girebilmesi için H_2O_2 'nin belirli bir düzeye ulaşması gerektiği düşünülmektedir (7). Ancak çalışmamızda Grup 2'nin SOD aktivitesinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir değişim bulunmadığından bunun sonucu olarak GSH-Px ve katalaz aktivitelerinin değişmemesi de buna bağlanabilir.

Bilinen bütün antioksidan çeşitlerini ayrı ayrı ölçmek ve değişik antioksidan türleri arasındaki ilişkiyi ortaya koymak zor bir iş olduğu için total antioksidan ölçüm metodu geliştirilmiştir (138). TAS ölçümü insanlarda fizyolojik, çevresel ve beslenme faktörlerinin redoks durumunu değerlendirmeye yardımcı eder. Bitkisel antioksidan alımı veya antioksidandan zengin yiyeceklerin alımından sonra plazma TAS'deki değişiklikler, besinsel bileşimlerin biyoyararlanımı ve absorpsiyonu hakkında bilgi sağlayabilir. TAS, diyetlerdeki, bitkilerdeki ve diğer besinsel tamamlayıcıların antioksidan yeteneklerini tespit için kullanılmaktadır (75).

TAS 'ı değerlendirmenin klinik önemi; kanser, diabetes mellitus, romatoid artrit, renal, kardiovasküler, infeksiyon ve nörolojik hastalıklar açısından yüksek riskli hastaları ve beslenme eksikliklerini ayırt etmede kullanılmasındandır. TAS düzeylerinde

vitamin C, E, β -karoten, siyah ve yeşil çaydaki fenollerin alımı sonucu belirgin artış meydana gelir. TAS antioksidan terapisinin izlenmesinde kullanılabilir (139).

Ching ve ark. (138), 153 yeni meme kanseri tanısı konulmuş ve tedavi almamış hasta ile 151 kontrolü antioksidan durum açısından karşılaştırılmıştır. Serum retinol, α - tokoferol, likopen, α ve β -karoten düzeyleri, total antioksidan durumları ve serum albumin, bilirubin ve ürik asit düzeyleri ölçülmüştür. Yükselmiş retinol, β -karoten, bilirubin ve total antioksidan durumun azalmış meme kanseri riski ile ilişkili olduğu bulunmuştur.

Cai ve ark. (113), Çin'deki antioksidan ve fenolik bileşikleri bulunan 112 çeşit şifalı bitkinin antikanser ilişkisini araştırmak için total antioksidan kapasitesine ve total fenolik içeriğine bakmışlardır. Şifalı bitkilerdeki antioksidan kapasite ile total fenolik içerik arasında belirgin pozitif ilişki bulunmuş ve fenolik içeriğin antioksidan etkiyi oluşturan temel yapı olduğu düşünülmüştür. Diğer sebze ve meyvelere göre bu şifalı bitkilerin çok güçlü antioksidan aktiviteye ve yüksek fenolik bileşik içeriğine sahip olduğu tespit edilmiştir. Çin'deki şifalı bitkilerin doğal bileşimlerinin kemopreventif ajan kaynağı olarak kullanılabilceği ileri sürülmüştür.

Swain ve ark. (140), çalışmalarında perimenapozal kadınlarda soya-protein alımıyla demir indekslerinin TAS düzeyleri üzerine etkilerini tespit etmeyi amaçlamışlardır. Yüksek demir düzeyleri oksidatif stresi arttırmaktadır. Soya-proteinin ise demir absorpsiyonunu belirgin olarak engellediği bilinmektedir. Bu amaçla izoflavondan zengin soya-protein alan grup, izoflavondan fakir soya-proteini alan grup ve kontrol olmak üzere 3 grup oluşturulmuş ve izoflavondan zengin soya alımının demir emilimini azaltarak düşük demir depolarının perimenopozal kadınları oksidatif strese karşı koruyucu olabileceğini belirtmişlerdir. İzoflavonların TAS üzerine olumlu etkilerinden dolayı TAS düzeyinin soya proteini alan grupta arttığı gözlenmiştir.

Yapılan bir çalışmada ısırgan otu ekstraktının total antioksidan aktivitesinin, indirgeme kapasitesinin, süperoksit temizleme aktivitesinin α -tokoferol gibi güçlü antioksidandan bile daha fazla olduğu gösterilmiştir (91).

Çalışmamızda gruplar arası TAS düzeyleri karşılaştırıldığında; grup 2 TAS düzeyleri grup 4 ve grup 1'e göre belirgin azalmış bulundu ($p < 0.05$). Grup 3'te ise grup 2'ye göre ciddi bir artış gözlenmesine rağmen istatistiksel anlamlılık bulunamadı. Grup

3'ün TAS değerleri ise kontrol grubu TAS değerlerine çok yakın bulundu. Grup 2 MDA düzeyinde belirgin artış tespit edildiğinden bu gruptaki düşük TAS düzeyleri bu duruma paralellik göstermektedir. Grup 4'teki belirgin yüksek TAS düzeyleri ise ısırgan otunun antioksidan özellik gösteren birçok bileşimininin (kuersetin, rutin gibi flavanoller) bulunmasından dolayı olabilir. Fenoller hidroksil gruplarını güçlü temizleme kapasitelerine sahip olduklarından antioksidan aktiviteyi arttırmaya yardımcı olurlar.

Çinko insan vücudundaki birçok enzimin işleyişinde görev almaktadır. Bunların başında Cu, Zn-SOD gelmektedir. Çinkonun sabit bir valansı olduğu için (Sadece Zn⁺⁺ şeklinde bulunabilir) inko tuzları serbest radikal hasarına yol amazlar. Çeşitli laboratuvar çalışmaları ile çinkonun antioksidan gibi davrandığı gösterilmiştir. Çünkü Zn, çeşitli biyolojik moleküllere bağlanarak demir ve bakırın bağlanmasını ve dolayısıyla bunların yapacağı oksidatif hasarı önlemektedir (93). Çinko, DNA ve RNA polimerazın bir komponenti olduğundan hızla çoğalan dokularda ve hem normal hemde kanser hücrelerinde büyümeyi düzenleyici ve koruyucu görevi mevcuttur. Bakırın ROS oluşumunda ve membran lipid peroksidasyonunda katalitik rolü vardır (141). Bakırın insan vücudunda, Cu, Zn-SOD, seruloplazmin ve sitokrom oksidazların yapısında bulunmak, hemoglobin sentezinde kullanılmak gibi önemli görevleri vardır (93).

Zn konsantrasyonu meme kanser dokusunda normal meme dokusuna göre daha yüksektir (142). Ancak serum ve plazma Zn düzeylerinin meme kanserli hastalarda sağlıklı ve benign meme hastalıklı kişilere göre daha düşük olduğu gösterilmiştir (143). Woo ve ark. (144) yaptıkları çalışmada MNU ile meme tümörü oluşturulmuş ratların meme tmrndeki Zn konsantrasyonunu, meme bezindeki Zn konsantrasyonundan 6–19 kat daha fazla bulmuşlardır. Zn alımına bakmaksızın yüksek meme tümörü Zn konsantrasyonunun sebebi, yetersiz Zn dağılımı sonucu meme tümöründe Zn birikimi olduğunu ileri srlmştir. MNU ile oluşturulan meme tümörünün östrojen bağımlı olduğu bilinmektedir (145). Östrojenin mitogenik aktivitesine östrojen reseptörü aracılık eder. Östrojen reseptörü Zn-parmak transkripsiyon faktörüdür ve östrojen aktivitesi için Zn'nin varlığı gerekli olduğundan bu Zn birikiminin, ratlarda MNU ile oluşturulan meme tümörüyle ilişkili olabileceği dşnlmştir. Ayrıca kontrolsüz çoğalmayla karakterize olan kanserde çoğalmanın devamı için Zn'nin gerekli olduğu vurgulanmıştır.

Huang ve ark. (141), meme kanserli 35 hastanın MDA düzeyleri ile Zn ve Cu düzeylerini 35 kontrol ile karşılaştırmışlardır. Zn konsantrasyonunda herhangi bir değişim saptanmazken Cu konsantrasyonu meme kanserli hastalarda kontrole göre belirgin artmış olarak bulunmuştur. Serum MDA ve Cu düzeyleri arasında meme kanserli hastalarda pozitif bir korelasyon bulunmuşken kontrolde bulunamamıştır. Cu'nun H_2O_2 'nin indirgenme reaksiyonuna katıldığı bilinmektedir. H_2O_2 'nin Cu ile etkileşimi sonucu, OH radikali gibi çok daha reaktif radikalın oluşumu gerçekleşir. Bundan dolayı kanser ilerlemesinin bir bölümünden Cu'nun katalizlediği oksidatif stres sorumlu tutulmuştur.

Koksoy ve ark. (129); kontrol grubu, benign meme hastalıklı (BMH) grup ve meme kanserli grubu olmak üzere üç grup oluşturulmuş ve plazma ve eritrosit Zn ve Cu düzeylerine bakılmıştır. Plazma Cu BMH'lıklı grupta kontrole göre hafif artmış bulunmuşken meme kanserli hastalarda çok belirgin artış saptanılmıştır. Eritrosit Cu düzeyleri ise her iki grupta belirgin azalmış bulunmuştur. Plazma Zn düzeylerinin her iki grupta da hafif arttığını görmüşlerdir. Eritrosit Zn düzeyi ise her iki grupta kontrole göre belirgin artış göstermiştir. Yucel ve ark. (146), meme kanserli hastaların serum Cu, Zn ve Cu/Zn oranını kontrol ile karşılaştırmışlardır. Serum Cu düzeyleri ve Cu/Zn oranı hasta grubunda kontrol grubuna göre belirgin yüksek bulunmuştur. Zn düzeyleri ise hasta grubunda kontrole göre belirgin düşük bulunmuştur.

Adzersen ve ark. (147), çalışmalarında bazı vitaminlerin ve minerallerin fazla miktarlarda alınmasının DNA stabilize edici özelliklerinden dolayı azalmış meme kanseri riski gösterdikleri belirlenmiştir. Vitamin C, folat, β karoten, Zn ve Cu'nun alınmasının azalmış meme kanseri riski ile ilgili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca çiğ sebzelerin, yeşil renkli bütün bitkilerin alınmasının artması meme kanseri riskini azaltmada etkili olduğu bulunurken; pişmiş sebze, meyve, lif, demir, kalsiyum ve magnezyumun fazla alımı ile meme kanseri riski arasında bir fark görülememiştir.

Kuo ve ark. (148), yaptıkları çalışmalarında 68 meme tümörlü (benign ve malign) hastanın doku ve serumunda Zn ve Cu düzeylerine bakmışlardır. Normal doku örnekleri meme tümörlü hastalardan (tümörden 5 cm uzaktaki doku) alınmıştır. 25 sağlıklı kadından da serum örnekleri alınmıştır. Kontrol ile karşılaştırıldığında her iki tümör grubunda da serum Zn düzeyleri düşük tespit edilmiştir. Malign dokularda ise Zn ve Cu

düzeyleri yüksek bulunmuştur. Ayrıca serum Cu/Zn oranı malign tümörlü hastalarda yüksek bulunmuştur.

Zhaive ark. (149), Zn ve Cu alımının meme kanseri mortalitesi üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı ancak Cu/Zn oranının artması ile mortalitenin azaldığı gösterilmiştir. Bu yüzden Cu/Zn tümör ve kanserlerin tanısına yardımcı olabilecek bir indeks olduğu açıklanmıştır.

Çalışmamızda gruplar arası Zn düzeyleri karşılaştırıldığında; grup 2 Zn düzeyi bütün diğer gruplara göre yüksek bulundu. Grup 3 ile grup 2 karşılaştırıldığında grup 3'teki belirgin düzeydeki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$).

Çalışmamızda gruplar arası Cu düzeyleri karşılaştırıldığında; grup 4'ün Cu düzeyleri grup 3, grup 2 ve grup 1'e göre istatistiksel olarak belirgin azalma göstermiştir (sırasıyla $p < 0.0001$, $p < 0.005$, $p < 0.05$). Grup 2 Cu düzeyleri ise kontrol grubuna göre birçok literatürle uyumlu olarak artış gösterdi ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunamadı. Isırgan otu hakkında bilgilerimiz bugün itibariyle yetersiz olduğundan Cu'nun ısırgan uygulanan grupta ki belirgin düşüşün hangi mekanizmayla gerçekleştiğini bilememekteyiz.

Gruplar arası Cu/Zn oranı karşılaştırıldığında; grup 4 Cu/Zn oranının grup 2 ve grup 3'e göre belirgin azalışı istatistiksel olarak anlamlı bulundu (sırasıyla $p < 0.05$, $p < 0.01$). MNU uygulanan her iki grupta da Cu/Zn oranı kontrole göre belirgin yüksek olmasına rağmen istatistiksel anlamlılık bulunamadı ($p > 0.05$). Yapılan çalışmalarda meme kanserinde Cu/Zn oranı yüksek bulunmuş ve bunun azalmış mortalite için bir indeks olabileceği vurgulanmıştır.

Epidemiyolojik delillerin ışığında fazla miktarda sebze ve meyve alımının birçok kanseri önlediği açıklandığından kanser önleyici olabileceği düşünülen birçok spesifik gıda ve bitkiler incelenmeye alınmıştır. Bunların polifenolik komponentleri, antioksidan, antiproliferatif ve apoptozisi önleyici etkilerinden dolayı kansere karşı kullanılabilirler. Fenoller kanser oluşturan ajanları detoksifiye ederek DNA hasarı oluşumunu engellemektedirler (150). Jung ve ark. (151), çalışmalarında ratlarda 7,12-dimetilbenzantrasen (DMBA) ile meme kanseri oluşturulmuş ve üzüm suyunun değişik konsantrasyonlarında (346 mg/dl, 519 mg/dl ve 692 mg/dl) meme kanserini nasıl etkilediği tespit edilmeye çalışılmıştır. Bunun için üzüm suyu uygulamasına DMBA uygulanmasından 3 hafta önce başlanılmıştır. DMBA uygulanmasından 24 hafta sonra

adenokarsinoma insidansı kontrole, 346, 519 ve 692 mg/dl gruplarına göre sırasıyla %100, % 96, %84 ve %92 bulunmuştur. Tümör çaplarında kontrole göre belirgin azalma göstermiştir. Kontrol ile karşılaştırdıklarında üzüm suyunun DMBA-DNA ekspresyon oluşumunu doz bağımlı olarak belirgin olarak inhibe ettiğini gösterilmiştir. Meme 8-oxo-dG düzeylerini de kontrole göre azaltmış ancak istatistiksel anlamlılık bulunamamıştır. Yine SOD üzerine bir etkisi tespit edilmez iken, katalaz üzerine sadece 692 mg/dl dozunda %36'lık bir artış tespit edilmiştir. Bu çalışma üzüm suyunun memede karsinojenle oluşturulan DNA hasarını inhibe edilebileceği yada meme tümör oluşumunu geciktirebileceğine dikkat çekmiştir.

Bizde çalışmamızda palpasyonla tespit ettiğimiz tümör sayılarını grup 2 ve grup 3 ile karşılaştırdığımızda; 5,5 ayın sonunda grup 2'de %46.15 oranında palpe edilebilen tümör saptanırken grup 3'te %13.33 oranında tespit ettik. Buna göre ısırgan otunun palpe edilebilen meme tümör insidansını yaklaşık olarak %70 geriletmediğini gördük (Tablo 7). Ancak palpasyonla tespit edilemeyen grup 2 meme dokularını incelediğimizde ise hiperplazinin başladığını görürken, grup 3'ten aldığımız çoğu meme dokusunda hiperplazi bile gözlenmedi. Eş zamanlı olarak MNU uygulayıp ısırgan otuna başladığımızdan dolayı bu sonuçlar bize ısırgan otunun meme kanseri başlangıcını geciktirdiği yada geriletmediğini kanıslan oluşturmuştur. Ancak daha sağlıklı bir oran verebilmek için rattaki bütün memelerin alınıp tek tek incelenmesi gerekmektedir. Çalışmamızda meme dokularına ait histolojik kesitler incelendiğinde meme kanserinin MNU uyguladığımız gruptan aldığımız kesitlerin çoğunda invazyona kadar ilerlediğini buna karşın MNU uygulanan+ısırganotu verilen grubun çoğunun temiz yada sadece hiperplazi safhasında bulunması ilgi çekiciydi. Bu bulgulara göre ısırgan otunun meme kanserinde belirgin lipid peroksidasyonunu önleyici rolünün olduğu ancak antioksidan enzimlerden sadece katalaz aktivitesini belirgin arttırdığı tespit edildi. Ayrıca ısırgan otunun meme kanserinin başlayış ve ilerleyişini çeşitli mekanizmalarla (immün sistemi güçlendirerek, lipid peroksidasyonunu önleyerek, içeriğindeki fenollerin etkileriyle vs.) geriletmediğini düşünülmektedir. Prostat kanseri gibi meme kanseride hormon bağımlı bir kanserdir. Muhtemelen prostat kanserindeki gibi ısırgan otundaki lignanların ve lektinlerin etkisi ile reseptör düzeyinde etki ederek tümör oluşumunu engelliyor olabileceği düşünülmektedir. Isırgan kökünden elde edilen lektinin prostat hücrelerinde immunstimulatör aktivite gösterdiği ve epidermal büyüme faktör reseptörü ile etkileştiği

tespit edildiğinden, benzer mekanizmalarla meme tümör gelişimini gerilettiği varsayımlarımız arasındadır. Bugüne kadar ısırgan otunun meme kanseri üzerine yapılmış herhangi bir çalışmanın bulunmamasından dolayı yaptığımız bu çalışma ile bu konunun önünü açtığımızı düşünmekteyiz. Ancak meme kanseri oluşumunda birçok etyoloji söz konusu olduğundan, daha geniş biyokimyasal test parametreleriyle (hormonlar, IL'ler gibi) birlikte değerlendirilecek ve ısırgan otu etki mekanizmalarını ileri düzeyde açıklığa kavuşturacak daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Greenlee RT, Hill-Harmon MB, Murray T, Thun M. Cancer statistics 2001. CA Cancer J Clin. 2001; 51:15–36.
2. Hulka BS, Stark AT. Breast cancer: cause and prevention. Lancet. 1995; 346: 883–887.
3. Boring CC, Squires TS, Tong T. Cancer statistics 1993. C.A. Cancer J Clin.1993; 43: 4-26.
4. Kumaraguruparan R, Subapriya R, Viswanathan P, Nagini S. Tissue lipid peroxidation and antioxidant status in patients with adenocarcinoma of the breast. Clinica Chimica Acta. 2002; 325: 165–170.
5. Darendeliler E. Meme kanserinin epidemiyolojisi ve etyolojisi. Topuz E (editör). Meme Kanseri Biyoloji, Tanı, Evreleme Tedavi. 3.baskı, İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü Yayınları, 1997; 16–32.
6. Sherman CD, Calman KC, Firat D, Hossfald DK, Paunier JP, Elsebai I, ve Salvadori B. Klinik Onkoloji. 4.baskı. Sağlık Bakanlığı Türk Kanser Araştırma ve Savaş Kurumu Ortak Yayını, 1990.
7. İşcan M, Çoban T. Normal ve neoplastik meme dokusunda antioksidan enzimler. Klinik Gelişim.1998; 11: 392–395.
8. Tannock IF, Hill RP (editors).The basic science of Oncology. 2 baskı. New York: Mc Graw-Hill, 1992.
9. Bryant H. Breast Cancer in Canadian Women. BMC Women's Health. 2004; 4: 1–12.
10. Ottman R, King M, Pike Mc, Henderson BE. Practical guide for estimating risk for familial breast cancer. Lancet.1983; 2: 556–558.

11. Clamp A, Danson S, Clemons M. Hormonal and genetic risk factors for breast cancer. *Surg J R Coll Surg Edinb Irel.* 2003; 23–31.
12. Russo A, Zanna I, Tubiolo C, Migliavacca M, Bazan V, Latteri MA, Tomasino RM et al. Hereditary common cancers: molecular and clinical genetics. *Anticancer Res.* 2000; 20: 4841–51
13. Schweitzer S, Hogge JP, Grimes M, Bear HD, de Paredes ES. Cowden disease: a cutaneous marker for increased risk of breast cancer. *American journal of Radiology.* 1999; 172: 349–351.
14. Yoo KY, Kang D, Park SK, Kim SU, Kim SU, Shin A, Yoon H, Ahn SH, Noh DY, Choe KJ. Epidemiology of breast cancer in Korea: occurrence, high-risk groups, and prevention. *Korean Med Sci.* 2002; 17: 1–6.
15. Berstein L, Depue RH, Ross RK et al. Higher maternal levels of free oestradiol in first compared to second pregnancy. *JNCI.* 1986; 76: 1035–1039.
16. Güler N. Meme kanserinde kemoprevansiyon. *Hacettepe Tıp Dergisi.* 1999; 4: 292–293.
17. Rosner B, Colditz GA. Nurses' health study: log-incidence mathematical model of breast cancer incidence. *J Natl Cancer Inst.* 1996; 88: 359–364.
18. Key T, Appleby P, Barnes I, Reeves G. Endogenous Hormones and Breast Cancer Collaborative Group. Endogenous sex hormones and breast cancer in postmenopausal women: reanalysis of nine prospective studies. *JNCI.* 2002; 8: 606–616.
19. Thomas, HV, Reeves, GK, Key, TJ. Endogenous estrogen and postmenopausal breast cancer: a quantitative review. *Cancer Causes & Control.* 1997; 8: 922–928.
20. Pike MC, Henderson BE, Krailo MD, Duke A. Breast cancer in young women and use of oral contraceptives: possible modifying effect of formulation and age at use. *Lancet.* 1983; 2: 65–72.

21. Bernstein L, Pike MC, Krailo M et al. Update of the Los Angeles study of oral contraceptives and breast cancer. In Mann R (editor). Oral contraceptives and Breast Cancer. London: Porthenon Publishing Group,1990.
22. Pike MC, Bernstein L, Spicer D.Exogenous hormones and breast cancer risk. In: Neiderhuber J.(Editor). Current therapy in oncology. St. Louis, Decker,1993.
23. Ursin G, Henderson BE, Haile RW, Pike MC, Zhou N, Diep A, Bernstein L. Does oral Contraceptive use increase the risk of breast cancer in women with BRCA1/BRCA2 mutations more than in other women? Cancer Res.1997; 57,3678–3681.
24. D G R Evans and F Lalloo. Risk Assessment and Management of High Risk Familial Breast Cancer. Journal of Medical Genetics. 2002; 39: 865–871.
25. Anne McTiernan.Behavioral risk factors in breast cancer:can be modified?.The oncologist. 2003; 8: 326–334.
26. Adlercreutz CH, Goldin BR, Gorbach SL, Hockerstedt KA, Watanabe S, Hamalainen EK, Markkanen MH te al. Soybean phytoestrogen intake and cancer risk. J Nutr. 1995; 125: 757–770.
27. Ziegler RG, Hoover RN, Nomura AM et al. Relative weight, weight change, height, and breast cancer risk in Asian-American women. J Natl Cancer Inst. 1996; 88: 650–660.
28. Cho E, Spiegelman D, Hunter DJ, Chen WY, Zhang SM, Colditz GA and Willett WC. Premenopausal intakes of vitamins A, C, and E, folate, and carotenoids and risk of breast cancer. 2003.12; 713–720.
29. Rock CL. Nutritional factors in cancer prevention. Hematol Oncol Clin North Am. 1998; 12: 975–990.
30. Hunter DJ, Willet WC. Dietary Factors. Harris J, Lippman M, Marrow M, Hellman S (editors). Diseases of the Breast, Philadelphia: Lippincout, 1996.
31. Garland M, Willett WC, Manson JE, Hunter DJ. Antioxidants micronutrients and breast cancer. J.Am Coll Nutr. 1993; 12: 400–411.

32. Singletary KW, Gapstur SM. Alcohol and breast cancer: review of epidemiologic and experimental evidence and potencional mechanisms. JAMA. 2001; 286: 2143–2151.
33. Clemons, M, Loijens, L, Goss, P. Breast cancer risk following irradiation for Hodgkin's disease. Cancer Treat Rev. 2000; 26: 291–302.
34. Boice JD, Harvey E, Blettner M, Stovall M, Flannery JT. Cancer in the contralateral breast after radiotherapy for breast cancer. N Engl J Med.1992; 326: 781–787.
35. Bernstein L, Henderson BE, Hanisch R, Sullivan-Halley J, Ross RK. Physical exercise activity reduces the risk of breast cancer in young women. JNCI 1994; 86: 1403–1408.
36. McDivitt RW, Stevens JA, Lee NC, Wingo PA, Rubin GL, Gersell D. Histologic types of benign breast disease and the risk for breast cancer. The Cancer and Steroid Hormone Study Group. Cancer. 1992; 6; 1408–1414.
37. Sayek İ. Genel Cerrahi.3.Baskı, Ankara: Güneş Kitabevi, 2004: 904–907.
38. Andreoli TE, Bennett JC, Carpenter CJ, Plum F. Cecil Essentials of Medicine. Tuzcu M(editör). 4.Baskı, Nobel, 2000.
39. Sak SD. Meme kanserlerinin histopatolojik özellikleri. Klinik Gelişim. 1999; 12: 708–712.
40. Liberman L, Van Zee KJ, Dershaw DD, Morris EA, Abramson AF, Samli B. Mammographic Features of local Recurrence in Women Who Have Undergone Breast-Conserving Therapy for Ductal Carcinoma In Situ. AJR Am J Roentgenol. 1997; 168: 489–493.
41. Frykberg ER, Bland KI. Management of in situ and minimally invasive breast carcinoma. World J. Surg.1994;18: 45–57.
42. Robbins KC. Temel Patoloji. Çevikbaş U(Çeviren). 5.Baskı, Nobel, 1995.
43. Oğuz Mahmut, Aksungur EH, Bıçakçı YK, Çelikleş M. Ultrasonografi. Nobel Tıp Kitabevleri, 1997: 215–219.

44. Rosai J (editor). *Breast. Ackermanis Surgical Pathology*, St. Lois: Mosby, 1996: 1565–1660.
45. Yarbrow JW, Page DL, Fielding LP et al. American Joint Committee on Cancer Prognostic Factors Consensus Conference. 1999; 86: 2436–2446.
46. *Breast Cancer Facts and Figures 2001–2002*. American Cancer Society. 2001:10–12.
47. Kerlikowske K, Barclay J. Outcomes of modern screening mammography. *J Natl Cancer Inst Monogr*. 1997; 22: 105–111.
48. Zonderland HM, Coerkamp EG, Hermans J, van de Vijver MJ, van Voorthuisen AE. Diagnosis of breast cancer: contribution of US as an adjunct to mammography. *Radiology*. 1999; 213: 413–422.
49. Vecchione A. New and old in prognosis determination. *In Vivo*. 1993;7: 623–626.
50. Dnistrian AM, Schwartz MK, Greenberg EJ, Smith CA, Schwartz DC. Ca 15–3 and carcinoembryonic antigen in the clinical evaluation of breast cancer. *Clin. Chim. Acta*. 1991; 200: 81–93.
51. Omar S, Khaled H, Gaafar R, Zekry AR, Eissa S, el-Khatib O. Breast cancer in Egypt: a review of disease presentation and detection strategies. *East Mediterr Health J*. 2003; 9: 448–463.
52. Tobin MJ: *Breast Cancer*. Taylor RB(editor). *Family Medicine Principles and Practice*. 15.baskı. New York: Springer Verlag, 1998: 934–938.
53. Huang E, Buchholz TA, Meric F, Krishnamurthy S, Mirza NQ, Ames FC, et al. Classifying local disease recurrences after breast conservation therapy based on location and histology. *Cancer*. 2002; 95: 2059–2067.
54. Malin JL, Schuster MA, Kahn KA, Brook RH: Quality of breast cancer care: what do we know?. *J Clin Oncol*. 2002; 20: 4381–4393.
55. Wolff AC. Systemic therapy. *Curr Opin Oncol*. 2002; 14: 600–608.
56. Ward BA, Reiss M. *Breast Diseases*. Noble J(edi). *Primary Care Medicine*. 3.Baskı. St. Louis: Mosby, 2001. 364–367.

57. Willcox JK, Ash SL, Catignani GL. Antioxidants and prevention of chronic disease. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2004; 44: 275–295
58. Uysal M. Serbest radikaller, lipid peroksidleri organizmada prooksidan-antioksidan dengeyi etkileyen koşullar. *Klinik gelişim.*1998; 11: 336–341.
59. Nakazawa H, Genka C, Fujishima M. Pathological aspects of active oxygens/free radicals. *Jpn J Physiol.* 1996; 46:15–32.
60. Sözmen EY. Yaşlanma biyokimyası. Onat T, Emerk K, Sözmen ET (editörler). *İnsan Biyokimyası.* 1.Baskı, Ankara: 2002; 667–672.
61. Cheeseman KH. Slater TF. An Introduction to radical biochemistry. *Br. Med. Bull* 1993; 49: 481–493.
62. Yalçın AS. Antioksidanlar. *Klinik gelişim* 1998; 11: 342 –334.
63. Nordberg J, Arner ES. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radic Biol Med.* 2001; 31:1287–1312
64. Var A. Kronik böbrek yetmezlikli hastalarda oksidan ve antioksidan sistemlerin incelenmesi. Uzmanlık Tezi Elazığ Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya bölümü, 1999.
65. McCord J M. The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am J Med* 2000; 108: 652–659.
- 66- Slater TF. Free-Radical Mechanisms in Tissue Injury. *Biochem. J.* 1984; 222: 1–15.
- 67- Davies MJ. Singlet oxygen-mediated damage to proteins and its consequences. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003; 305: 761–70.
68. Y.Baykal, F.Kocabalkan. Serbest radikalleri ve hücre hasarı. *Sendrom.* 2000; 9: 31–36.

69. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. 1. Baskı, Konya: Mimoza Yayınları, 1995: 1-110.
70. Halliwell B. Oxidative stress, nutrition and health. Experimental strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in humans. *Free Radic Res.* 1996; 25: 57–74.
71. Mates JM, Sanchez-Jimenez F. Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiologic processes. *Front Biosci.* 1999; 4: 339–345.
72. Seven A. Candan G. Antioxidan Defense Systems. *Cerrahpaşa J Med.* 1996; 27: 41–50.
73. Urso ML, Clarkson PM. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology.* 2003; 189: 41–54.
74. Prior RL, Wu X, Schaich K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J Agric Food Chem.* 2005; 53: 4290–4302.
75. Ghiselli A, Serafini M, Natella F, Scaccini C. Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. *Free Radic Biol Med.* 2000; 29: 1106–1114.
76. Yeum KJ, Russell RM, Krinsky NI, Aldini G. Biomarkers of antioxidant capacity in the hydrophilic and lipophilic compartments of human plasma. *Arch Biochem Biophys.* 2004; 430: 97–103.
77. Kökoğlu E. Serbest radikal reaksiyonlarının kanserdeki rolü. *Klinik gelişim* 1998; 11: 358–364.
78. Lindahl T. Instability and decay of the primary structure of DNA. *Nature.* 1993; 362: 709–715.
79. Okada F. Inflammation and free radicals in tumor development and progression. *Redox Rep.* 2002;7: 357–68.

80. Werlen G, Belin D, Conne B, Roche E, Lew DP, Prentki M. Intracellular Ca²⁺ and the regulation of early response gene expression in HL-60 myeloid leukemia cells. *J Biol Chem.* 1993; 268: 16596–16601.
81. Toyokuni S, Okamoto K, Yodoi J, Hiai H. Persistent oxidative stress in cancer. *FEBS Lett.* 1995; 358: 1-3.
82. Loo G. Redox-sensitive mechanisms of phytochemical-mediated inhibition of cancer cell proliferation. *J Nutr Biochem.* 2003;14: 64–73.
83. Gozum S, Tezel A, Koc M. Complementary alternative treatments used by patients with cancer in eastern Turkey. *Cancer Nurs.* 2003; 26: 230–236.
84. Weber RW. Stinging nettle. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2003;90: A6.
85. Akbay P, Basaran AA, Undeger U, Basaran N. In vitro immunomodulatory activity of flavonoid glycosides from *Urtica dioica* L. *Phytother Res.* 2003;17: 34–37.
86. Fijalek Z, Soltyk K, Lozak A, Kominek A, Ostapczuk P. Determination of some micro- and macroelements in preparations made from peppermint and nettle leaves. *Pharmazie.* 2003; 58: 480–482.
87. Obertreis B, Giller K, Teucher T, Behnke B, Schmitz H. Anti-inflammatory effect of *Urtica dioica* folia extract in comparison to caffeic malic acid. *Arzneimittelforschung.* 1996; 46: 52–56.
88. Obertreis B, Ruttkowski T, Teucher T, Behnke B, Schmitz H. Ex-vivo in-vitro inhibition of lipopolysaccharide stimulated tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1 beta secretion in human whole blood by extractum *urticae dioicae foliorum*. *Arzneimittelforschung.* 1996; 46: 389–394.
89. Balzarini J, Neyts J, Schols D, Hosoya M, Van Damme E, Peumans W, De Clercq E. The mannose-specific plant lectins from *Cymbidium hybrid* and *Epipactis helleborine* and the (N-acetylglucosamine)n-specific plant lectin from *Urtica dioica* are potent and selective

- inhibitors of human immunodeficiency virus and cytomegalovirus replication in vitro. *Antiviral Res.* 1992; 18:191–207.
90. Galelli A, Delcourt M, Wagner MC, Peumans W, Truffa-Bachi P. Selective expansion followed by profound deletion of mature V beta 8,3+ T cells in vivo after exposure to the superantigenic lectin *Urtica dioica* agglutinin. *J Immunol.* 1995; 154: 2600–2611
 91. Musette P, Galelli A, Chabre H, Callard P, Peumans W, Truffa-Bachi P, Kourilsky P, Gachelin G. *Urtica dioica* agglutinin, a V beta 8,3-specific superantigen, prevents the development of the systemic lupus erythematosus-like pathology of MRL lpr/lpr mice. *Eur J Immunol.* 1996; 26: 1707–1711.
 92. Cetinus E, Kilinc M, Inanc F, Kurutas EB, Buzkan N. The role of *urtica dioica* (urticaceae) in the prevention of oxidative stress caused by tourniquet application in rats. *Tohoku J Exp Med.* 2005; 205: 215–221.
 93. Tanakol R.. Antioksidan vitaminler: Hastalıkta ve sağlıkta önemleri. *Klinik gelişim.* 1998; 11: 347–356.
 94. Gulcin I, Kufrevioglu OI, Oktay M, Buyukokuroglu ME. Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). *J Ethnopharmacol.* 2004; 90: 205–215.
 95. Riehemann K, Behnke B, Schulze-Osthoff K. Plant extracts from stinging nettle (*Urtica dioica*), an antirheumatic remedy, inhibit the proinflammatory transcription factor NF-kappaB. *FEBS Lett.* 1999; 442: 89–94.
 96. Lichius JJ Renneberg H, Blaschek W, Aumuller G, Muth C. The inhibiting effects of components of stinging nettle roots on experimentally induced prostatic hyperplasia in mice. *Planta Med.* 1999, 65: 666–668.
 97. Lindemann P, Muller HH, Aumuller G, Konrad L. Antiproliferative effect of a polysaccharide fraction of a 20% methanolic extract of stinging nettle roots upon epithelial cells of the human prostate (LNCaP). *Pharmazie.* 1999; 54: 768–771.

98. Bielory L. Complementary and alternative interventions in asthma, allergy, and immunology. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2004; 93: 45–54.
99. Maronpot RR. Chemical carcinogenesis.” *Handbook of Toxicologic Pathology*”. 3.Baskı. San Diego: Acad Pres, 1991: 91–129.
100. Wurdeman RL, Douskey MC, Gold B. DNA methylation by N-methyl-N-nitrosourea: methylation pattern changes in single- and double-stranded DNA, and in DNA with mismatched or bulged guanines. *Nucleic Acids Res.* 1993; 21: 4975–4980.
101. Maekawa A, Onodera H, Kanno J, Furuta K, Nagaoka T, Todate A, Matsushima Y, Ohhara T, Kawazoe Y. Carcinogenicity and organ specificity of N-trimethylsilylmethyl-N-nitrosourea (TMS-MNU), N-neopentyl-N-nitrosourea (neoPNU), and N-methyl-N-nitrosourea (MNU) in rats. *J Cancer Res Clin Oncol.* 1988; 114: 473–476.
102. Lee R, Woo W, Wu B, Kummer A, Duminy H, Xu Z. Zinc accumulation in N-methyl-N-nitrosourea-induced rat mammary tumors is accompanied by an altered expression of ZnT-1 and metallothionein. *Exp Biol Med.* 2003; 228: 689–696.
103. Zeybek Ü: Deneysel kanser modelleri. Kalıtsal Hastalıklara Moleküler Tıp Açısından Bakış Sempozyumu. İstanbul: Deomed Medikal Yayıncılık, 2003:283–310.
104. Cohen LA, Zhao Z, Pittman B, Scimeca JA. Effect of intact and isoflavone-depleted soy protein on NMU-induced rat mammary tumorigenesis. *Carcinogenesis.* 2000; 2: 929–935.
105. Halifeoğlu İ. İnsan Karaciğerinde, Eritrosit Ve Uterus Doku Arginazının Kinetik Özellikleri. Doktora Tezi, Elazığ Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi. Biyokimya Anabilim Dalı, 1993.
106. Aebi H. Catalase in vitro assay *Methods. Methods Enzymol.* 1984; 105: 121–126.
107. Satoh K. Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. *Clin Chim Acta* 1978; 90; 37–43.
108. Yagi K. Assay of blood plasma or serum for serum lipid peroxide level and its clinical significance. *Methods in Enzymology.* 1984; 105: 224–241.

109. Miller NJ, Rice-Evans MJ, Gopinathan V, Milner A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical Science*. 1993; 84: 407–412.
110. Milne DB: Trace Elements. Burtis CA, Ashwood ER. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 3rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders company, 1999: 1029–1056.
111. Duncan AM. The role of nutrition in the prevention of breast cancer. *AACN Clin Issues*. 2004; 15: 119–135.
112. Byers T, Perry G. Dietary carotenes, vitamin C, and vitamin E as protective antioxidants in human cancers. *Annu Rev Nutr*. 1992; 12: 139–159.
113. Cai Y, Luo Q, Sun M, Corke H. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sci*. 2004; 74: 2157–84.
114. Ray G, Batra S, Shukla NK, Deo S, Raina V, Ashok S, Husain SA. Lipid peroxidation, free radical production and antioxidant status in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2000; 59: 163–170.
115. Khanzode SS, Muddeshwar MG, Khanzode SD, Dakhale GN. Antioxidant enzymes and lipid peroxidation in different stages of breast cancer. *Free Radic Res*. 2004; 38: 81–85.
116. Kumaraguruparan R, Kabalimoorthy J, Nagini S. Correlation of tissue lipid peroxidation and antioxidants with clinical stage and menopausal status in patients with adenocarcinoma of the breast. *Clin Biochem*. 2005; 38: 154–158.
117. Gonenc A, Ozkan Y, Torun M, Simsek B. Plasma malondialdehyde (MDA) levels in breast and lung cancer patients. *J Clin Pharm Ther*. 2001; 26: 141–144.
118. Portakal O, Ozkaya O, Erden Inal M, Bozan B, Kosan M, Sayek I. Coenzyme Q10 concentrations and antioxidant status in tissues of breast cancer patients. *Clin Biochem*. 2000; 33: 279–284.

119. Huang YL, Sheu JY, Lin TH. Association between oxidative stress and changes of trace elements in patients with breast cancer. *Clin. Biochem.* 1999; 32: 131–136.
120. Yeh CC, Hou MF, Tsai SM, Lin SK, Hsiao JK, Huang JC et al. Superoxide anion radical, lipid peroxides and antioxidant status in the blood of patients with breast cancer. *Clin Chim Acta.* 2005; 361: 104–111.
121. Gerber M, Richardson S, Salkeld R, Chappuis P. Antioxidants in female breast cancer patients. *Cancer Invest.* 1991; 9: 421–428.
122. Gerber M, Astre C, Segala C, Saintot M, Scali J, Simony-Lafontaine J, Grenier J. et al. Tumor progression and oxidant-antioxidant status. *Cancer Lett.* 1997; 114: 211–214.
123. Boyd NF, McGuire V. Evidence of lipid peroxidation in premenopausal women with mammographic dysplasia. *Cancer Lett.* 1990; 50: 31–37.
124. Maskarinec G, Chan CL, Meng L, Franke AA, Cooney RV. Exploring the feasibility and effects of a high-fruit and -vegetable diet in healthy women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1999; 8: 919–924
125. İlhan N. Deneysel olarak karaciğer iskemi reperfüzyon hasarı oluşturulan kobaylarda oksidan ve antioksidan sistemin incelenmesi. Doktora Tezi. Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Bölümü. 1998.
126. Mukhopadhyay S, Das SK, Mukherjee S. Expression of Mn-Superoxide Dismutase Gene in Nontumorigenic and Tumorigenic Human Mammary Epithelial Cells. *J Biomed Biotechnol.* 2004; 2004: 195–202.
127. Li JJ, Oberley LW, St Clair DK, Ridnour LA, Oberley TD. Phenotypic changes induced in human breast cancer cells by overexpression of manganese-containing superoxide dismutase. *Oncogene.* 1995; 10: 1989–2000.

128. DiSilvestro RA, Goodman J, Dy E, Lavallo G. Soy isoflavone supplementation elevates erythrocyte superoxide dismutase, but not plasma ceruloplasmin in postmenopausal breast cancer survivors. *Breast Cancer Res Treat.* 2005; 89: 251–255.
129. Koksoy C, Kavas GO, Akcil E, Kocaturk PA, Kara S, Ozarslan C Trace elements and superoxide dismutase in benign and malignant breast diseases. *Breast Cancer Res Treat.* 1997; 45: 1–6.
130. Kumar K, Thangaraju M, Sachdanandam P. Changes observed in antioxidant system in the blood of postmenopausal women with breast cancer. *Biochem Int.* 1991; 25: 371–380.
131. Bewick M, Coutie W, Tudhope GR. Superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in the red cells of patients with malignant lymphoma. *Br J Haematol.* 1987; 65: 347–350.
132. Perumal SS, Shanthi P, Sachdanandam P. Combined efficacy of tamoxifen and coenzyme Q10 on the status of lipid peroxidation and antioxidants in DMBA induced breast cancer. *Mol Cell Biochem.* 2005; 273: 151–160.
133. Kumaraguruparan R, Subapriya R, Kabalimoorthy J, Nagini S. Antioxidant profile in the circulation of patients with fibroadenoma and adenocarcinoma of the breast. *Clin Biochem.* 2002; 35: 275–279.
134. Tas F, Hansel H, Belce A, Ilvan S, Argon A, Camlica H, Topuz E. Oxidative stress in breast cancer. *Med Oncol.* 2005; 22: 11–15.
135. Polat MF, Taysi S, Gul M, Cikman O, Yilmaz I, Bakan E, Erdogan F. Oxidant/antioxidant status in blood of patients with malignant breast tumour and benign breast disease. *Cell Biochem Funct.* 2002; 20: 327–331.
136. Çoban T. Meme Dokusu Karsinomalarında Antioksidan Enzim aktivitelerinin Araştırılması. Doktora Tezi, Ankara, 1994.

137. Singh SV, Brunnert SR, Roberts B, Krishan A. Differential expression of glutathione S-transferase, glutathione peroxidase and glutathione reductase in normal and malignant human breast tissues. *Cancer Lett.* 1990; 51: 43–48.
138. Ching S, Ingram D, Hahnel R, Beilby J, Rossi E. Serum levels of micronutrients, antioxidants and total antioxidant status predict risk of breast cancer in a case control study. *J Nutr.* 2002; 132: 303–306.
139. Psotova J, Zahalkova J, Hrbac J, Simanek V, Bartek J. Determination of total antioxidant capacity in plasma by cyclic voltammetry. Two case reports. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2001; 145: 81–83.
140. Swain JH, Alekel DL, Dent SB, Peterson CT, Reddy MB. Iron indexes and total antioxidant status in response to soy protein intake in perimenopausal women. *Am J Clin Nutr.* 2002; 76: 165–171.
141. Huang YL, Sheu JY, Lin TH. Association between oxidative stress and changes of trace elements in patients with breast cancer. *Clin Biochem.* 1999; 32: 131–136.
142. Borella P, Bargellini A, Caselgrandi E, Piccinini L. Observations on the use of plasma, hair and tissue to evaluate trace element status in cancer. *J Trace Elem Med Biol.* 1997; 11: 162–165.
143. Sharma K, Mittal DK, Kesarwani RC, Kamboj VP, Chowdhery. Diagnostic and prognostic significance of serum and tissue trace elements in breast malignancy. *Indian J Med Sci.* 1994; 48: 227–232.
144. Woo W, Xu Z. Body zinc distribution profile during N-methyl-N-nitrosourea-induced mammary tumorigenesis in rats at various levels of dietary zinc intake. *Biol Trace Elem Res.* 2002; 87: 157–69.
145. Nandi S, Guzman RC, Yang J. Hormones and mammary carcinogenesis in mice, rats, and humans: a unifying hypothesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995; 92: 3650–3657.

146. Yucel I, Arpaci F, Ozet A, Doner B, Karayilanoglu T, Sayar A, Berk O. Serum copper and zinc levels and copper/zinc ratio in patients with breast cancer. *Biol Trace Elem Res.* 1994; 40: 31-38.
147. Adzersen KH, Jess P, Freivogel KW, Gerhard I, Bastert G. Raw and cooked vegetables, fruits, selected micronutrients, and breast cancer risk: a case-control study in Germany. *Nutr Cancer.* 2003; 46: 131-137.
148. Kuo HW, Chen SF, Wu CC, Chen DR, Lee JH. Serum and tissue trace elements in patients with breast cancer in Taiwan. *Biol Trace Elem Res.* 2002 ; 89: 1-11.
149. Zhai H, Chen X, Hu Z. Study on the relationship between intake of trace elements and breast cancer mortality with chemometric methods. *Comput Biol Chem.* 2003; 27: 581-586.
150. Middleton E JR, Kandaswami C, Theoharides T. Effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacol. Res.* 2000; 52: 673-751.
151. Jung KJ, Wallig MA, Singletary KW. Purple grape juice inhibits 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA)-induced rat mammary tumorigenesis and in vivo DMBA-DNA adduct formation. *Cancer Lett.* 2005; (Baskıda).

9. ÖZGEÇMİŞ

1974 yılında Elazığ'da doğdum. İlköğretimimi yaptıktan sonra 1992 yılında Elazığ Anadolu Lisesinden, 2000 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesinden mezun oldum. 2002 Nisan döneminde TUS sınavında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya Anabilim dalında ihtisası kazanarak görevime başladım ve halen devam etmekteyim. Evli ve bir çocuk annesiyim. İngilizce biliyorum.